



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
SEDE MORONA SANTIAGO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERIA AMBIENTAL

**DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL MEDIA DE
ALCALOIDES DE LA ESPECIE LONCHOCARPUS NICOU
CONTENIDOS EN UN BIOCIDA PARA EL CONTROL DEL
MOLUSCO ACHATINA FULICA.**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO AMBIENTAL

AUTOR:

JOSE LUIS QUITUIZACA TIGRE

Macas – Ecuador

2024



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
SEDE MORONA SANTIAGO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERIA AMBIENTAL

**DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL MEDIA DE
ALCALOIDES DE LA ESPECIE LONCHOCARPUS NICOU
CONTENIDOS EN UN BIOCIDA PARA EL CONTROL DEL
MOLUSCO ACHATINA FULICA.**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO AMBIENTAL

AUTOR: JOSE LUIS QUITUIZACA TIGRE

DIRECTORA: ING. CARLA VIVIANA HARO VELASTEGUI

Macas – Ecuador

2024

© 2024, Jose Luis Quitizaca Tigre

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Jose Luis Quituizaca Tigre, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Macas, 06 de junio del 2024



Jose Luis Quituizaca Tigre

140085587-8

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
SEDE MORONA SANTIAGO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERIA AMBIENTAL

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; tipo: Proyecto de investigación, **DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL MEDIA DE ALCALOIDES DE LA ESPECIE LONCHOCARPUS NICOU CONTENIDOS EN UN BIOCIDA PARA EL CONTROL DEL MOLUSCO ACHATINA FULICA**, realizado por el señor: **JOSE LUIS QUITUIZACA TIGRE**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

FIRMA

FECHA

Ing. Javier Ignacio Briones García, Mgs.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



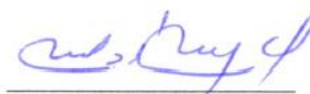
2024-06-06

Ing. Carla Viviana Haro Velastegui, Mgs.
DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR



2024-06-06

Dr. Carlos Santiago Curay Yaulema, Mgs.
ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR



2024-06-06

DEDICATORIA

A Dios por brindarme la capacidad para lograr todas mis metas y darme la fuerza para superar cada obstáculo que la vida me presenta. A mis padres, Blanca y Milton quienes siempre me han apoyado a seguir adelante con mis estudios y han sido mi fortaleza en momentos de angustia, a mis hermanos quienes han sabido ayudarme con sus ideas y sus consejos. A mi pareja sentimental, quien me ha sabido apoyar en mis momentos más complicados.

Jose

AGRADECIMIENTO

A todas aquellas que durante todos estos años han estado a mi lado apoyándome de forma desinteresada quiero expresarles un infinito agradecimiento y mi completa gratitud. A mi familia por el apoyo brindado en cada adversidad presentada durante este trayecto de mi vida. A mis directores, Ing. Carla Haro y Dr. Carlos Curay por su asesoramiento, apoyo y orientación en el presente proyecto de vinculación les exprese un profundo agradecimiento. A mis amigos, por todos los momentos compartido y un agradecimiento especial a mi compañera Samanta Samaniego quien fue de gran ayuda para esta investigación. A mis profesores por la paciencia y el conocimiento impartido en las aulas.

Jose

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xii
RESUMEN	xiii
SUMMARY / ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1	PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.1	Planteamiento del problema.....	3
1.2	Objetivos.....	4
1.2.1	Objetivo General.....	4
1.2.2	Objetivos Específicos.....	4
1.3	Justificación	4
1.4	Hipótesis o preguntas de investigación	5

CAPÍTULO II

2	MARCO TEÓRICO.....	6
2.1	Bases conceptuales	6
2.1.1	<i>Dosis Letal media (DL50)</i>	6
2.1.2	<i>Plaguicida</i>	6
2.1.3	<i>Plantas para el control de plagas</i>	6
2.1.4	<i>Biocida</i>	6
2.1.5	<i>Alcaloides</i>	6
2.1.6	<i>Achatina fulica</i>	7
2.1.7	<i>Lonchocarpus nicou</i>	7

2.1.8. <i>Fitoquímica</i>	7
2.2 Bases teóricas	7
2.2.1 <i>Productos comerciales a base de metaldehído</i>	7
2.2.2 <i>Clasificación de las sustancias biocidas</i>	8
2.2.3 <i>Generalidades de A. fulica</i>	8
2.2.4 <i>Descripción morfológica de Lonchocarpus nicou</i>	12
2.2.5 <i>Clasificación taxonómica</i>	13
2.2.6 <i>Métodos de extracción</i>	13
2.2.7 <i>Clasificación de extractos vegetales</i>	14

CAPÍTULO III

3 MARCO METODOLÓGICO	15
3.1 Descripción del enfoque	15
3.2 Alcance	15
3.3 Diseño de investigación	15
3.4 Nivel de Investigación	16
3.5 Métodos y Técnicas	16
3.5.1 <i>Obtención de raíces de Lonchocarpus nicou</i>	16
3.5.2 <i>Secado de la materia vegetal</i>	16
3.5.3 <i>Recolección de unidades de Achatina fulica</i>	16
3.5.4 <i>Población y muestra de Achatina fulica</i>	17
3.5.5 <i>Adaptación de Achatina fulica</i>	17
3.5.6 <i>Tamizaje fitoquímico</i>	17
3.5.7 <i>Destilación del extracto alcohólico</i>	23
3.5.8 <i>Preparación de soluciones de Lonchocarpus nicou</i>	23
3.5.9 <i>Método de aplicación de extractos de Lonchocarpus nicou</i>	23
3.5.10 <i>Método de identificación de moluscos muertos</i>	23
3.5.11 <i>Experimento</i>	23

3.6	Instrumentos de investigación	25
3.6.1	<i>Materia prima</i>	25
3.6.2	<i>Equipos</i>	25
3.6.3	<i>Materiales de laboratorio</i>	25
3.6.4	<i>Reactivos</i>	26

CAPITULO IV

4	MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS	27
4.1	Procesamiento, análisis e interpretación de resultados	27
4.1.1	<i>Tamizaje fitoquímico</i>	27
4.1.2	<i>Mortalidad de Achatina fulica frente a extractos alcohólicos y acuoso de Lonchocarpus nicou</i> 29	
4.1.3	<i>Rendimiento de extractos alcohólicos de Lonchocarpus nicou</i>	30
4.1.4	<i>Determinación de DL50 de extractos acuosos y alcohólicos de Lonchocarpus nicou en el control de Achatina fulica</i>	31
4.1.5	<i>Determinación de DL50 de extractos acuosos de Lonchocarpus nicou</i>	33
4.2	Discusión	37
4.3	Comprobación de hipótesis	¡Error! Marcador no definido.

CAPÍTULO V

5	CONCLUSIONES	39
6	RECOMENDACIONES	40

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1: Productos comerciales a base de Metaldehído -----	8
Tabla 2-2: Taxonomía de <i>Achatina fulica</i> -----	9
Tabla 2-3: Categorías de crecimiento de <i>A. fulica</i> -----	11
Tabla 2-4: Taxonomía de <i>Lonchocarpus nicou</i> -----	13
Tabla 3-5: Ensayos de tamizaje fitoquímico-----	19
Tabla 4-6: Resultados de tamizaje fitoquímico de <i>Lonchocarpus nicou</i> -----	27
Tabla 4-7: Resultado de mortalidad en extracto alcohólico -----	30
Tabla 4-8: Resultado de mortalidad en extracto acuoso -----	30

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 2-1. Caparazones de <i>A. fulica</i> de diferente tamaño	10
Ilustración 2-2. Morfología de <i>Achatina fulica</i>	10
Ilustración 3-3. Proceso de obtención de extractos para tamizaje fitoquímico	18
Ilustración 3-4. Esquema de experimentación	24
Ilustración 4-5. Dispersión de DL50 de extractos alcohólicos	31
Ilustración 4-6. Grafica de dosis efectiva de extractos alcohólicos en 48h	32
Ilustración 4-7. Cálculo de la DL50 mediante grafica de dispersión.....	34
Ilustración 4-8. Grafica de dosis efectiva de extractos alcohólicos en 48h	35

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** RAICES FRESCAS DE *Lonchocarpus nicou*
- ANEXO B:** RAICES SECAS DE *Lonchocarpus nicou*
- ANEXO C:** MATERIA VEGETAL DE *Lonchocarpus nicou* TRITURADA
- ANEXO D:** PESO DE MATERIA UTILIZADA POR FRASCO
- ANEXO E:** PROCESO DE MACERACIÓN CON ÉTER ÉTILICO
- ANEXO F:** FILTRACIÓN DE EXTRACTO ETÉREO
- ANEXO G:** SECADO DE MATERIA DEL EXTRACTO ETÉREO
- ANEXO H:** MACERADO DE BARBASCO EN ETANOL 99,8%
- ANEXO I:** EXTRACTO ALCOHOLICO DE *Lonchocarpus nicou*
- ANEXO J:** SECADO DE MATERIA VEGETAL DEL EXTRACTO ALCOHOLICO
- ANEXO K:** MACERACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS
- ANEXO L:** EXTRACTO ACUOSO DE *Lonchocarpus nicou*
- ANEXO M:** ENSAYO DRAGENDORFF, MAYER Y WAGNER
- ANEXO N:** ENSAYO BALJET Y LIEBERMAN BURCHARD
- ANEXO O:** ENSAYO DE RESINAS Y FEHLING
- ANEXO P:** ENSAYO DE CLORURO FÉRRICO Y NINHIDRINA
- ANEXO Q:** ENSAYO BORNTRANGER, SHINODA Y ANTOCIANIDINA
- ANEXO R:** ENSAYO KEDDE Y SAPONINAS
- ANEXO R:** MORTALIDAD DE *Achatina fulica*

RESUMEN

La principal causa de la pérdida de biodiversidad está relacionada con la introducción de especies invasoras. Un ejemplo destacado de este fenómeno es el caracol *Achatina fulica*, un gasterópodo considerado una plaga de importancia agrícola y sanitaria debido a su dieta polífaga y su papel como hospedador de *Angiostrongylus cantonensis* y *Angyostrongylus* asociada a la meningitis. En este contexto, el objetivo de la presente investigación fue determinar la DL50 de alcaloides de la especie *Lonchocarpus nicou* contenidos en un biocida destinado al control de este molusco. La metodología empleada tuvo un enfoque cuantitativo-cualitativo, puesto que se utilizaron métodos de análisis estadísticos cuantitativos para determinar la DL50 de extractos alcohólicos y acuosos de *Lonchocarpus nicou*, además se realizó un tamizaje fitoquímico mediante una metodología cualitativa por colorimetría y reacción de químicos para determinar metabolitos presentes. Además, se manipularon variables de *Achatina fulica* como la dosificación (7%, 5%, 3%), el peso de los individuos evaluados (20-25 g) y el tiempo de evaluación (24 y 48 horas) frente a extractos de *Lonchocarpus nicou*. Los resultados de caracterización fitoquímica presentan metabolitos como alcaloides, lactonas y coumarinas, quinonas, azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos y/o taninos, antocianidinas, mucilagos y principios amargos, además la DL50 para los extractos alcohólicos de *Lonchocarpus nicou* se encontró en una concentración del 6% mientras que para extractos acuosos, la DL50 se ubicó en concentraciones al 8%. Finalizada la investigación, se concluye que la DL50 de alcaloides de la especie *Lonchocarpus nicou* en concentraciones del 6% en extractos alcohólicos y 8% en extractos acuosos garantiza la muerte del 50% de individuos de *Achatina fulica* que sean expuestos a estas concentraciones.

Palabras clave: <BARBASCO (*Lonchocarpus nicou*)>, <CARACOL AFRICANO (*Achatina fulica*)>, <ALCALOIDES>, <BIOCIDA>, <METABOLITOS SECUNDARIOS>.

0814-DBRA-UPT-2024



SUMMARY / ABSTRACT

The main cause of biodiversity loss is related to the introduction of invasive species. A prominent example of this phenomenon is the *Achatina fulica* snail, a gastropod considered a pest of agricultural and sanitary importance due to its polyphagous diet and its role as a host of *Angiostrongylus cantonensis* and *Angyostrongylus* associated with meningitis. In this context, the objective of this research was to determine the LD50 of alkaloids of the species *Lonchocarpus nicou* contained in a biocide intended for the control of this mollusk. The methodology employed had a quantitative-qualitative approach, since quantitative statistical analysis methods were used to determine the LD50 of alcoholic and aqueous extracts of *Lonchocarpus nicou*. In addition, a phytochemical screening was performed using a qualitative methodology by colorimetry and chemical reaction to determine the metabolites present. Moreover, *Achatina fulica* variables such as dosage (7%, 5%, 3%), weight of individuals evaluated (20-25 g) and evaluation time (24 and 48 hours) against *Lonchocarpus nicou* extracts were manipulated. The results of phytochemical characterization showed metabolites such as alkaloids, lactones and coumarins, quinones, reducing sugars, saponins, phenolic compounds and/or tannins, anthocyanidins, mucilages and bitter principles, and the LD50 for alcoholic extracts of *Lonchocarpus nicou* was found at a concentration of 6% while for aqueous extracts, the LD50 was at concentrations of 8%. At the end of the research, it is concluded that the LD50 of alkaloids of *Lonchocarpus nicou* species at concentrations of 6% in alcoholic extracts and 8% in aqueous extracts guarantees the death of 50% of *Achatina fulica* individuals exposed to these concentrations.

Keywords: <BARBASCO (*Lonchocarpus nicou*)>, <ACHARBASCO AFRICAN (*Achatina fulica*)>, <ALCALOIDS>, <BIOCIDE>, <SECONDARY METABOLITES>.



Silvia Elizabeth Cárdenas Sánchez

C.I. 0603927351

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial la producción de plaguicidas orgánicos sintéticos ha presentado un gran auge desde inicios del siglo XX, debido al desarrollo de la industria petrolera (García y Rodríguez 2012, pág. 1). Estos productos son promocionados como la solución más eficaz para los cultivos, sin mencionar que estos tóxicos representan un riesgo para la salud de las personas y la biota (Durán et al. 2013, pág. 12). Esta situación surge como consecuencia de la creciente demanda de plaguicidas con mayor toxicidad, motivada por el desarrollo de plagas más resistentes y la intensificación de la competencia en el mercado de estos productos.

De acuerdo con estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) entre 500 000 y 1 millón de personas se intoxican por plaguicidas y al menos 20 000 personas mueren, siendo el 75% de los que fallecen trabajadores agrícolas (Valenzuela y Gomez 2007, pág. 186). Según el Ministerio de Salud Pública en los últimos 5 años el Ecuador las intoxicaciones por plaguicidas han aumentado un 24.4% anual (Viteri et al. 2013, pág. 36), es así que en el año 2020 se notificaron un total de 1876 intoxicación de los cuales 216 se atribuyen a plaguicidas y 102 a herbicidas y fungicidas (Sunta 2021, pág. 4).

Además de lo anteriormente mencionado, Pérez (2012, pág. 12) destaca los graves problemas que los plaguicidas generan en la biota, tales como la mortalidad de peces y aves, la destrucción de hábitats naturales, la contaminación de aguas subterráneas y el desarrollo de resistencia en las plagas. Dentro de este contexto la utilización de extractos vegetales para el control de plagas tiene la ventaja de no provocar contaminación, debido a su fácil degradabilidad en el ambiente (Iannacome, 2006), productos naturales obtenidos de plantas del género *Lonchocarpus* y *Derris*, funcionan como plaguicidas orgánicos; especialmente atacando por contacto e ingesta sobre el sistema nervioso, inhibiendo la respiración celular del individuo objetivo (Lannacone y Montoro 2002, pág. 24).

En Ecuador, la planta empleada como veneno para peces se suele llamar comúnmente “Barbasco” y se registra entre las 51 especies para este uso (Simbaña 2018, pág 23), así también, el *Lonchocarpus nicou* conocido como Barbasco se encuentra entre una de las plantas que presenta propiedades biocidas (Mariños et al. 2004, pág. 42), el uso de plantas con dichas propiedades se han empleado desde la antigüedad por su alta disponibilidad de materia prima, fácil extracción de principios activos, bajo costo de producción y baja toxicidad e inocuidad (Borrego 2015, pág. 53). La principal característica que posee la especie *Lonchocarpus nicou* radica en el contenido abundante de alcaloides, fenoles, taninos, entre otros, que puede resultar letal para los animales de sangre fría (Urgilés 2015, pág. 13).

Otro de los problemas a los que se enfrenta el Ecuador es la introducción de especies invasoras, entre las cuales se encuentra el caracol africano o *Achatina fulica* por su nombre científico, esta especie fue introducida a este país en el año 2008, trayendo consigo problemas al sector agrícola, medico-sanitario, económico, social y ambiental (Cuasapaz 2017, pág. 42). Este molusco puede poner cerca de 600 huevos y ataca a 100 tipos de cultivos, acabando en una sola noche una hectárea de plantaciones (Pinargote 2017, pág. 23), además, esta especie actúa como hospedador en el ciclo de vida de varios nemátodos perjudiciales para la salud humana: *Angiostrongylus cantonensis* y *Angyostrongylus* asociadas a la meningoencefalitis (Lugones y Ramírez 2016, pág. 8)

El presente trabajo de investigación consiste en determinar la dosis letal media de alcaloides contenidos en un biocida de la especie *Lonchocarpus nicou* para el control del molusco *Achatina fulica*. Ya que actualmente en Ecuador se desconoce el potencial biocida que existe en los extractos de la especie *Lonchocarpus nicou*, y se recurre al uso de químicos mosquicidas, como el metaldehído, sulfato de cobre o tricloroformo, que presentan efectos dañinos para el ecosistema y un riesgo para el ser humano debido a su alta toxicidad (Rubio 2019, pag. 12). En vista de los problemas antes mencionados resulta de suma importancia investigar los compuestos primarios y el potencial biocida de los extractos de la especie *Lonchocarpus nicou* para controlar esta especie invasora, generando una alternativa a los métodos tradicionales, reduciendo así la contaminación ambiental y disminuyendo el riesgo de intoxicación por químicos mosquicidas controlando de manera sostenible y segura a la plaga de *Achatina fulica*

CAPÍTULO I

1 PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Planteamiento del problema

La principal causa global de la pérdida de biodiversidad está relacionada con la introducción de especies invasoras, mayoritariamente causada por actividades humanas o accidentes, estas especies son transportadas desde sus entornos naturales a diferentes lugares, a menudo cubriendo largas distancias (Argüelles et al. pág. 23 2006). Este proceso puede ocasionar daños considerables en los ecosistemas receptores, generando competencia por recursos y hábitats con las especies nativas (Vilá et al. 2006, pág. 43). El resultado son efectos negativos significativos en la biodiversidad local, un ejemplo destacado de este fenómeno es el caracol *Achatina fulica*.

Este gasterópodo es considerado una plaga de importancia agrícola, ya que posee una dieta polífaga, lo que significa que es capaz de alimentarse de un sin número de especies vegetales siendo promotor de devastación en plantaciones de maíz, banano, cítricos, papaya, café, y numerosas hortícolas como lechugas, acelga, etc., (Lugones y Ramírez 2016, pág 13), a pesar de presentar preferencia herbácea también posee hábitos saprofitos (Albuquerque et al. 2008), debido a estos hábitos esta especie actúa como hospedador intermedio de varios nematodos perjudiciales para salud humana, entre los que se encuentran la *Angiostrongylus cantonensis* y *Angyostrongylus* asociada a la meningitis (Londoño et al., 2013).

Para el control de este molusco se emplea la aplicación de productos químicos molusquicidas que tienen el potencial de impactar negativamente en los ecosistemas circundantes. Los efectos colaterales en organismos no objetivo, como insectos polinizadores y otros invertebrados, plantean preocupaciones sobre la biodiversidad y la salud del ecosistema (Chasi 2017, pág. 19). Además, el uso de cebos compuestos de metaldehído genera daños en el medio ambiente y toxicidad para la salud humana y otros animales, ya que estos productos no tienen selectividad para *A. fulica* (Leite et al. 2022).

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

- Determinar la Dosis Letal media (DL50) de alcaloides de la especie *Lonchocarpus nicou* contenidos en un biocida para el control del molusco *Achatina fulica*.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Definir el método de extracción y dosificación del biocida de *Lonchocarpus nicou* para el control del molusco *Achatina fulica*.
- Caracterizar los componentes fitoquímicos de los extractos de la especie vegetal *Lonchocarpus nicou*.
- Determinar el porcentaje de mortalidad de *Achatina fulica* frente a los extractos de *Lonchocarpus nicou* mediante análisis estadístico.

1.3 Justificación

Ante los daños ocasionados por *A. fulica* y el uso de plaguicidas químicos como medida de control, surge la necesidad de explorar alternativas más sostenibles y eficaces para el control de plagas y especialmente para el control de *A. fulica*. Según Izquierdo (2010), el método más efectivo para el control de plagas se encuentra en los biocidas, debido a su bajo riesgo para la salud humana y su capacidad de degradación sencilla en el entorno. Además, estos productos pueden ser capaces de retrasar la presencia de resistencia, así también los efectos secundarios para organismos no objetivo pueden ser mínimos (Osorio 2021, pág. 18). Los biocidas son una alternativa prometedora como fuente de productos naturales bioactivos más económicos, seguros y confiables para el control de organismos no deseados (Rodríguez et al. 2020).

En contexto con lo anteriormente mencionado, se busca usar las propiedades plaguicidas e insecticidas de la especie vegetal *Lonchocarpus nicou* para el control de *Achatina fulica*. Según menciona (Calle 2018, pág. 3) el extracto de esta especie vegetal resulta tóxico para animales de sangre fría; el molusco *A. fulica* es un gasterópodo invertebrado de sangre fría (Weininger-Cohén et al. 2012), lo que nos indica que el uso de extractos alcaloidales de la especie *Lonchocarpus nicou* podría ser efectivo en el control de *A. fulica* en concentraciones específicas, debido a que esta especie vegetal ataca a organismos con características similares a las que presenta este molusco.

La presente investigación constituye una alternativa sostenible y ecológica para el control de *Achatina fulica*, empleando las características biocidas contenidas en extractos de la especie *Lonchocarpus nicou*; con el objetivo de controlar a *Achatina fulica* a un costo

considerablemente menor, sin generar daños significativos a los ecosistemas circundantes y disminuyendo el uso de plaguicidas químicos, así como sus efectos negativos en el ambiente.

1.4 Hipótesis o preguntas de investigación

- H0: La concentración formulada para el biocida de la especie *Lonchocarpus nicou* no garantizan la mortalidad del 50% de la población de individuos evaluados para el control de *Achatina fulica*.
- H1: La concentración formulada para el biocida de la especie *Lonchocarpus nicou* garantizan la mortalidad del 50% de la población de individuos evaluados para el control de *Achatina fulica*.

CAPÍTULO II

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Bases conceptuales

2.1.1 *Dosis Letal media (DL50)*

Se define como la concentración de una sustancia administrada en mg, ml, %, que puede causar la muerte de la mitad del grupo de individuos evaluados (Ulibarry 2019, pág. 4), la prueba DL50 provee una medida de la sensibilidad de una especie a una sustancia tóxica (Badii y Landeros, 2007). La determinación de la dosis letal media (DL50) como prueba patrón reduce la cantidad de pruebas requeridas para determinar la dosis (García et al., 2015).

2.1.2 *Plaguicida*

Es el nombre genérico que recibe cualquier sustancia o mezcla de sustancias que se usa para controlar una plaga (Karam et al., 2004), como insectos, ácaros, moluscos, roedores, hongos, malas hierbas, bacterias que pueden ser perjudiciales para la salud pública y la agricultura (Torri, 2015). Estos pueden ser de carácter orgánico e inorgánico o sustancias naturales (Ulibarry, 2019)

2.1.3 *Plantas para el control de plagas*

La utilización de diferentes especies vegetales para el control de plagas se ha utilizado a lo largo de la historia (Rivera et al. 2003). Diversas sustancias oriundas de las plantas como piretroides, alcaloides y terpenoides pueden ser encontradas en las raíces, hojas, flores y semillas (Nascimento et al., 2008), dichos compuestos proporcionan importantes características como antiapetitivos, antivirales, antimicrobianos o repelente para insectos y plagas (Rodríguez et al., 2000).

2.1.4 *Biocida*

Un biocida es toda sustancia capaz de producir un daño y/o la muerte de un organismo (Gañán, 2014), debido a su contenido de una o más sustancias activas destinadas a eliminar, destruir o controlar a organismos por medios químicos o biológicos (Aguayo et al., 2010), es así que la actividad antimicrobiana es el efecto letal o inhibitorio, tanto de un producto biocida como de un antibiótico (Hernández, 2010).

2.1.5 *Alcaloides*

Los alcaloides forman un amplio grupo de metabolitos secundarios con una diversidad comparable al de los terpenos, representando cerca del 20% de todas las sustancias conocidas naturalmente (Santos y Moreno, 2013), este grupo poseen una amplia variedad de efectos tóxicos (Pérez et al. 2017) los cuales actúan para protegerse de la agresión de otros organismos (Piñero et al., 2022). Algunas plantas de la familia Fabaceae como el nescafe o el frijol machete

poseen actividad molusquicida (Pérez et al., 2017). Los alcaloides poseen propiedades antimicrobianas e insecticidas, además, inhibe el crecimiento bacteriano, antifúngico, larvicivo, siendo muchos de los alcaloides son tóxicos para animales (Vasquez, 2019).

2.1.6. *Achatina fulica*

El caracol africano (*Achatina fulica*) es un molusco gasterópodo de la familia Achatinidae, caracterizado por tener una concha cónica de color marrón, ser hermafroditas protándricos alcanzando la madurez sexual a los cinco meses (Patiño y Giraldo, 2017), además es una de las cien especies invasoras más importantes del planeta (Avendaño y Linares, 2015), siendo originaria de la costa este de África y se la conoce por su ataque a cultivos, la fauna silvestre y los ecosistemas nativos (Ossa-Lacayo et al., 2014).

2.1.7. *Lonchocarpus nicou*

Es una planta leguminosa, silvestre presente en América del sur especialmente por toda la zona Amazónica (Izquierdo, 2013). Esta planta posee un alto potencial industrial y medicinal, en cuyas raíces se concentra diversas sustancias químicas tóxicas (Calle 2018, pág. 4), las cuales son consideradas como insecticidas naturales o biocidas capaces de actuar por contacto o ingesta produciendo efectos tóxicos sobre ciertos organismos (Díaz 2010, pág. 24).

2.1.8. *Fitoquímica*

Es el estudio de los compuestos químicos presentes en las plantas, usualmente llamados metabolitos secundarios, característicos de una especie vegetal (Hernández et al., 2012) las cuales pueden ser quinonas, flavonoides, taninos, cumarinas, alcaloides, saponinas, principios amargos entre otro tipo de metabolitos, (Castillo et al., 2017) permitiendo identificar los principios activos responsables de las propiedades atribuidas a las plantas (Torres et al., 2009).

2.2 Bases teóricas

2.2.1 *Productos comerciales a base de metaldehído*

2.2.1.1 *Metaldehído*

Es el principio activo que usan diversos molusquicidas siendo específico en el control de babosas y caracoles (Guillén, 2016). El metaldehído es un polímero acetaldehído que se encuentra en forma de cebos de metaldehído a concentraciones de 3-6% (Bajaña, 2016), este producto interrumpe la producción de mucosa de los caracoles y babosas provocando debilidad digestiva y deshidratación de los individuos (Armstrong, 2007).

Tabla 2-1. Productos comerciales a base de Metaldehído

INGREDIENTE ACTIVO: Metaldehído	
Nombre comercial	MATABABOSA, Cebos de metaldehído, Molusquicida, Metaldehído
Nombre químico	2,4,6,8-tetrametil-1,3,5,7-tetraoxaciclooctano
Tipo de acción	Helícida con actividad por ingestión y contacto
Plagas recomendadas	Caracoles y babosas.
Condiciones de aplicación	Sobre el suelo y evitar que el producto entre en contacto con la planta
Formulación	Cebo troceado, granulado, cebo en gránulos

Fuente: (CHEMINOVA, 2016) y (Reinoso, 2015)

Elaborado por: Quituzaca J., 2024

2.2.1.2 Carbamatos

Los carbamatos son ésteres N-metilados y N,N-dimetilados del ácido carbámico que le dan características particulares (Chi Coyoc, 2016) para ser utilizadas mayormente como insecticidas, herbicidas y fungicidas (Blanco, et al., 2013), además algunos carbamatos funcionan como molusquicida siendo más tóxico que el metaldehído, inhibiendo la actividad de acetilcolinesterasa (Andrews, 1985).

2.2.2 Clasificación de las sustancias biocidas

Según Gañán (2014, pág. 4) las sustancias biocidas están clasificadas de la siguiente manera:

- Según el **organismo** sobre el que actúan: antimicrobianos (bactericidas, fungicidas), insecticidas, herbicidas, nematocidas, rodenticidas, etc.
- Según su **naturaleza** química: organofosforados, organoclorados, terpenos, alcaloides, fenólicos, sales inorgánicas, etc.
- Según su **selectividad**: específicos o de amplio espectro.
- Según su **mecanismo de acción**: neurotóxicos, citotóxicos, desorganizadores de la membrana celular, inhibidores enzimáticos, etc.
- Según su **origen**: naturales o sintéticos; inorgánicos, botánicos o microbianos, etc.


2.2.3 Generalidades de *A. fulica*

2.2.3.1 Taxonomía de *Achatina fulica*

Las babosas y caracoles terrestres como *Achatina fulica* pertenecen a los Gasterópodos, la clase taxonómica más grande de los Mollusca, en la que los miembros tienen una región cabeza-pie característica y una masa visceral (Fontanilla, 2010), este molusco pertenece a la familia

Achatinidae donde se encuentran los caracoles terrestres más grandes existentes, tienen 13 géneros que constituyen la familia y son endémicos de África (Navarrete, 2016). Debido a la presencia de espirales nepiónicas *A. fulica* con frecuencia se incluye dentro del subgénero *Lissachatina* (Rubio, 2019).

Tabla 2-2. Taxonomía de *Achatina fulica*

Clasificación taxonómica	
	
Reino	Animalia
Phylum	Mollusca
Clase	Gasteropoda
orden	Pulmonada
suborden	Sigmurethra
Familia	Achatinidae
subfamilia	Achatinoidea
Genero	<i>Achatina</i>
Especie	<i>Achatina fulica</i>

Fuente: (Parra, 2019)

Elaborado por: Quituzaca J., 2024

2.2.3.2 Características morfológicas

El caracol *Achatina fulica* es un molusco terrestre, cuya conchilla puede llegar a medir veinte centímetros de longitud en ejemplares adultos (Virgillito et al., 2015). Esta concha es helicoidal de forma espiral, compuesta por tres capas: periostraco (capa externa), mesostraco, y endostraco (capa interior) (Navarrete, 2016). Por lo general, la coloración de caparazón tiende a ser amarillo-café o café-rojizo con bandas axiales cafés poco definidas y en zigzag, la punta puede ser blanca o beige pero su color se puede identificar la edad del individuo (Rubio, 2019).



Ilustración 2-1. Caparazones de *A. fulica* de diferente tamaño

Fuente: (Vogler, 2013)

El cuerpo de este molusco está formado por tres partes: cabeza, pie y masa visceral, la cabeza tiene dos pares de tentáculos retractiles en los extremos de los ojos, los cuales solo pueden diferenciar entre la luz y la oscuridad, tienen la función de fotorreceptores y poseen boca, lengua llamada rádula (Navarrete, 2016). Presenta un cuerpo húmedo de color marrón grisáceo, el lomo presenta una banda longitudinal más clara cuando se encuentra fuera de su caparazón (Parra, 2019), en la capa cutánea posee glándulas que segregan baba las cuales actúan como lubricante protector además de facilitar su movilidad (Reinoso, 2015).

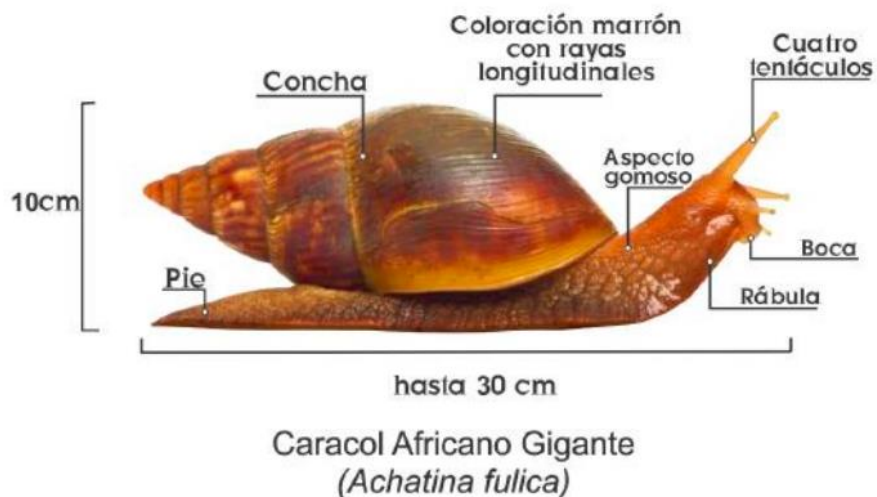


Ilustración 2-2. Morfología de *Achatina fulica*

Fuente: (Lombo, 2020)

2.2.3.3 *Biología reproductiva y comportamiento*

Su ciclo de vida comienza con el proceso de incubación que puede durar 10 a 25 días en condiciones de temperatura y pH de suelo entre 5 y 6 (Lombo, 2020). Este molusco es hermafrodita con fertilización cruzada como es característico en gasterópodos pulmonares (Ugwu et al., 2011), aunque posee los dos sexos es incapaz de autofertilizarse por lo que necesita aparearse con otro individuo de la misma especie (Parra, 2019). A partir de los 5 a 6 meses *A. fulica* es capaz de producir de 10 a 400 huevos luego de periodo 8 a 20 días del apareamiento (Reinoso, 2015). Según Rubio (2019) citado de Tomiyama (1992) clasifica a *A. fulica* en tres categorías:

Tabla 2-3. Categorías de crecimiento de *A. fulica*

Joven Adulto	Posee un largo de caparazón mayor a 4cm y un grosor menos de 0.5mm del peristoma, sección reproductiva en desarrollo.
Intermedio	Posee un largo de caparazón mayor a 4cm y grosor del peristoma entre 0.5mm y 0.8mm, sección reproductiva masculina completamente desarrollada y sección femenina en desarrollo.
Adulto mayor	Posee un largo de caparazón mayor a 4cm y un grosor del peristoma mayor a 0.8mm con las dos partes reproductivas completamente desarrolladas.

Fuente: (Rubio, 2019)

Elaborado por: Quituzaca J., 2024

2.2.3.4 *Dieta*

El molusco *A. fulica* es un caracol polígrafo es decir que son herbívoros, carnívoros, necrófagos (Morocoima et al., 2014), este gasterópodo ataca más de 100 especies de plantas como algodón, bananos, hortalizas, frutos, frijoles además algunas plantas nativas (Rodríguez, 2006) , líquenes, y carroña, también se alimenta de huesos y fuentes de calcio (Ossa et al., 2014).

2.2.3.5 *Características de habitat de A. fulica*

Son propias de climas tropicales y subtropicales, se refugian en áreas de abundante vegetación y de preferencia ricos en carbonato de calcio (Ministerio de Agricultura, Alimentacion y Medio Ambiente, 2004), las temperaturas ideales para este molusco varían entre los 19 y 26 °C, pero también pueden desarrollarse en ambientes térmicos fríos de 3°C; el suelo ideal para su supervivencia

posee un pH 5 a 6 y un porcentaje de humedad relativa de 76 a 87 % (González y Arias, 2019). Se los conoce como promotores de la devastación en plantaciones de banano, papaya, maní, café, cítricos, así como granos almacenados, jardines y huertas domesticas (Lugones y Ramírez, 2016).

2.2.3.6 *Implicaciones sanitarias del caracol africano*

Debido a sus hábitos alimenticios *A. fulica* puede actuar como hospedador en el ciclo de vida de los nematodos *Angyostrongylus cantonensis* y *A. costaricensis* los cuales son perjudiciales para la salud humana (Reinante et al., 2022), siendo los causantes de la angiostrongiliosis abdominal caracterizada por la obstrucción de las arterias mesentéricas (Martínez y Orna, 2008).

2.2.4 *Descripción morfológica de Lonchocarpus nicou*

2.2.4.1 *Planta*

Es una planta herbácea de la familia de las Dioscóreas, conocida comúnmente como barbasco la cual posee tallos volubles, raíces tuberosas o rizomas con sistema radicular axonomorfo (Calle, 2018), crece de preferencia en climas cálidos y húmedos como los de la amazonia, se propaga vía vegetativa (Aguirre, 2012).

2.2.4.2 *Tallo principal*

El tallo es cilíndrico, ramificado, nudoso y semileñoso (Moncerrate y Vergara, 2013).

2.2.4.3 *Flores y fruto*

Las flores son verdes y pequeñas, en la unión del tallo y las hojas, las femeninas forman racimos colgantes mientras que los frutos tienen forma alargada, y contienen 2 semillas lisas ; usualmente habita en clima cálido desde el nivel del mar hasta los 1500m (Aviles, 2015).

2.2.4.4 *Sistema Radicular*

Las raíces crecen hasta alcanzar los tres metros de longitud y 1.5 a 2.5 cm de diámetro, cuando la planta está cerca de los tres años las raíces son idóneas para la cosecha; estas poseen un color gris pardusco con arrugas longitudinales (Aguirre, 2012). Además las raíces poseen altos contenidos de sustancias toxicas (Yugcha, 2015).

2.2.5 Clasificación taxonómica

Tabla 2-4. Taxonomía de *Lonchocarpus nicou*

Reino	Vegetal
División	Embriophyta
Subdivisión	Angiospermae
Familia	Fabaceae
Genero	Lonchocarpus
Especie	Nicou
Nombre científico	<i>Lonchocarpus nicou</i>

Fuente: (Yugcha, 2015)

Elaborado por: Quituizaca J., 2024

2.2.6 Métodos de extracción

Los métodos de separación dependen de las propiedades físicas de los componentes de una mezcla obtenida de las plantas (Ruiz, 2020). Existen diferentes métodos como:

- **Maceración:** proceso fisicoquímico en el cual se aplica un solvente orgánico para la extracción de compuestos fenólicos como aromas, sabores, colorante y otros derivados que se encuentran en plantas o frutos (Pineda, 2019).
- **Destilación:** operación química que consiste en separar mezclas líquidas de sustancias, para lo cual se modifica la fase de una fracción evaporizándola lo que produce una desigualdad en la distribución de la composición de las sustancias en las fases (Badajoz, 2011).
- **Decantación:** consiste en separar componentes de diferentes fases siempre que exista una diferencia significativa entre sus densidades, usualmente se usa un equipo de decantación a nivel de laboratorio (López et al., 2005).
- **Filtración:** proceso físico fundamental en el paso de una mezcla solido-liquido a través de un medio poroso o semiporoso, el cual retiene sólidos y dejando pasar el fluido (Perez y Urrea, 2012).
- **Evaporación:** Consiste en la separación de componentes volátiles mediante la aplicación de calor o corriente de aire seco (Ruiz, 2020).

2.2.7 Clasificación de extractos vegetales

Según Amaguaña (2018) dependiendo del grado de concentración de solventes extractivos, los extractos pueden clasificarse en:

- **Extractos Fluidos o líquidos:** Son preparaciones líquidas de plantas que usan alcohol como disolvente o conservador, ya que se evapora dicho disolvente para realizar una disolución que sea igual al peso de la planta es decir que 1g equivale a 1ml (concentración 1:1) (Cano, 2022).
- **Extractos Secos:** se elaboran a partir de procesos de evaporación en vacío con una humedad entre 15 y 25% la concentración es igual o superior a 2:1, mediante este proceso o liofilización se obtienen extractos secos de concentración 5:1 (Guerra, 2005).
- **Extractos Semisólidos o blandos:** son preparaciones de consistencia intermedia entre un extracto líquido y un extracto seco, por lo que se considera un extracto de consistencia pastosa, son poco usados y poseen consistencia gelatinosa (Cano, 2022).
- **Crioextractos:** se obtienen de la droga líquida, de la que se extraen los principios activos mediante nitrógeno líquido para posteriormente añadir alcohol etílico. Este tipo de extractos resulta muy costoso, pero a la vez muy útiles para la extracción de proteínas y enzimas de ciertas especies (Durango, 2009).

CAPITULO III

3 MARCO METODOLÓGICO

3.1 Descripción del enfoque

La presente investigación posee un enfoque cuantitativo-cualitativo ya que se realizó la determinación de una dosis letal media (DL50) a partir del extracto de alcaloides de la especie *Lonchocarpus nicou*, donde en cada unidad experimental se contabilizó el número de individuos muertos por tratamiento al ser expuestos a distintas concentraciones del extracto; mediante un análisis estadístico se comprobó que la dosis formulada para un biocida de la especie *Lonchocarpus nicou* garantizan la mortalidad del 50% de individuos de *Achatina fulica*, así como los objetivos planteados en esta investigación. Es cualitativo debido a la identificación de metabolitos secundarios que se realiza mediante un ensayo de tamizaje fitoquímico, el método de identificación se fundamenta en pruebas de identificación por coloración y presencia de precipitado; características físicas específicas de ciertos metabolitos al ser expuestos a distintos reactivos

3.2 Alcance

Para la determinación de DL50 de alcaloides de la especie *Lonchocarpus nicou* para el control del molusco *Achatina fulica*, se definió el método más apropiado para la extracción, así como la dosificación y su caracterización fitoquímica; determinando la presencia o ausencia de ciertos metabolitos secundarios entre ellos los alcaloides, con el objetivo de determinar mediante un análisis estadístico el porcentaje de individuos muertos a causa de la presencia de este metabolito en un tiempo definido según el tipo de extracto aplicado, así también determinar su DL50. El presente estudio se realizó en el período académico ordinario octubre / 2023 – febrero / 2024 en la ciudad de Macas perteneciente al cantón Morona, Provincia de Morona Santiago; los extractos se realizaron en el laboratorio de Escuela Superior Politécnica Chimborazo Sede Morona Santiago, mientras que la recolección de los 200 individuos de *A. fulica* se realizó de forma manual en la ciudad de Macas-Morona Santiago en un terreno baldío ubicado en las coordenadas UTM 818890.601E 9743457.573N 17M y en la parroquia San Isidro en las coordenadas UTM 815377.68E 9755271.238N 17M.

3.3 Diseño de investigación

El diseño de esta investigación es Experimental-Documental, debido a que se aplicaron concentraciones al 3%, 5% y 7% de extractos alcohólicos y acuosos de *Lonchocarpus nicou*. Donde para cada tratamiento se realizaron 3 repeticiones con cinco caracoles por cada repetición durante un periodo de 24 y 48 horas respecto al control positivo en el que se usó metaldehído 5% (MATABABOSAS), además se realizó un control (-) bajo las mismas

condiciones empleado agua destilada. Se realizó un tamizaje fitoquímico caracterizando los principales metabolitos secundarios presentes en la raíz de dicha especie.

Es documental ya que se usó diversas fuentes bibliográficas y metodologías de distintos autores para llevar a cabo la investigación, además de dar una explicación fundamentada a los resultados obtenidos en la presente investigación.

3.4 Nivel de Investigación

El nivel de investigación es Correlacional ya que se busca determinar una dosis capaz de eliminar 50% de la población de individuos de *A. fulica* relacionando las diferentes concentraciones de extractos de *Lonchocarpus nicou* con el número de individuos muertos a causa de la presencia de alcaloides contenidos en un biocida de esta especie.

3.5 Métodos y Técnicas

3.5.1 Obtención de raíces de Lonchocarpus nicou

Las raíces fueron obtenidas de una finca ubicada en Sevilla Don Bosco en las coordenadas UTM 822451.88E 9743303.238N 17M, se identificaron cinco plantas de la especie *Lonchocarpus nicou* y se las recolectó de forma manual, se extrajo la mayor cantidad de raíz de la forma más completa posible, cuidando su raíz principal y sus laterales.

3.5.2 Secado de la materia vegetal

Para secar las raíces frescas de *Lonchocarpus nicou* se colocó en una estufa memmert a una temperatura no mayor a 40°C evitando así la pérdida de principios activos, se dejó secar alrededor de 72 horas. Una vez secas las raíces se redujo su tamaño triturándolos, obteniéndose alrededor de 580g materia vegetal. De los cuales se ocupó 150 gramos repartidos en tres frascos de vidrio boca ancha en partes iguales para realizar los extractos etéreo, alcohólico y acuoso.

3.5.3 Recolección de unidades de Achatina fulica.

Para la obtención de esta especie se utilizó la técnica descrita por (Reinoso, 2018) que consiste en una recolección directa en lugares con mucha vegetación cerca de espacios urbanizados o terrenos abandonados, haciendo recorridos nocturnos ya que esta especie es activa durante la noche. Los individuos fueron recolectados en la ciudad de Macas-Morona Santiago en un terreno baldío ubicado en las coordenadas UTM 818890.601E 9743457.573N 17M y en la parroquia San Isidro en las coordenadas UTM 815377.68E 9755271.238N 17M.

Para su recolección se dispuso de equipo de protección personal como guantes de látex, mascarilla KN95 y botas de caucho para proteger la integridad del muestreador.

3.5.4 Población y muestra de *Achatina fulica*

La población de estudio se constituyó de 200 caracoles recolectados en la ciudad de Macas y la parroquia San Isidro considerando los criterios propuestos por (Reinoso, 2018):

- Peso: 20-25 g
- Hallarse dentro de un área de 200 m²
- La concha no debe presentar fracturas o daños significativos

Del total de la población se tomó 180 caracoles para los tratamientos con *Lonchocarpus nicou* en concentraciones al 3%, 5%, 7% para extractos alcohólicos y acuosos. Para los tratamientos se consideró colocar cinco moluscos al azar por cada unidad experimental para la aplicación de las concentraciones de cada tratamiento.

3.5.5 Adaptación de *Achatina fulica*

Para la adaptación y aclimatación de los individuos recolectados de *A. fulica*, se construyeron dos terrarios de 80x40 cm donde se colocaron 90 moluscos en cada una, se mantuvieron en un proceso de adaptación de 7 días, se roció con agua de lluvia mediante un dispersor cada 3 días para su hidratación; su alimentación se basó en lechuga y fruta, tratando de mantener condiciones similares a las que se encuentran expuestos de forma natural.

3.5.6 Tamizaje fitoquímico

Para el proceso de obtención de extractos para el tamizaje fitoquímico se utilizó la metodología de (MIRANDA, M. 2006, p 1-3).

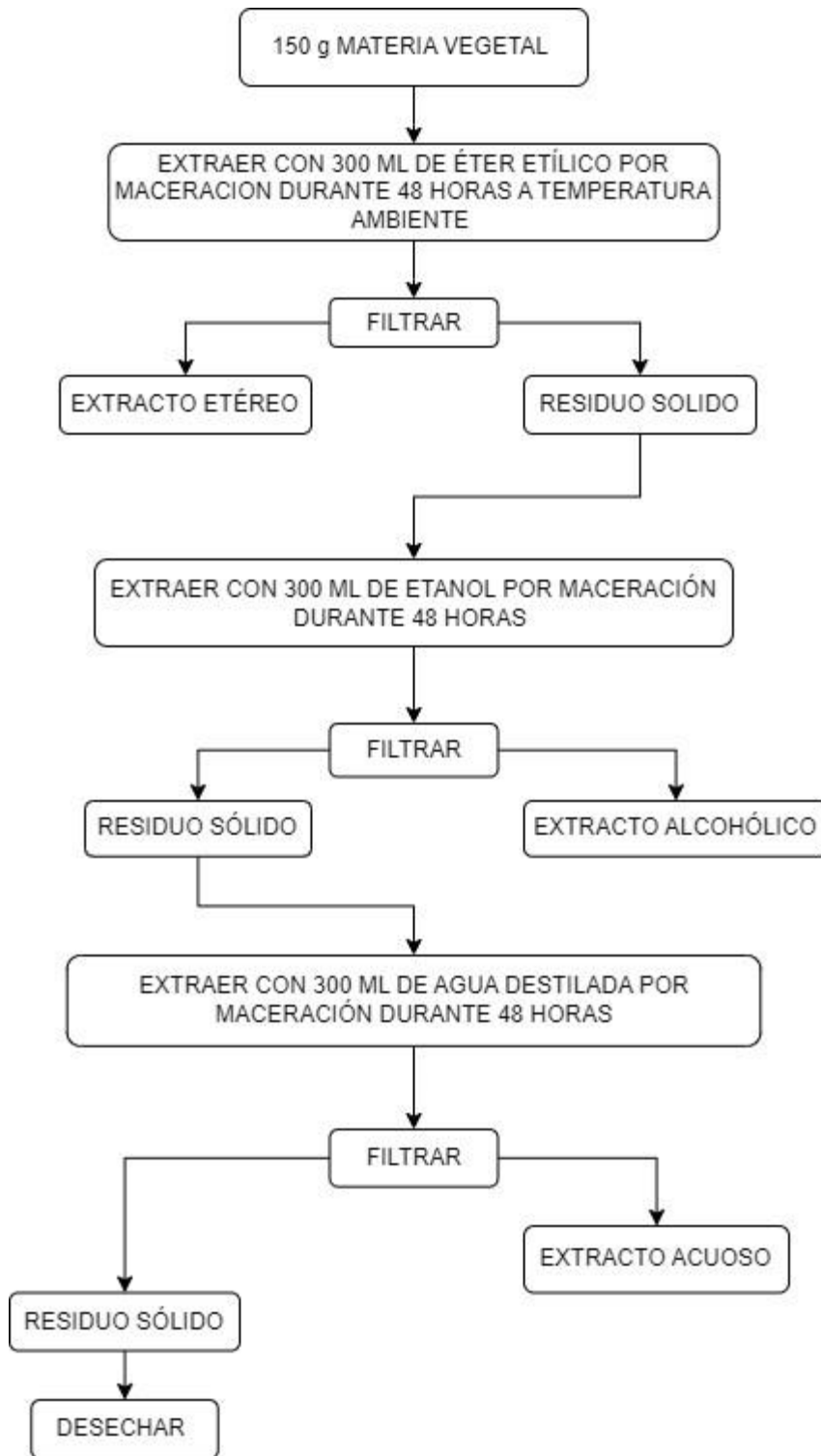


Ilustración 3-3. Proceso de obtención de extractos para tamizaje fitoquímico

Elaborado por: Quituzaca J., 2024

3.5.6.1 Extracto etéreo

Se pesó 150 gramos de materia vegetal seca previamente triturada y se colocó en 3 cada frasco de vidrio boca ancha en partes iguales y se agregó 300 mL de Diethyl ether en cada una, con el

objetivo de cubrir por completo la materia vegetal, se cubrió cada frasco con papel aluminio para impedir el contacto con la luz y se dejó macerar durante 48 horas a temperatura ambiente agitando cada frasco de forma intermitente en un Multi-funcional Orbital Shaker. Una vez terminado el proceso de maceración se filtró y se reservó el contenido de aproximadamente 500ml de extracto en un frasco ámbar de 1L y se colocó en refrigeración a 4°C, posteriormente se secó en una estufa la materia vegetal contenida en cada frasco a una temperatura no mayor a 40°C.

3.5.6.2 *Extracto Alcohólico*

Con la materia vegetal seca del extracto etéreo se volvió a colocar en los 3 frascos de vidrio boca ancha y se cubrió con alcohol al 99,8% con alrededor de 300ml por frasco hasta cubrir por completo la materia vegetal, se cubrió con papel aluminio cada frasco en su totalidad y se colocó en un Shaker Orbital para mantenerlo en agitación intermitente y se dejó macerar durante 48 horas a temperatura ambiente. Una vez se culminó el tiempo de maceración, se procedió a filtrar y se reservó el extracto obtenido de unos 580ml en frasco ámbar de 1L y se refrigeró a 4°C. Posteriormente se secó la materia vegetal a una temperatura de 40°C.

3.5.6.3 *Extracto Acuoso*

Para este extracto se realizó el mismo procedimiento presentado con anterioridad al realizar el extracto alcohólico, y se reservó el extracto de 600ml en un frasco ámbar de 1L y se refrigeró a 4°C, posteriormente se desechó la materia vegetal usada.

3.5.6.4 *Técnica para identificar principios activos mediante tamizaje fitoquímico*

Para identificar principios activos en los extractos anteriormente mencionados se siguió las técnicas de tamizaje de (MIRANDA, M. 2006, p 1-3).

Tabla 3-5. Ensayos de tamizaje fitoquímico

Tipo de ensayo	Presencia	Técnica	Identificación
<i>E. de Sudan</i>	Compuestos grasos	A una alícuota de la fracción en el solvente de extracción, se le añade 1 mL de una solución diluida en agua del colorante Sudan III o Sudan IV. Se calienta en baño de agua hasta evaporación del solvente	Se considera positivo si: -Aparecen gotas o una película roja en el seno o paredes del tubo
		Si la alícuota del extracto está disuelta en un solvente orgánico, este debe evaporarse en baño de agua y el	Se considera positivo si: -Se presenta opalescencia se considera (+).

E. de Dragendorff	Alcaloides	<p>residuo re disolverse en 1 mL de ácido clorhídrico al 1% en agua.</p> <p>Si el extracto es acuoso la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, (calentar suavemente y se deja enfriar hasta acidez). Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3gotas del reactivo de Dragendorff.</p>	<p>-Turbidez definida (++).</p> <p>-Precipitado (++++)</p>
E. de Mayer	Alcaloides	<p>Proceder de la forma descrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida. Añada una pizcade cloruro de sodio en polvo, agite y filtre. Añada 2 o 3 gotas de la solución reactiva de Mayer.</p>	<p>Se considera positivo si:</p> <p>-Se presenta opalescencia se considera (+).</p> <p>-Turbidez definida (++).</p> <p>-Precipitado coposo (++++)</p>
E. de Wagner	Alcaloides	<p>Se parte al igual que en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 ó 3 gotas del reactivo.</p>	<p>Se considera positivo si:</p> <p>-Se presenta opalescencia se considera (+).</p> <p>-Turbidez definida (++).</p> <p>-Precipitado coposo (++++)</p>
E. de Baljet	Agrupamiento lactónico (Coumarinas)	<p>Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y re-disolverse en la menor cantidad de alcohol (1 mL). En estas condiciones se adiciona 1mL del reactivo Baljet.</p>	<p>Se considera positivo si:</p> <p>-Aparición de coloración o precipitado rojo (++ y +++) respectivamente.</p>
E. de Borntrager	Quinonas	<p>Para ello si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo re-disolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5% en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación.</p>	<p>Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo, el ensayo se considera positivo.</p> <p>-Coloración rosada (++)</p> <p>-Coloración roja (++++)</p>
		<p>Para ello, si la alícuota del extracto</p>	<p>Un ensayo positivo se tiene por un cambio</p>

<i>E. de Liebermann-Burchard</i>	Triterpenos y/o esteroides	no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo re-disolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayos se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar	rápido de coloración: -Rosado-azul muy rápido. -Verde intenso-visible, aunque rápido. -Verde oscuro-negro-final de la reacción"
<i>E. de Catequinas</i>	Catequinas	Para ello, tome de la solución alcohólica obtenida una gota, con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel el filtro. Sobre la mancha aplique solución de carbonato de sodio.	La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV, indica un ensayo positivo.
<i>E. de resinas</i>	Resinas	Para detectar este tipo de compuesto, adicione a 2 mL de la solución alcohólica, 10 mL de agua destilada.	La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo.
<i>E. de Fehling</i>	Azucres reductores	Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo re-disolverse en 1-2 mL de agua. Se adicionan 2 mL. del reactivo y se calienta en baño de agua 5-10 minutos la mezcla.	El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo.
<i>E. de Espumas</i>	Saponinas de tipo esteroideal o triterpénica	Si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos.	El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos.
<i>E. del Cloruro férrico</i>	Compuestos fenólicos y/o taninos	A una alícuota del extracto alcohólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica. Si el extracto es acuoso, el ensayo determina taninos. A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio	Un ensayo positivo puede dar la siguiente información genera: -Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.

para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica

- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo piro catecólicos.

- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo piro galotánicos

<i>E. de la ninhidrina</i>	aminoácidos libres o de aminosasen general	Se toma una alícuota del extracto en alcohol, o el residuo de la concentración en baño de agua, si el extracto se encuentra en otro solvente orgánico, se mezcla con 2 mL de solución al 2% de ninhidrina en agua. La mezcla se calienta 5-10 minutos en baño de agua.	Este ensayo se considera positivo cuando se desarrolla un color azul violáceo.
<i>E. Shinoda</i>	Flavonoides	Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen	El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intensos en todos los casos
<i>E. antocianidinas</i>	Estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides	Se calientan 2 mL del extracto etanólico por 10 min con 1 mL de HCL conc. Se deja enfriar y se adiciona 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Se agita y se deja separar las dos fases.	La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica es indicativa de un ensayo positivo
<i>E. mucílagos</i>	Estructura tipo polisacárido	Para ello una alícuota del extracto en agua se enfría a 0-5 °C.	Si la solución toma una consistencia gelatinosa el ensayo es positivo.
<i>E. de principios amargos y astringentes</i>	Principio amargo	El ensayo se realiza saboreando 1 gota del extracto acuoso o del vegetal y reconociendo el sabor de cada uno de estos principios, bien diferenciados al paladar.	Presencia de sabor amargo al paladar ensayo positivo.

Elaborado por: Jose Quituzaca

3.5.7 *Destilación del extracto alcohólico*

Se tomó alrededor de 500ml del extracto alcohólico y se colocó en un rotavapor RE100-Pro a una temperatura de 50°C y 80 rpm durante un tiempo de 120 minutos, una vez destilado el alcohol se reservó el extracto concentrado en un frasco pequeño y se colocó en una estufa a 40°C durante 3 días para evaporar el solvente en su totalidad, dando como resultado un extracto concentrado de color marrón oscuro de aspecto viscoso.

3.5.8 *Preparación de soluciones de Lonchocarpus nicou*

Se descartó el extracto etéreo concentrado debido a la baja cantidad de alcaloides que presentó en el tamizaje fitoquímico, ya que se considera que este metabolito es responsable de poseer actividad molusquicida (Mezghani-Jarraya et al. 2009). Para determinar las concentraciones se pesó la cantidad de extracto alcohólico obtenido, dando como resultado 7,173g de concentrado puro de *Lonchocarpus nicou* con lo que se realizó una solución madre agregando 7g de extracto en 100ml de agua destilada obteniéndose una concentración al 7% m/v a partir del cual se realizaron las diluciones al 5% v/v y 3% v/v consecutivamente. Para las concentraciones en acuoso se partió del extracto acuoso previo y se realizaron concentraciones al 7% v/v, 5% v/v y 3% v/v para su posterior aplicación.

3.5.9 *Método de aplicación de extractos de Lonchocarpus nicou*

Para la selección del método de aplicación de los extractos se tomó en cuenta los resultados de la investigación de (Reinoso, 2018), en el cual indica que la aplicación por atomización tiene un nivel de aceptación del 97%. Para disminuir la probabilidad de error en las unidades experimentales durante su aplicación, se aleatorizó el orden de aplicación para las unidades experimentales

3.5.10 *Método de identificación de moluscos muertos*

Para la segregación de mortalidad se usó el criterio propuesto por (Iannacone y Alvariano, 2002) considerando un individuo muerto si:

- Es incapaz de realizar algún movimiento por 15 segundos de observación ya sea mover el pie, la concha o los tentáculos cefálicos.

3.5.11 *Experimento*

Método de aplicación: atomización

Tipo de extracto: alcohólico y acuoso

Se aplicó los extractos de *Lonchocarpus nicou* en las concentraciones al 7% m/v, 5% v/v y 3% v/v, para el extracto acuoso se consideraron las mismas concentraciones. A continuación, se

esquematiza el proceso de experimentación de los extractos de *Lonchocarpus nicou* frente al caracol africano (*Achatina fulica*).

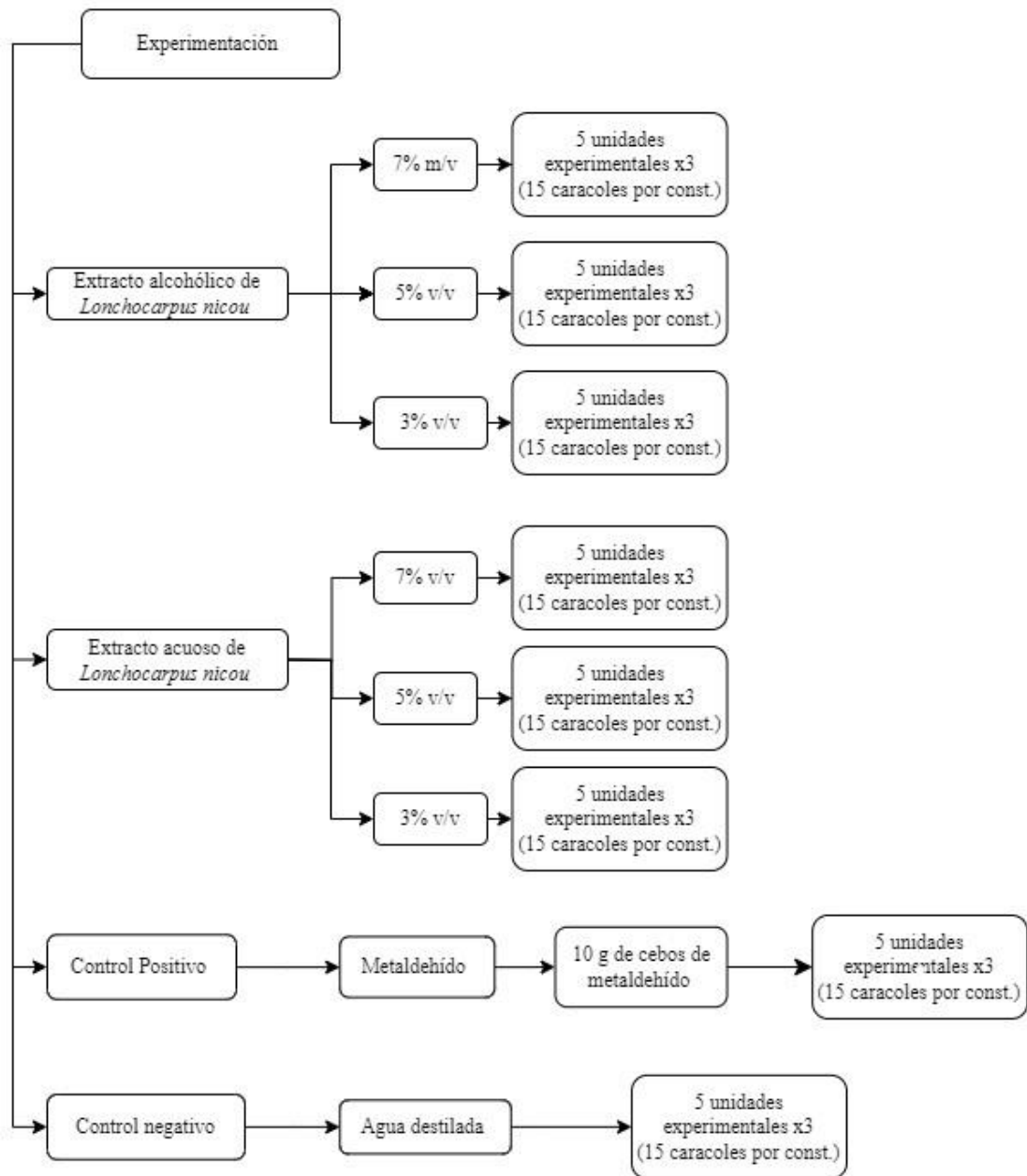


Ilustración 3-4. Esquema de experimentación.

Realizado por: Quituzaca J., 2024

3.6 Instrumentos de investigación

3.6.1 *Materia prima*

Especie vegetal: Raíces de *Lonchocarpus nicou*

Especia plaga: *Achatina fulica*

3.6.2 *Equipos*

N°	Equipo
1	Balanza analítica
2	Estufa memmert
3	Rotavapor RE100-pro
4	Multi-functional, Orbital Shaker
5	Cámara digita
6	Computador
7	Cocina eléctrica
8	Sorbona extractora de gases

3.6.3 *Materiales de laboratorio*

N°	Material
1	Tubos de ensayo
2	Gradilla
3	Vasos de precipitado de 600ml
4	Pipetas de 5mL
5	Embudo buchner
6	Papel aluminio
7	Embudo buchner
8	Atomizadores
9	Frascos ámbar 1L
10	Frascos transparentes boca ancha 1L
11	Cajas plásticas pequeñas
12	Guantes
13	Mascarillas
14	Embudo

3.6.4 Reactivos

N°	Reactivo
1	Reactivo de Dragendorff
2	Reactivo de Mayer
3	Reactivo de Wagner
4	Reactivo de Baljet
5	Reactivo de Lieberman Buchard
6	Reactivo para Catequinas
7	Reactivo para resinas
8	Reactivo de Fehling
9	Reactivo de FeCl ₃
10	Reactivo de Ninhidrina
11	Reactivo de Borntrager
12	Reactivo de Shinoda
13	Reactivo de Antocianidinas
14	Ácido clorhídrico concentrado
15	Cloruro de sodio en polvo
16	Etanol 99,8%
17	Diethyl ether
18	Cloroformo
19	Hidróxido de potasio
20	Anhidrido acético
21	Agua destilada
22	Cloruro férrico 5%
23	Solución salina fisiológica
24	Cinta de magnesio metálico

CAPITULO IV

4 MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS

4.1 Procesamiento, análisis e interpretación de resultados

4.1.1 Tamizaje fitoquímico

En los extractos etéreo alcohólico y acuoso se aplicaron pruebas de identificación cualitativa conocida como tamizaje fitoquímico en el cual se identifica la presencia de metabolitos secundarios como se detalla en la tabla 4-6.

Tabla 4-6. Resultados de tamizaje fitoquímico de *Lonchocarpus nicou*

Ensayo	Metabolito secundario	Extracto Etéreo	Extracto Alcohólico	Extracto Acuoso
<i>Dragendorff</i>				
<i>Mayer</i>	Alcaloides	+	+++	++
<i>Wagner</i>				
<i>Baljet</i>	Lactonas y coumarinas	+	+	N/A
<i>Borntrager</i>	Quinonas	N/A	+	N/A
<i>resinas</i>	Resinas	N/A	-	N/A
<i>Fehling</i>	Azúcares reductores	N/A	+	-
<i>Espumas</i>	Saponinas de tipo esteroidal o triterpénica	N/A	N/A	+
<i>Cloruro férrico</i>	Compuestos fenólicos y/o taninos	N/A	+	+
<i>ninhidrina</i>	aminoácidos libres	N/A	-	N/A
<i>Shinoda</i>	Flavonoides	N/A	-	-
	Estructuras del grupo de los flavonoides			
<i>Antocianidinas</i>		N/A	+	N/A
<i>mucílagos</i>	Estructura tipo polisacárido	N/A	N/A	+
<i>Principios amargos</i>	Amargor	N/A	N/A	+

Elaborado por: Quituzaca J., 2024

La interpretación de los signos es la siguiente: (+++) positivo a presencia del metabolito de forma muy abundante, (++) positivo a presencia del metabolito de forma abundante, (+) positivo a presencia del metabolito de forma leve, (-) ausencia de metabolito en la muestra y (N/A) no aplica dentro del tipo de extracto.

4.1.1.1 *Alcaloides*

Son compuestos heterocíclicos y nitrogenados de naturaleza alcalina son poco solubles en agua pero muy solubles en alcohol, éter, bencina y cloroformo (Carballo, 2013), solo los alcaloides fenólicos son poco solubles en éter etílico o cloroformo (Fuster, 1994). La mayor parte de los alcaloides actúan a nivel del sistema nervioso central generando alteraciones nerviosas y descompensación del sistema digestivo y respiratorio. En los extractos alcohólico y acuoso, se determinó que existe presencia abundante de alcaloides a diferencia del extracto etéreo donde la presencia de este metabolito secundario es leve, por lo que se descarta el extracto etéreo para el análisis biocida. Según Avendaño y Sangama (2017, pág. 3) este tipo de metabolito secundario cumple la función de proteger a las plantas contra animales y hongos, es por eso que muchas de las plantas medicinales, tóxicas y alucinógenas deben sus efectos biológicos a los alcaloides.

4.1.1.2 *Lactonas y coumarinas*

La presencia de este metabolito secundario se encuentra disuelta en extractos etéreo y alcohólico de *Lonchocarpus nicou* de forma leve (+). Este tipo de metabolito posee propiedades antimicrobiana, antiinflamatorio, antiespasmódica, antivirales, antihelmínticas, antioxidantes o inhibidoras de enzimas (Tello, 2015). Según (Villacres et.al., 2019) citado de Lock, (1988) y Mendoza, (2012), las coumarinas presentan propiedades antibacterianas y fúngicas, además de repeler herbívoros y promover la inhibición de la germinación de las semillas

4.1.1.3 *Quinonas*

Las antraquinonas son metabolitos secundarios con funcionalidad p-quinona, que se encuentran disueltos de forma leve en extractos alcohólicos de *Lonchocarpus nicou* (+), se caracteriza por su acción antibacteriana y antifúngica (Pilatuña 2016), además, las quinonas poseen una amplia gama en la actividad biológica de las que destacan propiedades antiinflamatorias, antivirales, antitumorales, antimicrobianas y antitripanosómica. (Torres, 2018).

4.1.1.4 *Azúcares reductores*

El ensayo alcohólico evidenció presencia de azúcares reductores que según (Barrera et al., 2009) estos azúcares reductores son importantes como metabolitos energéticos para la planta. No se evidenció presencia de azúcares reductores en extractos acuosos (-).

4.1.1.5 Saponinas

Las saponinas fueron evidenciadas mediante un ensayo de espumas en extractos acuosos (+), este tipo de metabolitos presenta características físico-químicas por las son consideradas surfactantes naturales útiles en la formación de emulsiones y espumas, además poseen actividad antimicrobiana y antiparasitaria (Góngora-Chi et al., 2023).

4.1.1.6 Compuestos fenólicos y/o taninos

Los compuestos fenólicos y/o taninos de *Lonchocarpus nicou* se encuentran de forma leve en extractos alcohólicos y acuosos (+), los cuales se determinaron mediante un ensayo de cloruro férrico. Este tipo de metabolito posee muchas funciones variadas desde sustancias odoríferas, venenos, agentes fúngicos, antimicrobiano, además pueden actuar como inhibidores de la germinación (Viña, 2013). Lillo et al., (2016) menciona otras propiedades como la asimilación de nutrientes, síntesis proteica, actividad enzimática y protección contra patógenos.

4.1.1.7 Antocianinas

Las antocianidinas son pigmentos hidrosolubles, que se encuentran en forma leve en extractos alcohólicos de *Lonchocarpus nicou* (+), este metabolito exhibe actividad antimicrobiana a través de mecanismos como daño a la pared celular, la membrana y la matriz intercelular, además consisten en pigmentos que son los principales responsables de aportar una variedad de colores a las plantas (Xóchitl et al., 2022).

4.1.1.8 Mucilagos

Existe una leve presencia de este tipo de metabolito en extractos acuosos (+), los mucilagos poseen muchas propiedades entre las que se encuentra combatir algunos fitopatógenos (Moreno et al., 2021).

4.1.1.9 Principios Amargos

Este tipo de compuesto otorga el amargor característico de distintas plantas, en extractos acuosos de *Lonchocarpus nicou* se encuentra de forma leve (+).

4.1.2 Mortalidad de *Achatina fulica* frente a extractos alcohólicos y acuoso de *Lonchocarpus nicou*

4.1.2.1 Porcentaje de mortandad para extractos alcohólicos

En la tabla 4-7 y 4-8 solo se consideran porcentajes de mortalidad a las 48h de aplicación ya que a las 24h no se encontró mortalidad significativa, siendo en algunos casos nula. Además, se consideró las 48h como tiempo máximo de evaluación ya que se comparó los resultados obtenidos por tratamiento con el control negativo. Se observó que a 48h de aplicación del

Metaldehído 5% en el control positivo se obtuvo el 100% de mortalidad por lo que se estableció como tiempo máximo para la aplicación del ensayo.

Tabla 4-7. Resultado de mortalidad en extracto alcohólico

Tratamiento	Concentración	Mortalidad 48h
Extracto alcohólico de <i>Lonchocarpus</i> <i>nicou</i>	3%	26,67%
	5%	46,67%
	7%	66,67%
	Control +	100,00%
	Control -	0,00%

Elaborado por: Quituzaca J., 2024

4.1.2.2 Porcentaje de mortandad para extractos alcohólicos

En la tabla 4-8 se evidencia el porcentaje de mortalidad de *A. fulica* tras la aplicación de extractos acuosos de *Lonchocarpus nicou* a 48h. Al igual que con los extractos alcohólicos, se llevó a cabo un control positivo que dio como resultado el 100% de mortalidad y un control negativo con 0% de individuos muertos. Resultados similares a los obtenidos en los extractos alcohólicos.

Tabla 4-8. Resultado de mortalidad en extracto Acuoso

Tratamiento	Concentración	Mortalidad 48h
Extracto acuoso de <i>Lonchocarpus</i> <i>nicou</i>	3%	6,67%
	5%	26,46%
	7%	46,66%
	Control +	100,00%
	Control -	0,00%

Elaborado por: Quituzaca J.,2024

Como resultado, se observó una mortalidad del 66,67% para extractos alcohólicos al 7%, mientras que para los extractos acuosos en la misma concentración se registró un 46,66%. Esto indica un aumento aproximado del 20% de mortalidad en cada tratamiento de extracto alcohólico en comparación con los extractos acuosos.

4.1.3 Rendimiento de extractos alcohólicos de *Lonchocarpus nicou*

Ecuación 1

$$\%R = \frac{Wi - Wf}{Wi} \times 100$$

Donde:

%R: porcentaje de rendimiento

Wi: peso inicial

Wf: peso final después de obtener el extracto.

Reemplazando los datos correspondientes se calcula se procedió a calcular el rendimiento de la siguiente manera:

$$\%R = \frac{150g - 142,827}{150g} \times 100$$
$$\%R = 4,782 \%$$

El rendimiento que presenta los extractos alcohólicos *Lonchocarpus nicou* a 48 horas de maceración es de 4,782%.

4.1.4 Determinación de DL50 de extractos acuosos y alcohólicos de *Lonchocarpus nicou* en el control de *Achatina fulica*.

4.1.4.1 DL50 para extractos alcohólicos de *Lonchocarpus nicou*

Para determinar la DL50 se empleó el método aritmético, según (Alcívar 2023) este método implica proyectar un gráfico de dispersión en función de x, y los valores de mortalidad obtenidos, valores que deberán ser obtenidos luego de la aplicación de un agente que cause dicha mortalidad, estos valores serán sustituidos en la fórmula $x = \frac{y-b}{m}$ para su posterior interpretación

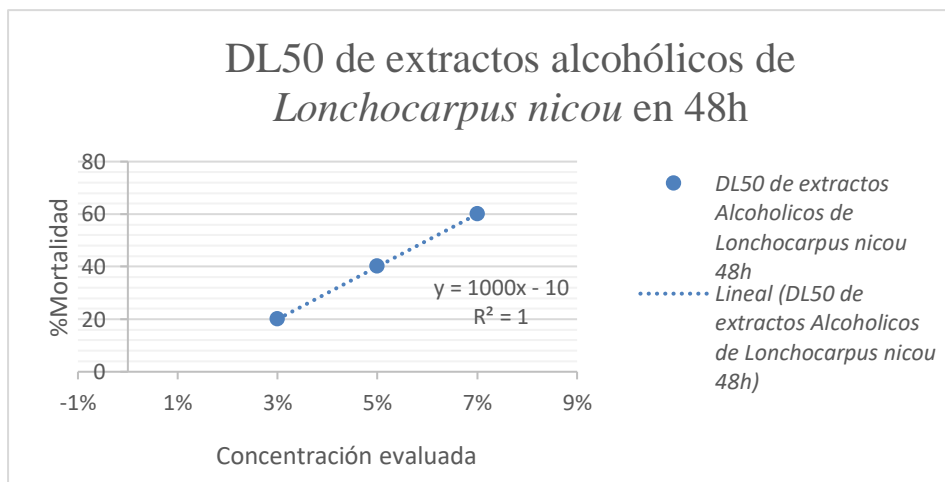


Ilustración 4-5. Dispersión de DL50 de extractos alcohólicos

Elaborado por: Quituzaca J., 2024

La gráfica exhibe tendencia ascendente, lo que indica que conforme se incrementa la concentración de extractos alcohólicos de *Lonchocarpus nicou* aumenta la mortalidad de *Achatina fulica*. Por lo cual, tomando como base la ecuación del sistema $y = 1000x - 10$ donde (y) es el porcentaje de dosis a calcular, (1000) es la pendiente, (10) la ordenada al origen y (x) la incógnita a calcular para determinar el nuestra DL50, se procede de la siguiente manera:

Ecuación 2

$$y = 1000x - 10$$

$$y + 10 = 1000x$$

$$x = (y + 10)/1000$$

$$x = \frac{50 + 10}{1000}$$

$$x = 0,06 * 100 = 6\%$$

La grafica de DL50 relaciona el número de individuos muertos en relación con los individuos expuesto. Donde puede observar que la DL50 para extractos alcohólicos de *Lonchocarpus nicou* a exposición de 48h bajo las condiciones de aplicación por contacto directo y pesos entre 20-25g corresponde a concentraciones del 6% con la que se garantiza la mortandad de 50% de individuos de *Achatina fulica* que sean expuestos a dicha concentración.

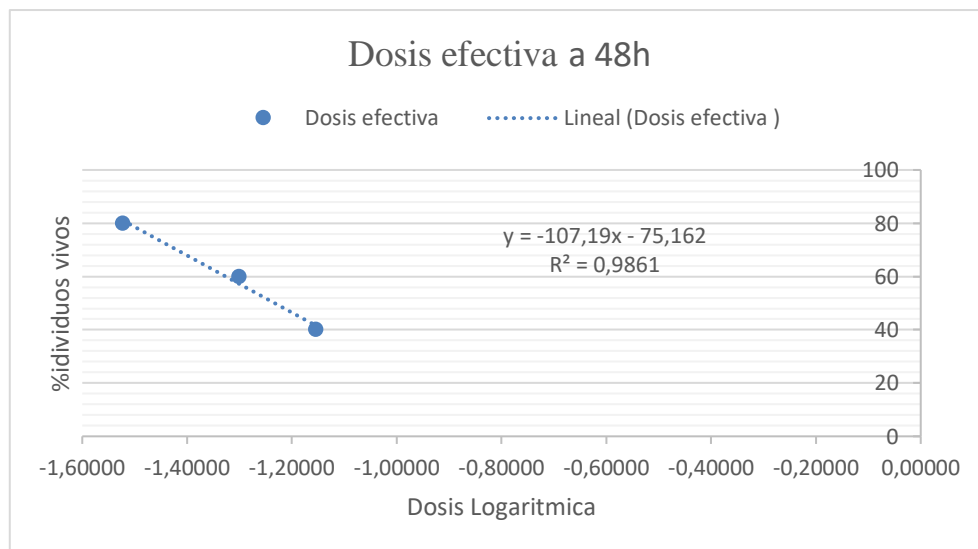


Ilustración 4-6. Grafica de dosis efectiva de extractos alcohólicos en 48h

Elaborado por: Quituzaca J., 2024

En la ilustración 4-6 se analiza la proporcionalidad de individuos expuestos en relación con los individuos muertos, esta gráfica se usa para determinar la dosis efectiva considerando la menor cantidad posible de individuos vivos, la gráfica de dosis efectiva representa una línea de

tendencia decreciente indicando que a medida que se aumenta la concentración el porcentaje de individuos vivos expuestos disminuye. Para cálculo matemático se consideró la ecuación del sistema $y = -107,19x - 82,162$ despejando la variable “x” y determinando matemáticamente la dosis efectiva como se muestra a continuación:

Ecuación 3

$$\begin{aligned}y &= -107,19x - 75,162 \\y + 75,162 &= -107,19x \\x &= (y + 75,162)/-107,19 \\x &= \frac{50 + 75,162}{-107,19} \\x &= -1,1676\end{aligned}$$

Al resultado de “x” se lo pone en base exponencial 10 y se multiplica por 100

$$\begin{aligned}x &= 10^{-1,1676} = 0,07 * 100 \\x &= 7\%\end{aligned}$$

La gráfica de dosis efectiva relaciona la concentración a escala logarítmica y el porcentaje de supervivencia de individuos expuestos a extractos alcohólicos de *Lonchocarpus nicou* durante un periodo de 48 horas. Al tratarse de una gráfica decreciente, indica que conforme se incrementa la concentración, el número de individuos vivos disminuye. La dosis efectiva para moluscos de entre 20-25g se sitúa a concentraciones del 7%, donde el porcentaje de individuos vivos alcanza un mínimo del 40%, siendo este el valor más bajo en comparación con las concentraciones del 3% y 5%.

4.1.5 Determinación de DL50 de extractos acuosos de Lonchocarpus nicou

Para determinar la DL50 en extractos acuosos de *Lonchocarpus nicou*, se realizó un análisis similar al llevado a cabo para extractos alcohólicos. Esto implicó la creación de una gráfica de dispersión y el uso de la ecuación del sistema.

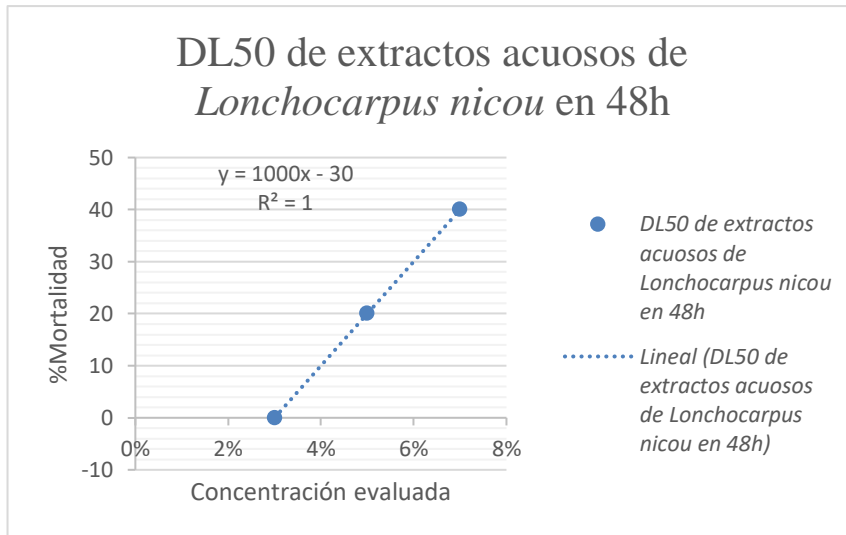


Ilustración 4-7. Cálculo de la DL50 mediante gráfica de dispersión

Elaborado por: Quitizaca J., 2024

Tomando como base la ecuación $y = 1000x - 30$ obtenida de la gráfica de dispersión se procede a realizar el despeje de “x” siendo la incógnita para determinar la DL50 en extractos acuosos. A continuación, el cálculo matemático de la DL50:

Ecuación 4

$$y = 1000x - 30$$

$$y + 30 = 1000x$$

$$x = (y + 30)/1000$$

$$x = \frac{50 + 30}{1000}$$

$$x = 0,08 * 100 = 8\%$$

La DL50 en extractos acuosos de *Lonchocarpus nicou* para el control de *Achatina fulica* en condiciones de aplicación por contacto directo y pesos entre 20-25g se sitúa en concentraciones al 8%. Es importante destacar que esta concentración se encuentra fuera del rango evaluado, debido a que a concentraciones del 7% solo se logra una mortalidad del 45,75% por lo que la estimación de la DL50 para este tipo de extractos se encuentra a concentraciones del 8%, esto indica que se garantiza la muerte del 50% de los individuos de *Achatina fulica* que encuentren expuestos a la concentración mencionada.

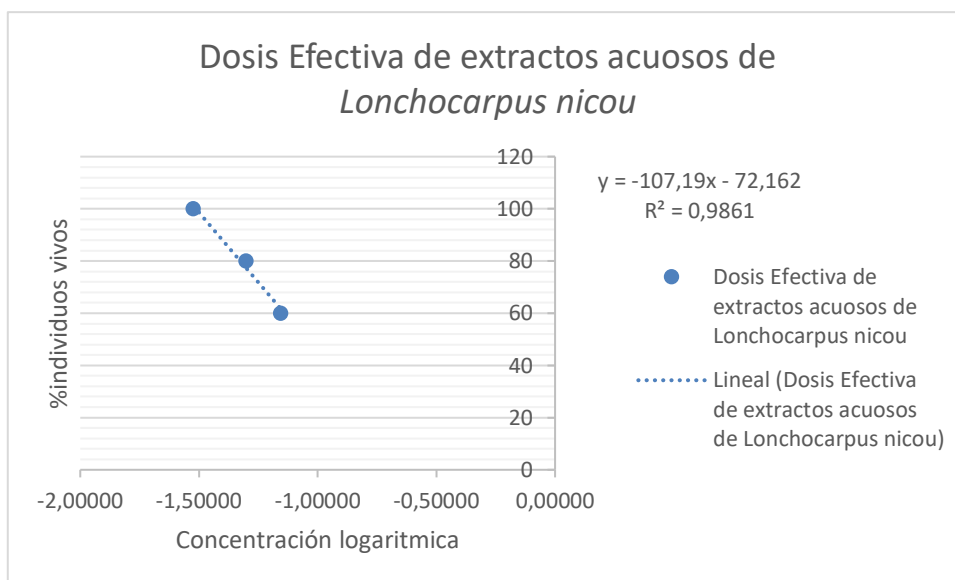


Ilustración 4-8. Grafica de dosis efectiva de extractos alcohólicos en 48h

Elaborado por: Quituzaca J., 2024

Al igual que para los extractos alcohólicos, la ilustración 4-8 se presenta una gráfica decreciente que relaciona las concentraciones evaluadas a escala logarítmica y el porcentaje de individuos vivos, lo que indica que a medida que se aumenta la concentración de extractos acuosos de *Lonchocarpus nicou* disminuye el porcentaje de individuos vivos de *Achatina fulica*. Tomando como base la ecuación del sistema se procede a realizar el despeje de la variable “x” para determinar la dosis efectiva de la siguiente manera:

Ecuación 5

$$y = -107,19x - 72,162$$

$$x = (y + 72,162) / -107,19$$

$$x = \frac{50 + 72,162}{-107,19}$$

$$x = -1,139677$$

Al resultado de “x” se lo pone en base exponencial 10 y se multiplica por 100

$$x = 10^{-1,139677} = 0,072 * 100$$

$$x = 7,25\%$$

La dosis efectiva para moluscos de entre 20-25g se sitúa a concentraciones del 7,25% mediante aplicación directa, considerando que a esta concentración el porcentaje de individuos vivos se reduce considerablemente, siendo este el valor más bajo en comparación con las concentraciones del 3% y 5%.

4.2 Comprobación de hipótesis

Para comprobar las hipótesis planteadas realizo un análisis ANOVA de dos factores con una muestra por grupo.

Tabla 4-9. Resultado de análisis ANOVA

ANÁLISIS DE VARIANZA							
Tipo de extracto	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F	
E. Alcohólico	8950	3	2983,33333	59,6666667	0,0035749	9,27662815	
E. Acuoso	450	1	450	9	0,05766889	10,1279645	
Error	150	3	50				
Total	9550	7					

Elaborado por: Quituzaca J., 2024

Para el análisis ANOVA se consideró el valor de Fisher (F) calculado respecto al tabulado para el cual se consideró un nivel de significancia del 5%. Por lo tanto, se realizó el respectivo análisis para extractos alcohólicos y acuosos.

Para extractos alcohólicos el valor de Fisher (F) tabulado es de 9,2766, siendo menor que el valor calculado de $F = 59,667$, por tanto, el factor posee diferencias significativas estadísticamente por lo que para extractos alcohólicos de *Lonchocarpus nicou* se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa considerando las condiciones de aplicación por contacto directo y pesos (20-25g). Donde la concentración formulada (6%) para el biocida de *Lonchocarpus nicou* garantiza la mortandad del 50% de individuos de *Achatina fulica* que sean expuestos a dicha concentración.

En cambio, para extractos acuosos el valor de Fisher (F) tabulado es de 10,1279, siendo mayor que el valor calculado de $F = 9$, por tanto, el factor no posee diferencias significativas estadísticamente por lo que para extractos alcohólicos de *Lonchocarpus nicou* se rechaza la hipótesis alternativa y se acepta la hipótesis nula considerando las condiciones de aplicación por contacto directo y pesos (20-25). No existen diferencias significativas en la aplicación de las concentraciones de *Lonchocarpus nicou* en la mortalidad de *Achatina fulica*, Esto debido a que la DL50 no se encuentra dentro del rango de concentraciones formuladas en esta investigación, sino que su DL50 (8%) está estimada fuera de los valores previstos inicialmente.

4.3 Discusión

Para el proceso de adaptación *Achatina fulica* en esta investigación de construyeron dos terrarios, con el fin de generar un proceso de adaptación, evitando que los individuos mueran por factores ambientales o de confinamiento. Las medidas de adaptación realizadas en esta investigación también las realiza (Cruz et al., 2019) al construir tres terrarios de PVC para el establecimiento y adaptación de *Achatina fulica*, mantenido condiciones de humedad mediante riego por aspersión, (Patiño y Giraldo, 2018) también se suma a este método de adaptación construyendo un terrario para el mantenimiento de los moluscos de *Achatina fulica*. Tanto Patiño como Cruz no presentan problemas al usar este proceso como método de adaptación para *Achatina fulica*, los terrarios presentan una forma muy eficiente de adaptar y mantener moluscos de *Achatina fulica*.

Se ha evidenciado mediante pruebas de Dragendorff, Wagner y Mayer que existe presencia de alcaloides abundantes (+++) en extractos alcohólicos y acuosos de *Lonchocarpus nicou* a los cuales se les atribuye actividad molusquicida, lo que concuerda con la investigación realizado por (Mezghani-Jarraya et al. 2009) en su artículo **Molluscicidal activity of *Hammada scoparia* (Pomel) Iljin leaf extracts and the principal alkaloids isolated from them against *Galba truncatula*** donde menciona que los extractos de *H. scoparia* al ser ricos en alcaloides estarían íntimamente ligados a su actividad molusquicida. Por otra parte (Reinoso, 2018) atribuye actividad molusquicida a los glicoalcaloides que son compuestos químicos derivados de alcaloides. Es así como estos autores atribuyen actividad molusquicida a los alcaloides o derivados de ellos.

Según un estudio realizado por Díaz, (2010), sobre **la aplicación de dos biocidas; "barbasco" *Lonchocarpus nicou* y Altamisa" *Ambrosía peruviana* y sus efectos sobre la *Boophilus sp*** a concentraciones del 0.5%, 0.75% y 1% de *Lonchocarpus nicou* se obtienen resultados biocida favorables del 86.78, 81.99, y 73.60% respectivamente. Por su parte (Alcívar, 2023) en su investigación **Efecto biocida del «barbasco» *Lonchocarpus utilis* como regulador de larvas de mosquitos** obtuvo un efecto biocida del 94% a dosis de 6,25 g/L de extracto alcohólico de *Lonchocarpus nicou*, estos resultados respaldan la actividad biocida que presentan las concentraciones alcohólicas investigadas de *Lonchocarpus nicou* del 3%, 5% y 7%, con resultados del 26.67, 46.67, 66.67% de mortalidad respectivamente, presentándose la actividad biocida de *Lonchocarpus nicou* desde concentraciones al 1% en adelante.

Los resultados de esta investigación al usar el barbasco como molusquicida, concuerdan con los estudios realizador por (Fajardo et al. 2019) en el control de masas de huevos del caracol manzano (*Pomacea canaliculata*) donde se usaron dosis de 120ml/ 20L y se obtuvo resultados favorables

logrando matar el 100% a dicha concentración demostrando que esta especie posee actividad molusquicida. Además, en la investigación realizada por (Reinoso, 2018) de extractos glicoalcaloidales de *S. sessiliflorum* para el control de *Achatina fulica* se logró control a este molusco gracias a la presencia de glicoalcaloides que son compuestos químicos derivados de los alcaloides, por lo que la presencia de alcaloides está íntimamente ligado a la mortalidad de *Achatina fulica* lo que concuerda con el fin investigado en este trabajo.

La DL50 de extractos alcohólicos de *Lonchocarpus nicou* para el control de *Achatina fulica*, bajo las condiciones de peso (20-25g), se sitúa en concentraciones del 6% en un período de exposición de 48 horas, mientras que para los extractos acuosos alcanza el 8% en el mismo lapso. Actualmente no se encuentran referencias bibliográficas respecto a la DL50 de esta especie sobre *Achatina fulica* u otros moluscos. Algunos estudios emplean a *Lonchocarpus nicou* para determinar DL50 en otras plagas, como el realizado por Villavicencio et al. (2010) sobre **plantas tradicionalmente utilizadas como plaguicidas en Hidalgo, México**. En dicho estudio se menciona que la especie *Eruthrina americana*, perteneciente a la familia Fabaceae al igual que *Lonchocarpus nicou*, contiene aproximadamente un 1.056% de alcaloides en sus semillas y exhibe una DL50 de 12g/Kg en ratones en un período de 3 semanas. Esto sugiere que se requieren únicamente 12g de toxina de la familia Fabaceae que contenga alcaloides al 1% para eliminar un animal tan resistente como los ratones. Además, en la investigación llevada a cabo por Mariños et al. (2004) sobre **el efecto biocida de *Lonchocarpus utilis* como regulador de larvas**, para una población de 7000 larvas de *A. benarrochi* la DL50 es de 0,83g/L en un lapso de 12 horas en extracto acuoso de *Lonchocarpus nicou*, siendo capaz de controlar el 50% de la población de 7000 larvas de *A. benarrochi* a concentraciones relativamente bajas de 0,83g de barbasco crudo por cada litro.

CAPITULO V

5 CONCLUSIONES

- Se determinó que la DL50 de alcaloides de la especie *Lonchocarpus nicou* contenidos en un biocida está presente en concentraciones al 6% para extractos alcohólicos y 8% en extractos acuosos, con los que se garantiza la muerte del 50% de individuos de *Achatina fulica* que sean expuestos a estas concentraciones.
- Se definió que el mejor método para extracción de principios activos es la maceración en 48H, ya que es el método que recomienda (MIRANDA, M. 2006, p 1-3). para realizar tamizajes fitoquímicos. Para la dosificación se consideró mediante bibliografía concentraciones de *Lonchocarpus nicou* que actúen como biocida, ya que no existe referencias bibliografías del uso de esta especie en el control de algún molusco como *Achatina fulica*.
- Se caracterizo los metabolitos secundarios de la raíz de *Lonchocarpus nicou* mediante un tamizaje fitoquímico donde se puede concluir que los principales metabolitos presentes en la raíz son: alcaloides, lactonas y coumarinas, quinonas, azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos y/o taninos, antocianidinas, mucilagos y principios amargos.
- Se determinó el porcentaje mortalidad a las 48 horas de aplicación de los extractos, donde se obtuvo un 66,67% para el tratamiento T1, 46,67% T2 y 26,67% T3 en extractos alcohólicos de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou*. Para extractos acuosos de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou* se obtuvo para el tratamiento T1 46,66; T2 26,46% y T3 6,67%. Siendo el más efectivo el extracto alcohólico al 7% con un porcentaje de mortalidad del 66,67% en el control de *Achatina fulica*.

6 RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar un análisis de cromatografía de gases acoplado un espectrómetro de masas para identificar el tipo de alcaloide presente en los extractos de *Lonchocarpus nicou*
- Es recomendable realizar un extracto hidroalcohólico para remplazar el proceso de maceración de extractos acuosos y alcohólicos por separado, ya que al ser un proceso secuencial el extracto acuoso puede estar solo atrayendo residuos de metabolitos de los extractos anteriores.
- Realizar una investigación sobre las propiedades biocida de otras partes de la planta, ya sea tallo, hojas o fruto.
- Probar las propiedades plaguicidas de *Lonchocarpus nicou* con otras plagas que no hayan sido investigadas.
- Evaluar si los extractos de *Lonchocarpus nicou* poseen propiedades repelentes frente a plagas de plantación.
- Se recomienda analizar el efecto biocida de *Lonchocarpus nicou* a nivel de campo y evaluar su efectividad como biocida para *Achatina fulica*.

BIBLIOGRAFÍA

1. **AGUAYO, C., BURGOS, J., LOPEZ, R. y GALVEZ, A.** *Resistencia a biocidas de diferentes cepas de escherichia coli.* 2010 , vol. 23, no. 1, Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3980029.pdf>
2. **ALBUQUERQUE, F.S., PESO-AGUIAR, M.C. y ASSUNÇÃO-ALBUQUERQUE, M.** *Distribution, feeding behavior and control strategies of the exotic land snail Achatina fulica (Gastropoda: Pulmonata) in the northeast of Brazil.* 2008, *Brazilian Journal of Biology*, vol. 68, no. 4, ISSN 15196984. DOI 10.1590/S1519-69842008000400020. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/bjb/a/c7Ts5WCWJrDLV7tWvVLjDCQ/>
3. **ALCÍVAR, A.** *Patogenicidad de beauveria sp sobre cosmopolites sordidus g en plátano musa aab s.* [en línea], 2023, [Consulta: 02 enero 2024] Disponible en: <http://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1076/1/TTMZ3.pdf>.
4. **AMAGUAÑA, F.** *Estandarización fitoquímica del extracto de caléndula (calendula officinalis).* 2018, Tesis, vol. 1, Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/16149>
5. **ANDREWS, K.** *Control Químico de Babosas especialmente la Babosa del Frijol, Sarasinula plebeia* [en línea]. 1985, *Ceiba*, vol. 26, no. 1, Disponible en: <https://revistas.zamorano.edu/index.php/CEIBA/article/view/18/18>
6. **ARGÜELLES, L., GARCÍA, Á., ORUETA, J. y ZILLETTI, B.,** 2006. *Especies Exóticas Invasoras: Diagnóstico y bases para la prevención y el manejo.* S.l.: s.n. ISBN 9788480146678. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/257966848_Especies_Exoticas_Invasoras_Diagnostico_y_bases_para_la_prevenccion_y_el_manejo
7. **ARMSTRONG, J.,** 2007. *Preguntas Frecuentes sobre el Metaldehído para Controlar el Caracol Gigante Africano.* 2007, *Florida Department of Health J*, Disponible en: <https://ccmedia.fdacs.gov/content/download/32846/file/Metaldehyde-QA-Spanish.pdf>
8. **AVENDAÑO, J. y LINARES, E.** *Morfometría del caracol gigante africano Achatina fulica (Gastropoda: Achatinidae) en Colombia* [en línea]. 2015, *Cuadernos de Investigación UNED*, vol. 7, no. 2, Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1659-42662015000200287
9. **AVENDAÑO, O. y SANGAMA, M.** *Aislamiento e identificación de alcaloides de la corteza del tronco y corteza de la raíz de remo caspi aspidosperma camporum (müll.arg.) utilizado como antiparasitario.* [en línea], 2017, Disponible en: https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/4819/Oscar_Tesis_Titulo_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

10. **AVILES, H.** *Caracterización morfológica de las ecoespecies de plantas de barbasco (lonchocarpus sp.) del canton ventanas provincia de los rios. Block Caving – A Viable Alternative?* [en línea], 2015, vol. 21, no. 1,
11. **BADAJOZ, P.** *Fundamentos y método de la destilación. Determinación experimental del E.L.V. ULPGC.* 2011, *Biblioteca Universitaria*, [Consulta: 12 agosto 2023]. Disponible en: https://accedacris.ulpgc.es/bitstream/10553/8218/1/0231633_00003_0004.pdf
12. **BADII, M. y LANDEROS, J.** *Toxicología que afectan a la salud humana y la sustentabilidad. CULCyT/Toxicología de Plaguicidas*, no. 19, 2007, [Consulta: 02 diciembre 2023]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/7235924.pdf>
13. **BAJAÑA, D.** “*Efecto de extractos botánicos a base de ají (Capsicum frutescens) y neem (Azadirachta indica) sobre el caracol manzana (Pomacea canaliculata)*”. 2016, *Universidad técnica estatal de Quevedo*. Disponible en: <https://repositorio.uteq.edu.ec/server/api/core/bitstreams/238a9ce8-ef22-4622-bc0f-2e3bbf8b6b22/content>
14. **BARRERA, L., HUNG, B., BOTTA, A.M., HERNÁNDEZ, E., GONZÁLEZ, M. y AGUILAR, B.** *Caracterización física y tamizaje fitoquímico de la especie tagetes erecta lin. Revista cubana de química* [en línea], 2009, vol. 21, Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/4435/443543717002.pdf>.
15. **BLANCO, L., MARQUINA, M. y CASTRO, Y.** *Respuestas a la aplicación de carbamatos en dos aislados rizobianos provenientes de mucuchíes, estado mérida, venezuela.* 2013, vol. 25, no. 2. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612013000200005
16. **BORREGO, S.** *Los biocidas vegetales en el control del biodeterioro del patrimonio documental. Perspectivas e impacto.* 2015, vol. 46. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181241373005.pdf>
17. **CALLE, M.** *Utilización de barbasco (lonchocarpus nicou), para el control del piojo (grilicola porcelli), en cuyes, en el cantón tiwintza provincia de Morona Santiago.* 2018, Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/10390>
18. **CAPDEVILA-ARGÜELLES, L., ZILLETTI, B. y SUÁREZ, V.** *Causas de la pérdida de biodiversidad: Especies Exóticas Invasoras Causes of biodiversity loss: Invasive Alien Species. Memorias de la Real Sociedad Española de Historia Natural*, 2013, vol. 10, no. October 2019, Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4899628>
19. **CARBALLO, A.** *Alcaloides* [en línea]. 2013. S.l.: s.n. Disponible en: <https://www.mag.go.cr/rev-histo/st-04-23-398.pdf>.
20. **CASTILLO, G., ZAVALA, D. y CARRILLO, M.** *Análisis Fitoquímico: Una*

Herramienta Para Develar El Potencial Biológico Y Farmacológico De Las Plantas. Tlatemoani, 2017, vol. 28, no. 24. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/7283800.pdf>

21. **CHASI, F.** *Determinación de la eficiencia de diferentes atrayentes naturales para el control del caracol gigante africano (Achatina fulica)*. 2017. Disponible en: <https://repositorio.uteq.edu.ec/items/165e4765-2739-44f6-abab-3056e69c14d0>
22. **CHEMINOVA.** *Ficha de datos de seguridad babosil gr metaldehído 5% [gb] p/v*. 2016. Disponible en: <https://www.hcostadealmeria.com/descargas/fichasdeseguridad/CHEMINOVA%20FMC/BABOSIL%20GR%20MSDS%20AUTOCLP.pdf>
23. **CHI COYOC, T.** *Plaguicidas organoclorados y anticolinérgicos en roedores de Laguna de Términos, Campeche*. 2016, Disponible en: https://ecosur.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1017/1559/1/100000057701_documento.pdf.
24. **CRUZ, H., FLÓREZ, A., PABÓN, J., QUEBRADA, A. y ACHAGUA, W.** *Evaluación de la actividad molusquicida del ají (capsicum annum) y helecho macho agroindustrial y fortalecimiento (achatina fulica) en instalaciones del centro (dryopteris affinis) en el caracol africano empresarial de casanare*. 2019, *Revista Innova Cafec* [en línea], vol. 1, Disponible en: <https://revistas.sena.edu.co/index.php/ricafec/article/view/3969/4270>.
25. **CUASAPAZ, J.** *Area de vida del caracol africano achatina fulica bowdich, 1822 (gastropoda: achatinidae) en dos áreas bajo distinto grado de alteración en el bosque protector cerro blanco (guayas-ecuador) durante febrero – mayo 2016*. 2017, vol. 1822. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332019000100006
26. **DE LA OSSA-LACAYO, A. y DE LA OSSA, J.** *Caracol africano gigante Achatina fulica bowdich 1822 (Mollusca: Gastropoda-achatinidae) en zona urbana de Sincelejo Y Sampués, Sucre*, 2014, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA*, vol. 6, no. 2, DOI 10.24188/recia.v6.n2.2014.432.
27. **DÍAZ, J.** *Aplicación de dos biocidas; «barbasco» lonchocarpus nicou (aubl) dc y n altamisa" ambrosía peruviana willd y sus efectos sobre el control de «garrapatas» boophilus sp. en ganado vacuno, en la zona de zungarococha, loreto-perú*. 2010, Disponible en: <https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/2957>
28. **DURÁN, V., MALAVASSI, E. de la C., HERRERA, G. y RAMÍREZ, F.** *Uso de plaguicidas en cultivos agrícolas como herramienta para el monitoreo de peligros en salud. Uniciencia*, 2013, vol. 27, Disponible en:

<https://www.redalyc.org/pdf/4759/475947762021.pdf>

29. **FAJARDO, A., MORÁN, J., CENTANARO, P., CARTAGENA, M., CRUZ, C. y ANDRADE, P.** Efecto biocida del fruto del barbasco (*Lonchocarpus nicou*) en el control del caracol (*Pomacea canaliculata*) en el arroz en Naranjal - Ecuador. *Biocide effect of the fruit of the Barbasco (Lonchocarpus Nicou) in the control of the snail (Pomacea canalicula*. 2019 , [en línea], vol. 3, Disponible en: <https://journalprosciences.com/index.php/ps/article/view/108>.
30. **FONTANILLA, I.** *Achatina (lissachatina) fulica bowdich: its molecular phylogeny, genetic variation in global populations, and its possible role in the spread of the rat lungworm angiostrongylus cantonensis* (CHEN). 2010, *Tese de Doutorado*, no. July, Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/294596193_Achatina_Lissachatina_fulica_Bowdich_its_molecular_phylogeny_genetic_variation_in_global_populations_and_its_possible_role_in_the_spread_of_the_rat_lungworm_Angiostrongylus_cantonensis_CHEN
31. **FUSTER, S.** *Aislamiento y caracterización química de alcaloides del tipo Amaryllidaceae. Producción de galantamina por cultivos «in vitro» de Narcissus confusus*. Universidad de Barcelona, 1994, [en línea], Disponible en: https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2629/01.SBF_1de2.pdf.
32. **GAÑÁN, N.** Extracción y fraccionamiento de biocidas de origen natural mediante el uso de fluidos supercríticos. *Universidad Nacional Del Sur - Argentina*, 2014, Disponible en: <https://repositoriodigital.uns.edu.ar/bitstream/123456789/532/1/TESIS%20Ga%C3%B1an%20N.%202014.pdf>
33. **GARCÍA, C. y RODRÍGUEZ, G.** *Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa*. 2012, *Ra Ximhai*, vol. 8, ISSN 1665-0441. DOI 10.35197/rx.08.03.e2.2012.01.cg.
34. **GARCÍA, E., VALVERDE, E., AGUDO, M., NOVALES, J. y LUQUE, M.** Toxicología clínica. 2015. *Farmacia Hospitalaria*, no. 3, Disponible en: <https://www.sefh.es/bibliotecavirtual/fhtomo1/cap213.pdf>
35. **GÓNGORA-CHI, G., LIZARDI, J., LÓPEZ, Y., LÓPEZ, M. y QUIHUI, L..** *Métodos de extracción, funcionalidad y bioactividad de saponinas de Yucca: una revisión*. *Biotechnia* 2023, [en línea], vol. 25, no. 1, ISSN 1665-1456. DOI 10.18633/biotechnia.v25i1.1800. Disponible en: <https://www.scielo.org.mx/pdf/biotechnia/v25n1/1665-1456-biotechnia-25-01-147.pdf>.
36. **GONZÁLEZ, J. y ARIAS, A.** El caracol gigante africano (*Achatina fulica*) y sus efectos en la salud humana. 2019, *Multimed*, vol. 23, no. 4, ISSN 1028-4818. Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-48182019000400840

37. **GUERRA, A.** *Obtención, caracterización y evaluación de las propiedades físicoquímicas de los extractos fluidos, blandos y secos así como de las tinturas del rizoma y de la fronda de calahuala (phlebodium pseudoaureum) a nivel de laboratorio.* 2005, Universidad De San Carlos De Guatemala, vol. 1, no. 1, Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16149/1/UPS-QT13324.pdf>
38. **GUILLÉN, N.** *Intoxicación por metaldehído en animales domésticos - 2016,* Revisión Bibliográfica. Universidad de Zaragoza, Disponible en: <https://zaguan.unizar.es/record/58040?ln=es>
39. **HERNÁNDEZ, R., AGUILAR, Á., VELÁSQUEZ, V. y MÉNDEZ, L.** *Guia De Fitoquímica (Laboratorio).* 2012, disponible en: <https://www.uv.mx/qfb/files/2020/09/Guia-de-Fitoquimica.pdf>
40. **IANNACONE, J. y ALVARIÑO, L.** *Efecto del detergente doméstico alquil aril sulfonato de sodio lineal (LAS) sobre la mortalidad de tres caracoles dulceacuícolas en el Perú,* 2002, [en línea], Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/341/34100113.pdf>.
41. **IZQUIERDO, R.** *Identificación de insectos masticadores de hoja del bijao (ca/athea lutea schunt) y su control con productos biocidas en solución acuosa, barbasco (lonchocarpus nicou (aubl.) oc.) y sacha huaca (baccharis floribunda kunth) en el abujao.* unu, 2013, Disponible en: <http://repositorio.unu.edu.pe/handle/UNU/1548>
42. **KARAM, M., MONTES, P. y GALVÁN, J.** *Plaguicidas y salud de la población.* CIENCIA ergo sum, 2004, vol. 11, no. 3, Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/104/10411304.pdf>
43. **LANNACONE, J. y MONTORO, I.** *Impacto de dos productos botánicos bioinsecticidas (azadiractina y rotenona) sobre la artropofauna capturada con trampas de suelo en el tomate en Ica, Perú.* 2002, *Revista Colombiana de Entomología*, vol. 28, no. 2, ISSN 0120-0488. DOI 10.25100/socolen.v28i2.9647.
44. **LEITE, J., ROSA E SILVA, M., SANTOS, J. y FARIA, R.** *Natural products as a control measure of the Achatina fulica (Gastropoda: Achatinidae).* 2022, *Brazilian Journal of Biology*, vol. 84, ISSN 16784375. DOI 10.1590/1519-6984.260065. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/bjb/a/6Dv7NcPvZhJrVffC8P68HXK/>
45. **LILLO, A., CARVAJAL, C., NUÑEZ, F., BALBOA, N. y ZAMORA, M.** *Cuantificación espectrofotométrica de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en distintos berries nativos del Cono Sur de América.* 2016, [en línea], vol. 42, ISSN 16692314. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf/ria/v42n2/v42n2a09.pdf>.
46. **LOMBO, C.** *Estado, control y Manejo del Caracol Gigante Africano (Achatina fúllica) en*

- el municipio de Melgar - Tolima*. 2020, *Universidad Militar Nueva Granada*, Disponible en: <https://repository.unimilitar.edu.co/handle/10654/36251>
47. **LONDOÑO, J.D., ZAMORA, A. y OSORIO, J.** *Angiostrongylus Cantonensis y el caracol africano gigante como causantes de meningitis eosinofílica Angiostrongylus cantonensis and Giant African Snail which cause Eosinophilic Meningitis*. *Revista Facultad de Salud*, vol. 5, no. 2, Disponible en: <https://journalusco.edu.co/index.php/rfs/article/download/143/2900?inline=1>
 48. **LÓPEZ, M., TRIANA, J., PÉREZ, F. y TORRES, M.** *Métodos Físicos de Separación y Purificación de Sustancias Orgánicas*. 2005, *Universidad de las Palmas de Gran Canaria*, vol. 1, no. 2, Disponible en: <https://accedacris.ulpgc.es/bitstream/10553/436/1/494.pdf>
 49. **LUGONES BOTELL, M. y RAMÍREZ BERMÚDEZ, M.** *Daños a la agricultura, el medio ambiente y la salud ocasionados por el caracol gigante africano Damage to agriculture, the environment and health caused by the giant African snail*. *Revista Cubana Hig Epidemiol* 2016, [en línea], vol. 54, no. 2, ISSN 1561-3003. Disponible en: <http://www.revepidemiologia.sld.cu/index.php/hie/index53COMUNICACIÓNBREVEhttp://www.revepidemiologia.sld.cu/index.php/hie/index54>.
 50. **MARIÑOS, C., CASTRO, J. y NONGRADOS, D.** *Efecto biocida del « barbasco » *Lonchocarpus utilis* (Smith , 1930) como regulador de larvas de mosquitos of mosquitos larvae A pesar de los esfuerzos por controlar la aparición de insectos resistentes y el efecto letal Se espera que el uso de productos*. 2004, *Rev. peru. biol.*, vol. 11, no. 1,
 51. **MARTÍNEZ, R. y ORNA, E.** *Distribución geográfica de *Achatina (Lissachatina) fulica* en Venezuela*. 2008, *Revista La Salle*, vol. 169, no. January 2008, Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Enrique_Martinez_Moreno/publication/261641225_Martinez-Escarbassiere_R_E_O_Martinez_y_O_Castillo_2008_Distribucion_geografica_de_Achatina_Lissachatina_fulica_Bowdich_1882_Gastropoda-Stylommatophora-Achatinidae_en_Venezuela_Memoria_de_la_Fundacio/links/0f317534e920a829dc000000.pdf
 52. **MEZGHANI-JARRAYA, R., HAMMAMI, H., AYADI, A. y DAMAK, M.** *Molluscicidal activity of *Hammada scoparia* (Pomel) Iljin leaf extracts and the principal alkaloids isolated from them against *Galba truncatula**. 2009, *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. [en línea], vol. 104, no. 7, ISSN 16788060. DOI 10.1590/S0074-02762009000700017. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/p6hHPwSy5ntg4bQ3N6J8GBD/?format=pdf&lang=en>.
 53. **MINISTERIO DE AGRICULTURA ALIMENTACION Y MEDIO AMBIENTE.**

Catálogo español de especies exóticas invasoras., no. bowdich 1822, 2004, Disponible en: <https://www.miteco.gob.es/es/biodiversidad/temas/conservacion-de-especies/especies-exoticas-invasoras/ce-eei-catalogo.html>

54. **MONCERRATE, T. y VERGARA, P.** *Caracterización e identificación morfológica de los ecotipos de plantas de barbasco (lonchocarpus sp.) existentes en las zonas de ventanas, caluma y echeandía. guaranda-ecuador* 2013, [en línea], Disponible en: <https://www.dspace.ueb.edu.ec/bitstream/123456789/1051/1/082.pdf>.
55. **MORENO, S., MORÁN, E., QUIJIJE, I. y OCHOA, D.** *Mucílago de Theobroma Cacao L. como base para un bioantimicrobiano mezclado con dos ácidos débiles: alternativas ecológicas.* 2021, *Ecuadorian Science Journal*, vol. 5, no. 4, DOI 10.46480/esj.5.4.173.
56. **MOROCOIMA, A., RODRÍGUEZ, V., RIVAS, R., CORIANO, H., RIVERO, S., ERRANTE, R., MITCHELL, M., HERRERA, L. y MORALES, S.** *Achatina fulica Bowdich, 1822 (Mollusca, Gastropoda, Achatinidae) carrier of helminthes, protozoa and bacteria in Northeast Venezuela.* 2014, *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, vol. 54, no. 2, ISSN 16904648.
57. **NASCIMENTO, F., DINIZ, E., DE MESQUITA, L., DE OLIVEIRA, A. y COSTA, T.** *Extractos vegetales en el control de plagas.* 2008, *Revista Verde*, vol. 3, no. 3, Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/7484143.pdf>
58. **NAVARRETE, G.** “*Diagnóstico del comportamiento de mucosa del caracol africano (Achatina fulica) como vector de comunicación intraespecie, recolectados en tres localizaciones del cantón Pastaza (Puyo, Fátima y Tarquí)*”. 2016, *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, vol. 152, no. 3, ISSN 0120386X. Disponible en: <https://repositorio.uea.edu.ec/handle/123456789/406>
59. **OSORIO, L.** Universidad técnica de cotopaxi. *Universidad técnica de cotopaxi*, 2021, vol. 1, Disponible en: <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/8060/1/MUTC-001072.pdf>
60. **PARRA, F.** *Estrategia de divulgación científica sobre el control de una especie invasora: el caracol gigante africano.* *Jurusan Teknik Kimia USU*, 2019, vol. 3, no. 1, ISSN 2655-1322. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/76500>
61. **PATIÑO, A. y GIRALDO, A.** *Intrapopulational Genic Variation of the Giant African Snail (Achatina Fulica) in the Valle Del Cauca.* 2017, *Revista MVZ Cordoba*, vol. 22, no. 2, ISSN 19090544. DOI 10.21897/rmvz.1028. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682017000205925
62. **PATIÑO, A. y GIRALDO, A.** *Valuation of alternative methodology for the control of the giant African Snail (Achatina fulica).* 2018, *Boletín Científico del Centro de Museos* [en línea], vol. 22, no. 2, ISSN 01233068. DOI 10.17151/bccm.2018.22.2.13. Disponible en:

- <http://www.scielo.org.co/pdf/bccm/v22n2/0123-3068-bccm-22-02-00183.pdf>.
63. **PÉREZ, E.** *Plaguicidas botánicos: una alternativa a tener en cuenta*. 2012, *Fitosanidad*, vol. 16, Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/2091/209125190002.pdf>
 64. **PÉREZ, E., GUTIÉRREZ, C., BÁEZ, R. y MONTOYA, E.** *Bioplaguicidas: Una Opción Para El Control Biológico De Plagas*. 2017, *Ra Ximhai* [en línea], vol. 8, no. 3, ISSN 4612517601. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/461/46125177003.pdf>.
 65. **PILATUÑA, L.** *Elaboración de una forma farmacéutica con efecto cicatrizante a partir del extracto del copal planta nativa del centro cultural Uni-shu de la comuna Chiguilpe de Santo Domingo de Los Tsáchilas (Bachelor's thesis)*. 2016, [en línea], Disponible en: <http://dspace.uniandes.edu.ec/handle/123456789/4784>.
 66. **PINARGOTE, L.** *Estudio de la distribución poblacional del caracol africano (Achatina fulica B.) en cultivo de banano en la cooperativa de producción y comercialización La Clementina, cantón Babahoyo parroquia La Unión*. 2017, Disponible en: <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/3131>
 67. **PINEDA, I.** Desarrollo y optimización de aperitivos de cáscaras de mandarina y hojas de higo. 2019, *Google academico*, ISSN 1098-0121. Disponible en: <https://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/9201>
 68. **PIÑERO, J., SIFAOU, I. y LÓPEZ, A.** *Bloque II: Desde el extracto crudo al compuesto puro. Productos Naturales como Antiparasitarios*. 2022, *Entorno Open Course Ware (OCW)*.
 69. **REINANTE, E., TEIBLER, G., ALVAREZ, J. y VIZCAYCHIPI, K.** *Estudio epidemiológico y parasitológico de caracoles gigantes africanos (Lissachatina fulica) en Misiones, Argentina*. 2022, *Revista Veterinaria*, vol. 33, no. 1, ISSN 1668-4834. DOI 10.30972/vet.3315870. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf/revet/v33n1/1669-6840-revet-33-01-3.pdf>
 70. **REINOSO, R.** "Evaluación de la actividad biocida sobre *Achatina fulica* de extractos fermentados de los glicoalcaloides contenidos en *Solanum sessiliflorum*". 2018, [en línea], Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/10551/1/236T0410.pdf>.
 71. **RIVERA, M., GUERRA, C., FIGUEREDO, M., GALVÉZ, R. y ORAMA, A.** *Efecto de plaguicidas de origen botánico sobre el áfido *Carolinaia cyperi* Ainslie*. 2003, *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, vol. 8, no. 3, Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962003000300009
 72. **RODRÍGUEZ, A., MORALES, D. y RAMÍREZ, M.** *Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de hongos fitopatógenos*. 2000, vol. 21, no. 2, Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193215024014.pdf>

73. **RODRÍGUEZ, L., BERROCAL, A., RODRÍGUEZ, R. y MARTÍNEZ, M.** Determinación de la actividad biocida de extractos vegetales para el combate de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Hemíptera: Aleyrodidae). 2020, *Revista Tecnología en Marcha*, vol. 33, ISSN 0379-3982. DOI 10.18845/tm.v33i3.4373. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0379-39822020000300117
74. **RUBIO, C.** *Achatina fulica como especie invasora Monografía*. 2019, [en línea], Disponible en: [http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/17807/MONOGRAFIA RUBIO VILLAGRAN CARLA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/17807/MONOGRAFIA_RUBIO_VILLAGRAN_CARLA.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
75. **RUIZ, M.** *Métodos Físicos de Separación Obtención de Extractos e Hidrodestilación*. 2020, Disponible en: <https://bonga.unisimon.edu.co/items/d24dd53a-06d8-40fa-8316-16ea52dfa268>
76. **SANTOS, A. y MORENO, P.** *Alkaloids Derived From Histidine: Imidazole. Handbook of Natural Products*, 2013, Disponible en: https://link.springer.com/10.1007%2F978-3-642-22144-6_27
77. **SIMBAÑA, M. de los A.** USO DE EXTRACTOS VEGETALES DE PLANTAS AMAZÓNICAS PARA EL DISEÑO DE PROGRAMAS DE MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS (MIP) EN ECUADOR. 2018, Disponible en: https://repositorio.ikiam.edu.ec/jspui/bitstream/RD_IKIAM/622/1/TT-BT-IKIAM-000027.pdf
78. **SUNTA, M.** Efectos en la salud de los trabajadores expuestos a plaguicidas organofosforados en una plantación agrícola. 2021, Disponible en: <https://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/4351/1/Sunta%20Ru%C3%ADz%20Mario%20Leopoldo.pdf>
79. **TELLO, P.** “Evaluación De La Concentración Mínima Inhibitoria De Los Extractos Hidroalcohólicos Obtenidos a Partir De La Hoja, Tallo Y Raíz De *Petiveria Alliacea L.* Sobre *Staphylococcus Aureus*, *Staphylococcus Epidermidis*, *Pseudomonas Aeruginosa Y Candida Albicans*”. *Universidad Central del Ecuador*, 2015, [en línea], Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/5861/1/T-UCE-0008-P008.pdf>.
80. **TORRES, A., MERTINEZ, I. y M. D. de salas.** *Estudio Fitoquímico De Plantas Medicinales Propias Del Estado De Querétaro. Gender & Behaviour*, 17(2), 2019, 13007-13015, vol. 17, no. 101, Disponible en: <https://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2008/10VeranoRegionCentro/34UAZAlonsoTorresIbarraMartinez.pdf>
81. **TORRES, M.** *Síntesis de novedosos derivados de quinonas usando click chemistry. New*

- England Journal of Medicine*, 2018, [en línea], vol. 372, no. 2, ISSN 0028-4793. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7556065><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC394507><http://dx.doi.org/10.1016/j.humphath.2017.05.005><https://doi.org/10.1007/s00401-018-1825-z><http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27157931>.
82. **TORRI, S.** *Dinámica de los plaguicidas en los agroecosistemas. Dinámica De Los Plaguicidas En Los Agroecosistemas*, no. August, 2015, Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/305905415_Dinamica_de_los_plaguicidas_en_los_agroecosistemas.
83. **UGWU, S.O.C., OGBU, C.C. y IKECHIUNO, I.K.** Reproductive characterization of three species of Giant African land snails (GALs) in captivity. 2011, *African Journal of Biotechnology*, vol. 10, no. 50, ISSN 16845315. DOI 10.5897/AJB11.875.
84. **ULIBARRY, P.** Plaguicidas Antecedentes generales. *Biblioteca del Congreso Nacional de Chile/ Asesoría Técnica Parlamentaría*, 2019, Disponible en: https://www.bcn.cl/asesoriasparlamentarias/detalle_documento.html?id=74170
85. **URGILÉS, M.** «Uso de un Piscicida Orgánico en la Preparación de Piscinas Camaroneras. Caso Ecuador». *Dspace.Espol.Edu.Ec*, 2015, [en línea], Disponible en: <https://www.dspace.espol.edu.ec/retrieve/133693/D-CD110066.pdf>.
86. **VALENZUELA, C. y GOMEZ, S.** *Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas*. 2007, vol. 23, no. 4, Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992007000400004
87. **VASQUEZ, A.** *Análisis del efecto de la α -solanina en las características citomorfológicas de células vivas adheridas y su relación con la expresión del gen shroom3*. 2019, [en línea], Disponible en: https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/42354/Tesis_completa_con_firmas_PDF_para_y_Repositorio_PUJ.pdf?sequence=2&isAllowed=y.
88. **VILÁ, M., BACHER, S., HULME, P., KENIS, M., KOBELT, M., NENTWIG, W., SOL, D. y SOLARZ, W.** Impactos ecológicos de las invasiones de plantas y vertebrados terrestres en Europa. 2006, *Ecosistemas*, vol. 15, no. 2, Disponible en: https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/7787/1/ECO_15%282%29_03.pdf
89. **VILLACRES, E., CUADRADO, L. y FALCONÍ, F.** *Los granos Andinos Chocho, Quinoa, Amaranto y Sangorache fuentes de metabolitos secundarios y fibra dietética*. 2019, [en línea], Disponible en: <http://181.112.143.123/bitstream/41000/2827/1/iniapsc322est.pdf>.

90. **VILLAVICENCIO, M., PÉREZ, B. y GORDILLO, A.** Plantas tradicionalmente usadas como plaguicidas en el estado de Hidalgo, México. *Polibotánica*, 2010, Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-27682010000200012&script=sci_abstract
91. **VIÑA, S.** *Compuestos Fenolicos.* 2013, [en línea], Disponible en: <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/155459>.
92. **VIRGILLITO, M., ORELLANA, J., GIMÉNEZ, J., VELLER, M. y MÉNDEZ, P.** *Situación actual del caracol gigante africano (Achatina fulica) en la Argentina.* 2015, *Sitio Argentino de Producción Animal*, vol. abril-juni, no. 8, Disponible en: https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_caracoles/47-caracol_africano.pdf
93. **VITERI, C., SANCHEZ, S. y ABRIL, M.** *Percepción de riesgo con respecto al uso de productos químicos para el control de plagas, en zonas agrícolas.* 2013, Disponible en: <https://revistas.uta.edu.ec/erevista/index.php/dide/article/view/18>
94. **WEININGER-COHÉN, D., SUAREZ-CEDRARO, D., YÁNEZ-GONZÁLEZ, R., SUÁREZ-ACEVEDO, J.A., ABAD.MILLÁN, H., SUÁREZ-SANCHO, J.A. y VIERA-RAMÍREZ, E.R.** *Achatina fulica (Bowdich, 1822) un posible problema de salud pública en Venezuela. VITAE Academia Biomédica Digital.*
95. **XÓCHITL, R., GARCIA, I., HERNÁNDEZ, J., MORALES, J. y CARLO, J.** *Potenciales Aplicaciones Terapéuticas.* 2022, [en línea], Disponible en: https://www.redalyc.org/journal/4263/426374726001/html/#redalyc_426374726001_ref8.
96. **YUGCHA, L.** “*Evaluación del barbasco (lonchocarpus nicou) al 10%, 15% y 20% como antipulgas en perros domésticos en la clínica veterinaria animal vet’s en la ciudad del puyo*”. 2015, Disponible en: <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/3303>



ANEXOS

ANEXO A: RAICES FRESCAS DE *Lonchocarpus nicou*



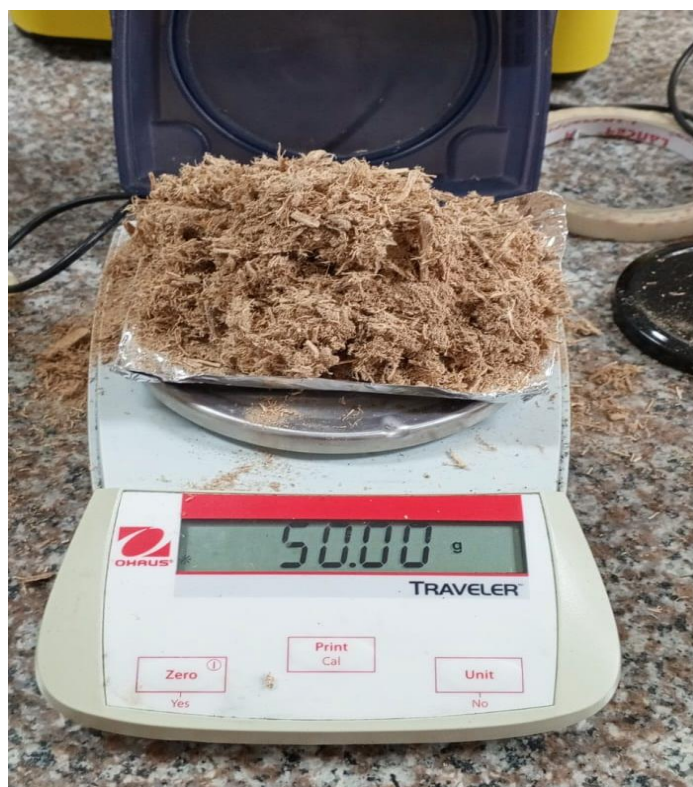
ANEXO B: RAICES SECAS DE *Lonchocarpus nicou*



ANEXO C: MATERIA VEGETAL DE *Lonchocarpus nicou* TRITURADA



ANEXO D: PESO DE MATERIA UTILIZADA POR FRASCO



ANEXO E: PROCESO DE MACERACIÓN CON ÉTER ÉTILICO



ANEXO F: FILTRACIÓN DE EXTRACTO ETÉREO



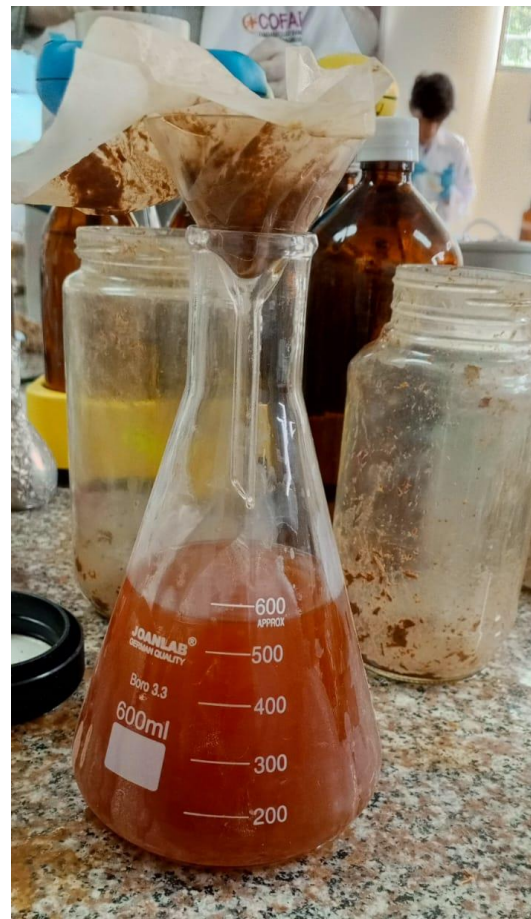
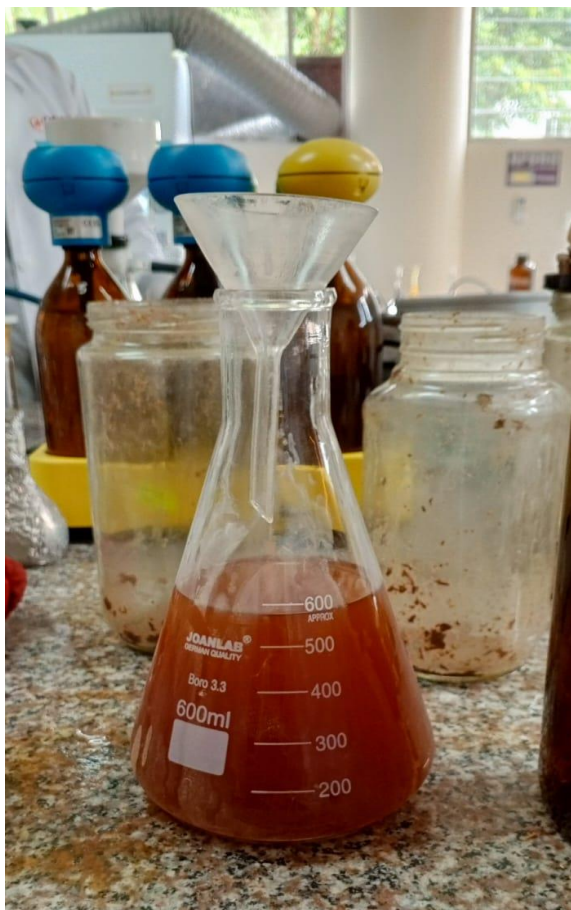
ANEXO G: SECADO DE MATERIA DEL EXTRACTO ETÉREO



ANEXO H: MACERADO DE BARBASCO EN ETANOL 99,8%



ANEXO I: EXTRACTO ALCOHOLICO DE *Lonchocarpus nicou*



ANEXO J: SECADO DE MATERIA VEGETAL DEL EXTRACTO ALCOHOLICO



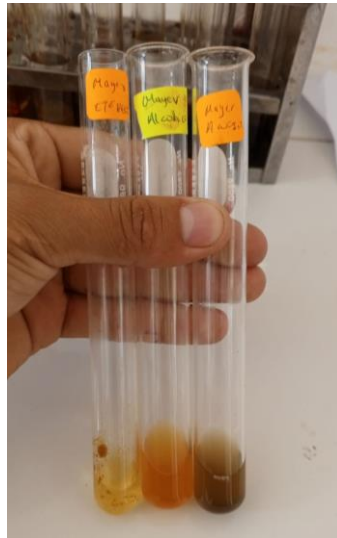
ANEXO K: MACERACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS



ANEXO L: EXTRACTO ACUOSO DE *Lonchocarpus nicou*



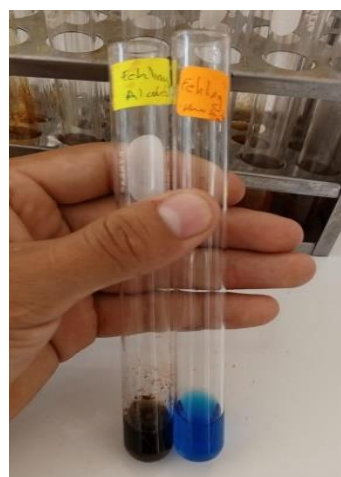
ANEXO M: ENSAYO DRAGENDORFF, MAYER Y WAGNER



ANEXO N: ENSAYO BALJET Y LIEBERMAN BURCHARD



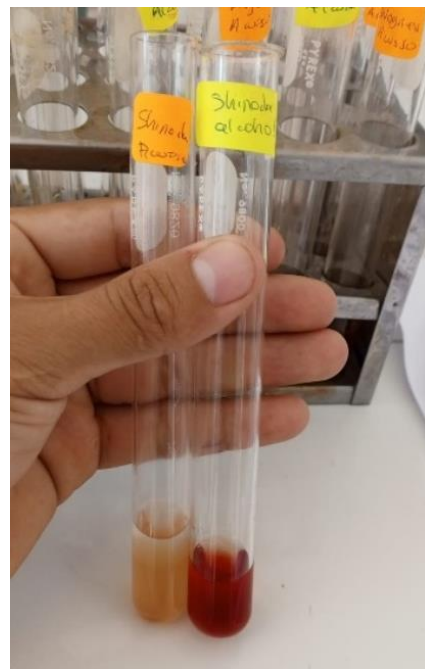
ANEXO O: ENSAYO DE RESINAS Y FEHLING



ANEXO P: ENSAYO DE CLORURO FÉRRICO Y NINHIDRINA



ANEXO Q: ENSAYO BORNTRANGER, SHINODA Y ANTOCIANIDINA



ANEXO R: ENSAYO KEDDE Y SAPONINAS





ANEXO S: MORTALIDAD DE *Achatina fulica*





ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE LA GUÍA PARA
NORMALIZACIÓN DE TRABAJOS DE FIN DE GRADO

Fecha de entrega: 04/07/2024

INFORMACIÓN DEL AUTOR
Nombres – Apellidos: Jose Luis Quituzaca Tigre
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias
Carrera: Ingeniería Ambiental
Título a optar: Ingeniero Ambiental
  Carla Viviana Haro Velastegui Director del Trabajo de Titulación  Carlos Santiago Curay Yaulema Asesor del Trabajo de Titulación