

ISSN: 1390-8413

Volumen 9 | Número 1 | Junio 2015

Revista Científica

# Ciencias Naturales y Ambientales



UNIVERSIDAD  
DE GUAYAQUIL



Facultad  
de Ciencias Naturales

## ÁREA CIENCIAS DE LA VIDA

Facultad de Ciencias Naturales  
Universidad de Guayaquil

### Editora

Dra. Carmita Bonifaz de Elao, MSc. (Decana, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Av. Raúl Gómez Lince s/n y Av. Juan Tanca Marengo, carmenbonifaz@hotmail.com)

### Consejo Editorial

Galo Salcedo Maridueña, Ph.D. (Universidad de Guayaquil, Ecuador)

Beatriz Pernía, Ph.D. (Universidad de Guayaquil, Ecuador)

Richard Banda Gavilanes, Ph.D. (Universidad de Guayaquil, Ecuador)

Ariel Escobar Troya, MSc. (Universidad de Guayaquil, Ecuador)

### Comité Científico

Claes Persson, Ph.D. (Departamento de Biología y el Medio Ambiente, University of Gothenburg, Suecia)

Bertil Ståhl, Ph.D. (Departamento de Biología, Gotland University, Suecia)

Adolfo Borges, Ph.D. (Universidad Central de Venezuela, Venezuela)

Elba Mora, MSc. (Instituto Nacional de Pesca, Ecuador)

Manuel Cruz, MSc. (Instituto Oceanográfico de la Armada, Ecuador)

Luis Muñoz Vidarte, MSc. (Universidad Laica "Eloy Alfaro" de Manabí, Ecuador)

### Coordinación Editorial

Ing. José Antepará Basurto

Blgo. Xavier Cornejo Sotomayor

### Impresión y acabados

Imprenta de la Universidad de Guayaquil

---

Edición patrocinada y financiada por la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil. Esta publicación se envía a personas o instituciones por intercambio con otros similares, dedicada a la Ciencias Naturales.

This publication is sent to people or institutions for exchange with other similar issues dedicated to Natural Sciences.

**Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales** es de periodicidad semestral y se distribuye por canje con otras publicaciones dedicadas a temas afines. Toda correspondencia que tenga relación con la Revista deberá ser dirigida a la editora, Carmita Bonifaz de Elao, a la dirección que se indica más adelante.

Ilustración de portada: Hembra adulta de *Apanteles gelechiidivoris*, muestreo en Azapa, Arica, Chile. Fotografía: Jaime E. Araya, ver pág.14-20.

Incluida en el Directorio de LATINDEX  
con el número de Folio 16446,  
Vol. 9(1), Se terminó de editar en junio de 2015.

Canje, suscripciones y avisos, dirigirse a:  
Exchange, subscriptions and publicity, go to:  
**Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales**  
Código Postal 090612  
Avenida Raúl Gómez Lince s/n y Avenida Juan Tanca Marengo  
<https://issuu.com/fcienciasnaturalesug>  
<https://www.revistacienciasnaturales.com>  
[revistacienciasnaturales@ug.edu.ec](mailto:revistacienciasnaturales@ug.edu.ec)  
Telf.: (04) 3080777 - 3080758 ext. 200  
Guayaquil, Ecuador



## Detección del parásito *Cryptosporidium* sp. en caracoles *Lissachatina fulica* de las provincias del Guayas y Los Ríos, Ecuador

### Detection of the parasite *Cryptosporidium* sp. in *Lissachatina fulica* snails at the provinces of Guayas and Los Ríos, Ecuador

Biutty Cazorla Caicedo<sup>1,\*</sup>, Luigi Martini Robles<sup>2</sup>, Marco Erazo Chiguanó<sup>1</sup>, Félix Man-Ging Freire<sup>1</sup> & Luis Solórzano Álava<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Naturales, Escuela de Biología.  
Av. Raúl Gómez Lince s/n Av. Juan Tanca Marengo

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública, Sub-Proceso de Parasitología (INSPi).  
Av. Julián Coronel 905 entre Esmeraldas y José Mascote.

Recibido 6 de mayo 2015; recibido en forma revisada 16 de mayo 2015, aceptado 8 de junio 2015  
Disponible en línea 30 de junio 2015

#### Resumen

Se detectó la presencia del parásito *Cryptosporidium* sp. en las heces de caracoles terrestres del *Lissachatina fulica* utilizando técnicas de tinción, en las provincias Guayas y Los Ríos, en la costa de Ecuador. El número de muestras fue establecido de manera aleatoria, realizándose la recolección en días alternados durante la estación lluviosa. Se colectaron 411 ejemplares vivos en recipientes con el fin de obtener su material fecal. Posteriormente, la detección e identificación del parásito se realizó a través de un análisis coprológico parasitario y las muestras fueron teñidas con las técnicas Ziehl Neelsen modificada, Safranina-Azul de metileno y Giemsa.

De la totalidad de caracoles gigantes africanos terrestres recolectados en las provincias Guayas y Los Ríos, el 48,2% de las muestras resultaron positivas para *Cryptosporidium* sp. con la técnica de Ziehl Neelsen modificada, el 17,8% con Giemsa y el 14,1% con Safranina-Azul de metileno.

Con respecto a la evaluación de las técnicas de tinción, los resultados fueron analizados estadísticamente mediante el método de ANOVA. Entre los resultados obtenidos, existe una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre la técnica de Ziehl Neelsen modificada en relación con las otras dos empleadas, demostrando un mejor desempeño en la detección de ooquistes de *Cryptosporidium* sp., mientras que no se encontraron diferencias significativas entre las técnicas de Giemsa y Safranina-Azul de metileno.

**Palabras clave:** Caracol terrestre, *Cryptosporidium*, *Lissachatina fulica*, técnicas de tinción.

#### Summary

The presence of the parasite *Cryptosporidium* sp. was detected in snail feces of *Lissachatina fulica* through staining techniques, in the provinces Guayas and Los Ríos, in coastal Ecuador. The number of samples was determined by a random collection method conducted on alternate days during the rainy season. About 411 live specimens were placed in containers to obtain the fecal material. Subsequently, the detection and identification were performed through a parasitic stool analysis; Ziehl Neelsen modified Safranin-methylene blue and Giemsa techniques were applied.

Of all Giant African land snails collected in the provinces Guayas and Los Ríos, 48.2% of samples tested positive for *Cryptosporidium* sp. using the modified Ziehl Neelsen, 17.8% for Giemsa and 14.1% for Safranin-methylene blue techniques.

With regards to the evaluation of staining techniques the results were statistically analyzed using ANOVA, there is a significant difference ( $p < 0.05$ ) between Ziehl Neelsen modified technique in comparison to the remaining ones, showing a better detect performance for oocysts of *Cryptosporidium* sp. However, significant differences between Giemsa and Safranin-methylene blue techniques were not found.

**Key words:** *Cryptosporidium*, *Lissachatina fulica*, staining techniques, terrestrial gastropod.

\* Correspondencia del autor:  
E-mail: byca\_911@yahoo.com



## Introducción

La presencia del caracol gigante africano (*Lissachatina fulica*) ha sido detectada en varias provincias de la costa ecuatoriana, reportándose por primera vez desde Esmeraldas, en el año 2005. Esta especie introducida para fines comerciales ha provocado diversos impactos negativos en los sectores agrícola, ecológico y en la salud pública (Correoso, 2006).

Al momento de su aparición el tema no generó mayor interés para las autoridades pertinentes; sin embargo, debido a su tipo alimentación polífaga y a sus desplazamientos masivos hacia las zonas rurales y urbanas como en jardines y parques, este caracol terrestre se ha convertido en una plaga competitiva para nuestros ecosistemas, principalmente durante la época lluviosa. Guayas y Los Ríos son las provincias de mayor interés por el impacto ocasionado en la salud humana, debido a que *Lissachatina fulica* es el hospedador de diferentes grupos zoológicos patógenos, entre ellos, el nemátodo *Angiostrongylus cantonensis*, causante de la meningoencefalitis eosinofílica, una enfermedad previamente registrada en las mencionadas provincias y cantones. Esta es producida por la ingestión de caracoles crudos, su aparición fue reportada en Guayaquil en el 2008 y estudiada por el Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI) (Martini *et al.*, 2009).

*Lissachatina fulica* está vinculada con la cadena epidemiológica de transmisión de la Criptosporidiosis (diarreas acuosas) (Schiffler *et al.*, 2008); esta se produce por el contacto directo en ambientes contaminados con la presencia de *Cryptosporidium* sp. Este protozoario es un agente patógeno que se desarrolla y multiplica en las células epiteliales de los sistemas digestivos y respiratorios de los vertebrados y en órganos anexos de invertebrados (Arias *et al.*, 2008; Cabrera *et al.*, 2010).

El propósito de este trabajo es determinar la presencia del protozoario *Cryptosporidium* sp. en los caracoles terrestres de *Lissachatina fulica* en las provincias del Guayas y Los Ríos, utilizando las técnicas de tinción Ziehl Neelsen modificada, Safranina-Azul de metileno y Giemsa.

## Materiales y métodos

Para la obtención y estimación del tamaño de muestra se realizó un muestreo aleatorio por el lapso de 30 minutos, durante la época lluviosa entre los años 2012 y 2013. Cada localidad elegida como punto de muestreo fue seleccionada mediante un recorrido por la zona, verificando la presencia de *L. fulica*.

Los caracoles fueron recolectados de forma manual, transportados al laboratorio de Parasitología del INSPI y distribuidos en recipientes plásticos *ad hoc* procurando que tengan sus respectivas aberturas de aireación. Posteriormente se colectó el material fecal

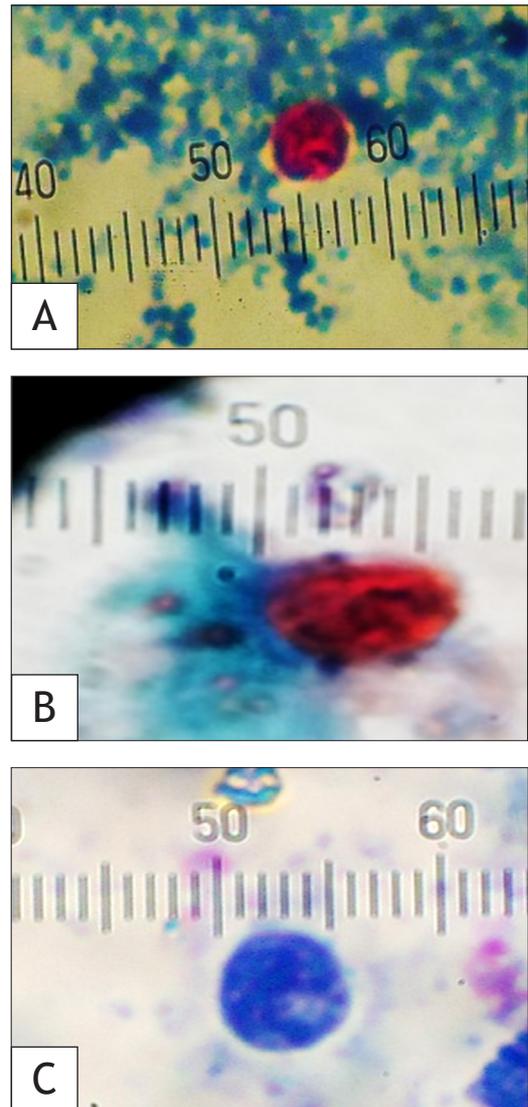


Figura 1. Ooquistes de *Cryptosporidium* sp. teñidos con diferentes técnicas: a) Ziehl Neelsen modificada, b) Safranina-Azul de metileno y c) Giemsa.

empleando el protocolo establecido en el laboratorio para la detección de agentes patógenos.

El material fecal se colocó en los tubos de ensayo, diluyéndose a una concentración de 1:1 con solución salina al 8.5% se homogenizó y centrifugó a 2500 rpm hasta obtener el precipitado final libre de impurezas. Posteriormente se realizó un frotis de este precipitado sobre las placas portaobjetos desengrasados para finalmente aplicar las técnicas de coloración Ziehl Neelsen modificada, Safranina-Azul de metileno y Giemsa para la detección de los ooquistes de *Cryptosporidium* sp. Al momento de determinar su presencia, estos fueron medidos empleando el micrómetro ocular.

Tabla 1. Coordenadas geográficas de las localidades muestreadas para la recolección del caracol *Lissachatina fulica* de la provincia del Guayas y Los Ríos, en la costa de Ecuador.

PROVINCIA DEL GUAYAS			PROVINCIA DE LOS RÍOS		
Cantón	Localidad	Coordenadas	Cantón	Localidad	Coordenadas
GUAYAQUIL	Mucho Lote	2°09'03" 79°92'34"	BABAHOYO	Barrio Lindo	1°48'24" 79°32'21"
	Miraflores	2°09'51" 79°55'02"		Pueblo Nuevo	1°32'38" 79°31'46"
DURAN	El Recreo	2°10'53" 79°48'54"	VENTANAS	Zapotal	1°21'34" 79°24'56"
	Primavera 3	2°11'16" 79°51'21"		Las Palmeras	1°26'22" 79°27'30"
MILAGRO	Chobo	2°15'00" 79°63'53"	QUEVEDO	Km 1 Vía A Valencia	1°01'11" 79°27'18"
	Parque Central	2°07'43" 79°35'37"		La Venus	1°2'31" 79°28'30"

### Área de Estudio

La presente investigación ha sido llevada a cabo en dos provincias de la costa: Guayas, en los cantones Guayaquil, Durán y Milagro; y Los Ríos, en los cantones Babahoyo, Quevedo y Ventanas. En las diferentes localidades visitadas de los mencionados cantones y provincias, tanto urbanas como rurales, era evidente la presencia de los caracoles gigantes africanos, *Lissachatina fulica* (tabla 1).

### Análisis Estadístico

Los datos fueron analizados a través de una estadística descriptiva, creándose una base de datos detallada en el programa de Excel 2007, donde se elaboraron gráficos representativos de los cantones muestreados de cada provincia. Se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía, empleando la prueba de Tukey al 5% para comparar las medias de las técnicas empleadas, con la ayuda del programa estadístico QED Statistics 2007.

### Resultados

El presente estudio determina la presencia de *Cryptosporidium* sp. en las heces de los caracoles *Lissachatina fulica*, en los cantones Guayaquil, Durán y Milagro de la provincia del Guayas y en los cantones Babahoyo, Quevedo y Ventanas, de la provincia Los

Tabla 2. Aplicación de tres técnicas en caracoles *Lissachatina fulica* para la detección de *Cryptosporidium* sp. en los cantones Guayaquil, Durán y Milagro de la provincia Guayas y en los cantones Babahoyo, Quevedo y Ventanas, de la provincia Los Ríos, en la costa de Ecuador.

One-way Analysis of Variance					
Source	DF	SS	MS	F	P
Between	2	1969,44	984.72	13.02	0.00049162
Within	15	1118.17	74.54		
Total	17	3087.61	18.27		

selected significance level < 0.05				
Group	N	Mean	Variance	StdD
Ziehl Neelsen	6	33	128	11.31
Safranina	6	9.66	24.66	4.96
Giemsa	6	12.16	70.96	8.42

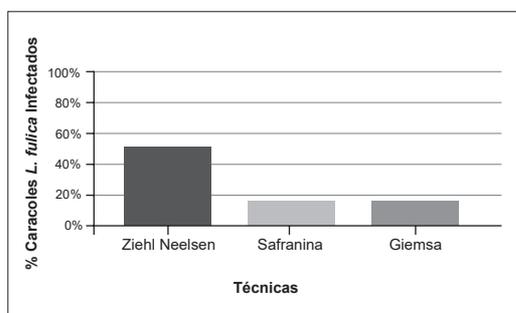


Figura 2. Porcentaje global de caracoles *Lissachatina fulica* infectados por el parásito *Cryptosporidium* sp. según tres técnicas empleadas en dos provincias de Ecuador.

Ríos, ambas en la costa de Ecuador. Se obtuvo un alto porcentaje de positividad, 48.2% con la técnica Ziehl Neelsen modificada; seguida de la técnica de Giemsa con un 17.8% y 14.1% con la técnica de Safranina-Azul de metileno (fig. 1).

Referente al análisis estadístico de las técnicas de tinción empleadas con ANOVA y con la prueba de Tukey se determinó que hay una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre las tres técnicas aplicadas para la identificación del *Cryptosporidium* sp. en los caracoles *L. fulica*, en los cantones Guayaquil, Durán y Milagro de la provincia Guayas y en los cantones Babahoyo, Quevedo y Ventanas, de la provincia Los Ríos. La técnica Ziehl Neelsen modificada es significativamente diferente a la técnica Giemsa y Safranina-Azul de metileno; no se encontraron diferencias significativas entre estas dos últimas técnicas (tabla 2).

### Conclusiones

Basado en las técnicas de tinción Ziehl Neelsen modificada, Safranina-Azul de metileno y Giemsa, se reporta por primera vez la presencia del parásito *Cryptosporidium* sp. en las heces del caracol gigante africano, *Lissachatina fulica*, en los cantones Guayaquil, Durán y Milagro de la provincia del Guayas y en los cantones Babahoyo, Quevedo y Ventanas, de la provincia Los Ríos, en la costa de Ecuador. La presencia de este coccidio, demuestra que el caracol gigante africano tiene la capacidad de albergar el

parásito y de actuar como vehículo de transmisión de éste y otros microorganismos del medio donde habita, de allí que puede ser considerado como bioindicador de contaminación con interés clínico para el hombre, tal como lo manifiesta Neira *et al.* (2010).

De acuerdo con los resultados obtenidos, existe una diferencia significativa entre los tres métodos de tinción empleados en la detección de oquistes, determinándose una mayor detección de *Cryptosporidium* sp. en *Lissachatina fulica* con la técnica Ziehl Neelsen modificado (ZNm), éstos resultados son comparables al estudio descrito por Schiffler *et al.* (2008). Sin embargo, no se descartaría en su totalidad los restantes dos métodos de tinción (Safranina-Azul de metileno y Giemsa), los cuales también demostraron tener cierta capacidad para detectar la presencia del parásito.

Con relación a la técnica de tinción de Safranina no se han encontrado registros publicados para *Cryptosporidium* sp. en caracoles, pero ha sido documentada para oquistes de *Cryptosporidium baileyi* en pollos de engorde, *Gallus gallus domesticus* (Cardozo *et al.*, 2008).

En cuanto a la técnica de Giemsa, no se encontró información relacionada con *Lissachatina fulica*; sin embargo, esta se ha empleado para la detección de oquistes de *Cryptosporidium* sp. en heces de animales y humanos (Morales & Herrera, 1986; El-Rahim, *et al.*, 1997). Esta técnica es poco utilizada debido a la dificultad de observación de la estructura interna del parásito debido a que no existe contratinción (Cardozo *et al.*, 2008).

Cabe mencionar que las tinciones en laboratorios de microbiología son las primeras herramientas a utilizar, entre ellas, Ziehl Neelsen es una tinción diferencial que ha permitido identificar un mayor porcentaje debido a la propiedad de ser ácido-alcohol resistente al momento de la observación en el microscopio óptico, debido a que permite poner de manifiesto aquellas estructuras del organismo al momento de proyectar el haz de luz (Negrori, 2009; López *et al.*, 2014).

En cuanto a los factores ambientales observados, estos no mostraron tener influencia en el porcentaje de caracoles parasitados dentro de la investigación, debido a que los valores se mantuvieron constantes en los meses de Enero a Marzo, durante la estación lluviosa.

Un elemento poco considerado que puede incrementar el riesgo de contaminación en Ecuador se relaciona con la confusión que existe entre los caracoles terrestres *Lissachatina fulica* y *Helix aspersa*; esta última es una especie muy apreciada en la gastronomía en ciertos sectores del país debido a su gran valor nutricional. Sin embargo, los caracoles de *Helix aspersa* son recolectados en estado silvestre o provienen de criaderos y son consumidos sin una adecuada cocción,

existiendo la posibilidad de que también se encuentren infectados, pudiendo el parásito ser transmitido de esta manera a los consumidores.

## Recomendaciones

Se sugiere realizar mayores estudios en la detección de *Cryptosporidium* sp. empleando métodos moleculares.

Promover estudios de detección de *Cryptosporidium* sp. no solo en animales invertebrados sino también en vertebrados a nivel nacional.

Realizar estudios para la detección de *Cryptosporidium* sp. en caracoles *Helix aspersa*.

## Referencias

- Arias, G., Marina, M., Cornejo, L., Bermúdez, V. & Ramírez, O. (2008). Estudio de infección sistémica por Herpes virus complicada con *Cryptosporidium* spp., en un delfín manchado del atlántico (*Stenella frontalis* Cuvier, 1829). Venezuela. *Rev. Cient.* (Maracaibo) 18(3): 243-252.
- Cabrera, L., Díaz, Parra, K. & Ojeda, G. (2010). Detección de parásitos protozoarios y helmintos en el molusco bivalvo *Geukensia demissa* (Dillwyn, 1817) presente en el sector de Nararét del Municipio Mara, Estado Zulia, Venezuela. *Rev. Cient.* (Maracaibo) 20(1): 07-16.
- Cardozo, S., Teixeira, W. & Lopes, C. (2008). Avaliação das técnicas de rotina no diagnóstico de oocistos. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 17(Supl 1): 351-353.
- Correoso, M. (2006). Estrategias preliminar para evaluar y erradicar *Achatina fulica* (Gastropoda: Achatinidae) en Ecuador. Boletín Técnico IASA, Serie Zoológica 2: 45-52.
- El-Rahim, Borghese, A., Failla, S., & Barile, V. L. (1997). Bovine cryptosporidiosis in newborn buffalo calves. In Proceedings 5th World Buffalo Congress, Royal Palace, Caserta, Italy, 13-16 October. Pg. 582-587.
- Martini, L., Muzzio, J., & Solórzano, L. (2009). Morfología y Ciclo Evolutivo del *Angiostrongylus cantonensis* en *Achatina fulica*. Concurso Científico, Anual Interno INHMT-LIP Ecuador. Disponible en: [www.inh.gov.ec](http://www.inh.gov.ec). Consultado en Marzo del 2012.
- Morales, M. & Herrera, M. (1986). Experiencia con la tinción rápida para el diagnóstico de la diarrea por *Campylobacter* sp. y *Cryptosporidium* sp. *Rev. Cost. Cienc. Med.* 7(3): 297-298.
- Negroni, M. (2009). *Microbiología Estomatológica. Fundamentos y guía práctica*. 2ª Edición. Editorial Médica Panamericana S.A. Buenos Aires - Argentina. Disponible en: [http://books.google.com.ec/books/about/Microbiolog%C3%ADa\\_Estomatol%C3%B3gica.html?id=Gxmui-vjZBgC&redir\\_esc=y](http://books.google.com.ec/books/about/Microbiolog%C3%ADa_Estomatol%C3%B3gica.html?id=Gxmui-vjZBgC&redir_esc=y)
- Neira, P., Muñoz, N., Stanley, B., Gosh, M. & Rosales, M. (2010). *Cryptosporidium parvum* en gasterópodos silvestres como bioindicadores de contaminación fecal ecosistema terrestres. Universidad de Valparaíso. Santiago - Chile. *Rev. Chil. infect.* 27(3): 211-218.
- López, L., Hernández, M., Colín, C., Ortega, S. Cerón, G. & Franco, R. (2014). Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. *Investigación en Discapacidad* 3(1): 10-18
- Schiffler, C., Gomes, F., Ederli, N. & Oliveira, F. (2008). *Achatina fulica* Bowdich (1822) um novo hospedeiro de especies de *Cryptosporidium* (Apicomplexa, Cryptosporidiidae). Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 17 (1): 273-276.

## Prevalencia del nemátodo *Angiostrongylus cantonensis* en el Caracol Gigante Africano (*Achatina fulica*), en el período 2012 y 2013 en varios sectores de la ciudad de Guayaquil, Ecuador

Prevalence of the nematode *Angiostrongylus cantonensis* in the Giant African Snail (*Achatina fulica*), during 2012 and 2013 period in several areas of Guayaquil, Ecuador.

Francisco Sánchez-Amador<sup>1,\*</sup> & Félix Man-Ging<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Analista técnico del Centro de Referencia Nacional de Parasitología del Instituto Nacional Salud Pública e Investigación (INSPI), Av. Julián Coronel 905, Guayaquil, Ecuador. Cell.: +5930984488256.

<sup>2</sup>Docente de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Av. Raúl Gómez Lince s/n y Av. Juan Tanca Marengo, Guayaquil, Ecuador. E-mail: mangingf@yahoo.com

Recibido 8 de mayo 2015; recibido en forma revisada 10 de mayo 2015, aceptado 8 de junio 2015  
Disponible en línea 30 de junio 2015

### Resumen

Durante los años 2012 y 2013 se analizaron 806 caracoles en la ciudad de Guayaquil. Estas muestras fueron estudiadas en función de su prevalencia para *A. cantonensis*, en los diferentes 27 sectores (norte, centro y sur) de la urbe. En el año 2012 se recolectaron y se diseccionaron 600 caracoles (*Achatina fulica*), de los cuales 48, equivalente al 8%, resultaron positivos para *Angiostrongylus cantonensis*, en 7 sitios. En el año 2013 se examinaron 206 caracoles (*A. fulica*), de los cuales 8, equivalente al 4%, resultaron positivos para *A. cantonensis*, en 2 sitios. El año 2012 se obtuvieron 555 caracoles con mayores resultados en los meses de lluvia (enero a mayo) que en los meses secos (junio a diciembre), pero en el 2013 se obtuvo una menor cantidad de caracoles con 206 organismos a lo largo del año (enero a octubre). En marzo de ambos años, en los sectores norte: Cdma. Miraflores y Cdma. Kennedy, resultaron positivos para *A. cantonensis* de manera coincidente. Este estudio demuestra la relación dependencia-existencia del parásito *A. cantonensis* con *A. fulica*, cuyas poblaciones a su vez son influenciadas por los meses lluviosos (enero-marzo), en los sectores cercanos al Estero Salado.

**Palabras Claves:** *Achatina fulica*, *Angiostrongylus cantonensis*, nemátodo, prevalencia.

### Abstract

Eight hundred and six snails have been analyzed during 2012 and 2013 in the city of Guayaquil. In terms of their prevalence for *A. cantonensis*, these studied samples were collected in 27 different localities (north, center and south) of the city. In 2012, 600 snails (*Achatina fulica*) from 7 different areas of Guayaquil were collected and dissected, 48 of which, corresponding to 8%, were positive for *Angiostrongylus cantonensis*. In 2013, 206 snails (*A. fulica*), were examined in 2 different places of Guayaquil, 8 of which, equivalent to 4%, were positive for *A. cantonensis*. During 2012, the results were higher at the rainy season (January to May) than in the dry season (June to December), but on 2013 fewer snails were obtained throughout the year (January to October). On March of 2012 and 2013, the northern localities: Cdma. Miraflores and Cdma. Kennedy, were positive for *A. cantonensis* coincidentally. This study demonstrated the dependence-existence relationship between the parasite *A. cantonensis* and *A. fulica*, in areas near the Estero Salado their populations are influenced by the rainy season (January-March).

**Keywords:** *Achatina fulica*, *Angiostrongylus cantonensis*, nematode, prevalence.

\* Correspondencia del autor:  
E-mail: fisanchez@inspi.gob.ec



## Introducción

En la costa del Ecuador suelen presentarse enfermedades tropicales causadas por diversos nemátodos, éstas pueden llegar a ser mortales para la biota animal y humana. Trabajos de investigación desde el punto de vista parasitario en el Ecuador, describen el primer foco de transmisión natural de *Angiostrongylus cantonensis* en el caracol Gigante Africano, *Achatina fulica*, como huésped intermediario (Martini, 2011). *Achatina fulica*, un molusco que habita en zonas urbanas y rurales, es uno de los principales transmisores de meningoencefalitis eosinofílica y angiostrongilosis ocular, debido a su contacto con alimentos y/o a la ingesta del caracol crudo (Martini, 2011; Martini et al., 2009).

El *Angiostrongylus cantonensis* constituye un serio problema de salud pública y está ampliamente distribuido en el Ecuador. Cuando este nemátodo infecta a los caracoles, se aloja perfectamente en la membrana o manto que recubre la cavidad paleal y la enfermedad es asintomática. En las personas y mamíferos superiores, se suele ingerir al caracol o manipularlo y contagiarse indirectamente.

El *Angiostrongylus cantonensis*, descrito por primera vez por H.T. Chen en 1935 como *Pulmonema cantonensis*, fue el primer gusano encontrado fuera de los pulmones de *Rattus rattus* y *Rattus norvegicus* en Cantón, China (Chen, 1935; Kliks & Palumbo, 1992). En 1946, fue transferido al género *Angiostrongylus* por Dougherty. En 1937, S. Yokogama publicó *Haemostrongylus ratti* como una nueva especie, éste fue un gusano obtenido de una rata en Taiwán, posteriormente se demostró que éste era un sinónimo de *Angiostrongylus cantonensis*. Diez años después, Nomura y Lin describieron por primera vez en Taiwán la infección causada por *Angiostrongylus cantonensis*, en un menor de 15 años (Martini, Muzzio y Solórzano, 2009 y Martini, 2011). Esta infección se ha presentado principalmente en el Sudeste Asiático y en la cuenca del Pacífico, Tailandia, Vietnam, Australia, Nueva Caledonia, Madagascar, Hawái, Tahití, Japón y Egipto (Beaver, Jung y Cuup, 1984; Kwon et al., 2013).

En la década de los años 80, en Cuba se realizaron diversos estudios que demostraron la amplia distribución del parásito *A. cantonensis* en moluscos endémicos y roedores en diferentes zonas geográficas del país. En la provincia de Camagüey, más del 60 % de los moluscos colectados vivos, pertenecientes a 4 especies, estaban infectados de forma natural con larvas de *Angiostrongylus cantonensis* (Molinal et al., 2008).

Otras identificaciones se hicieron en Puerto Rico (Andersen et al., 1986), New Orleans, Washington (Cheng et al., 1965) y Jamaica (2002). La enfermedad o la evidencia del parásito que la produce fue reportada en República Dominicana en 1992, y en Haití en el 2003, aunque en este último país se sospechaban de casos desde 1997 (Vargas et al., 1992; Raccurt et

al., 2003; Martini, Muzzio y Solórzano, 2009; Martini, 2011, 2012).

En Brasil, los moluscos terrestres con infección natural por *A. cantonensis* se han observado en las regiones sureste y noreste, donde los casos humanos de meningoencefalitis eosinofílica también han sido registrados y el caracol gigante africano, *Achatina fulica*, ha sido identificado como el principal vector del parásito (Caldeira et al., 2007; Lima et al., 2007; Maldonado et al., 2010; Thiengo et al., 2010; Moreira et al., 2012).

En Ecuador, el primer reporte del *Achatina fulica* se dio a través de la prensa escrita en el año 2005, en Atacames, provincia de Esmeraldas (Correoso, 2005). En el 2008, se reportaron diferentes brotes provenientes de los recintos La Ercilia y Sabanetilla, en el cantón Ventanas, en la provincia de Los Ríos y se demostró la presencia del ciclo natural de la enfermedad en los caracoles *Achatina fulica* (Martini, 2011). El mayor índice de positividad de *A. fulica* como huésped intermediario del *Angiostrongylus cantonensis* ha sido reportado en el recinto Los Laureles, en la provincia de Santo Domingo de Los Tsáchilas (Muzzio, 2011).

La presencia y abundancia excesiva del huésped intermediario, *A. fulica*, introducido en el Ecuador, ha puesto en riesgo la salud de los pobladores y animales, propensos a infectarse indirectamente con el parásito *A. cantonensis*.

*A. fulica* es una especie que fue introducida intencionalmente en el Ecuador y que también actúa como especie depredadora de otros caracoles, alterando los ecosistemas y biodiversidad nativa.

En este estudio se presenta la biología, fisiología, relación con el clima y distribución geográfica de *A. cantonensis* en la ciudad de Guayaquil. También se han evaluado los hábitats preferenciales, los daños físicos en los barrios residenciales y su devastador efecto en la vegetación fructífera.

La presente investigación es una contribución para el desarrollo de programas de prevención, control de población, desplazamiento de especies nativas y control de la meningoencefalitis eosinofílica y angiostrongilosis ocular.

### Hipótesis

Las estaciones climáticas influyen la prevalencia de la parasitosis por *Angiostrongylus cantonensis*, en los sectores urbanos de Guayaquil.

La presencia de *Angiostrongylus cantonensis* depende de la existencia del huésped intermediario, el caracol Gigante Africano, *Achatina fulica*, en la ciudad de Guayaquil.

### Objetivo General

Registrar la prevalencia de *Angiostrongylus*

*cantonensis* en las diferentes sectores de la ciudad de Guayaquil.

#### Objetivos específicos

1. Analizar los diferentes órganos en el huésped intermediario (*Achatina fulica*) para determinar la presencia de *Angiostrongylus cantonensis*.
2. Determinar cualitativamente las larvas de *Angiostrongylus cantonensis* en las heces de los caracoles.
3. Correlacionar la presencia de los moluscos infectados en varios puntos geográficos de la urbe.

#### Materiales y Métodos

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio del Sub-Proceso de Parasitología del Instituto Nacional de Salud Pública e Investigación (INSPI).

El trabajo de campo consistió en recolectar manualmente ejemplares del caracol gigante africano (*Achatina fulica*), con el propósito de determinar si están infectados con el parásito *Angiostrongylus cantonensis*. Los caracoles capturados fueron llevados al laboratorio en respectivos envases plásticos, para ser codificados y sacrificados para los fines de este estudio. Los datos fueron llevados en la matriz principal (Muzzio, 2011).

#### Área de estudio

La ciudad de Guayaquil, está localizada en la costa del Pacífico, en la región litoral del Ecuador, se encuentra dividida en 74 sectores. Guayaquil es la ciudad con mayor densidad poblacional en el Ecuador, posee un estimado de 2'366,902 de habitantes que ocupan un aproximado de 344.5 km<sup>2</sup> de superficie. El área metropolitana está compuesta de 316.42 km<sup>2</sup>, que representa el 91.9% del área territorial de la ciudad (suelo). Cuerpos de agua como ríos y esteros comprenden un área de 28.08 km<sup>2</sup>, equivalente al 8.1% del área de la ciudad (Martini, 2011).

El presente estudio se realizó en 28 sectores seleccionados: Cdma. Los Esteros, Guasmo Sur, Parque Centenario, Santa Lucía, cdla. Miraflores, cdla. El Caracol, Puerto Santa Ana, cdla. Huancavilca, Mapasingue Este y Oeste, cdla. La Alborada 5ta y 9na Etapa, cdla. La Kennedy, Coop. Miramar 1, Universidad Estatal de Guayaquil (ciudadela universitaria), cdla. Mucho Lote 1, cdla. El Cóndor, Centro Cívico, Aeropuerto de Guayaquil José Joaquín de Olmedo, el INSPI (localidad), cdla. Los Ceibos, Teleamazonas, Laguna de Samborondón, Parque Forestal, Parque de la Espol-Prosperina, Urdesa, cdla. Las Garzas y Hospital Teodoro Maldonado.

#### Trabajo de laboratorio

Se procedió a la disección de los caracoles, mediante la aplicación del método de relajación muscular (Paraense, 1976). Para obtener las larvas en buen estado, se realizó la disección en un microscopio

estereoscópico binocular, se separaron la membrana o manto que envuelve la cavidad paleal (que recubre los órganos internos del caracol), en la que se puede apreciar nódulos y las larvas encapsuladas se liberaron por microdisección (Figuras 7-11).

Las larvas encapsuladas en esta membrana presentaron una coloración café; éstas fueron colocadas en pequeñas cajas Petri de 20 cm de diámetro con solución salina. Las características morfológicas de las larvas fueron estudiadas con un microscopio de luz, con el que se apreció especialmente la distribución de los gránulos refráctiles, las características de la cabeza, la cola y la estructura de la vaina.

Con la finalidad de completar el ciclo y obtener *A. cantonensis* adultos, se colocaron las larvas L3 Strongiloidea en diferentes tubos de ensayo, se centrifugó y se inoculó a las ratas (*Rattus spp.*) del laboratorio.

#### Preservación de los Helmintos

Los nemátodos encontrados en la membrana pulmonar de los caracoles se fijaron en una solución de ácido glacial acético al 2%, 3% de formaldehído al 35% y 95% de etanol al 70% (AFA) y se calentó a 60° C. Los especímenes fueron deshidratados y aclarados en concentraciones crecientes de glicerina para el análisis bajo microscopio (Dorta et al., 2007).

#### Técnicas y análisis de datos

Los resultados fueron tabulados por variables propuestas con la aplicación de estadísticas descriptivas (prevalencia) y dar facilidad al cálculo de los indicadores, con el fin de evitar errores. De esta manera, se incluyeron todos los organismos en este estudio. La fórmula para el cálculo de la prevalencia (P) fue la siguiente (Martínez et al., 2005):

$$P: \frac{\text{Organismos Positivos}}{\text{Organismos Totales}} \times 100$$

Además, se realizó un análisis de dos formas: Univariar y bivariar y se utilizó para la tabulación de la información el programa de Hoja de Cálculo (Microsoft Excel® 2007).

#### Resultados

En el año 2012 se recolectaron y diseccionaron 600 caracoles de *Achatina fulica*, de éstos, 48 presentaron *Angiostrongylus cantonensis* en la membrana paleal, en estadio L3 y uno con L2 (Tabla 1).

Durante la estación lluviosa (enero a mayo) se registraron 555 caracoles, ubicados en 15 sitios al norte (Alborada 5<sup>a</sup> y 9<sup>na</sup> Etapa, Mapasingue Oeste y Este, cdla. Kennedy, cdla. Miraflores, cdla. Urdesa, Puerto Santa Ana, cdla. Los Ceibos, Teleamazonas, Mucho Lote 1, cdla. Huancavilca Norte, cdla. Las Garzas, Aeropuerto de Guayaquil José Joaquín de Olmedo y Espol-Prosperina), 3 en el centro (Ciudadela Universitaria, Parque Centenario y el INSPI) y 5 al sur

de la ciudad (Los Esteros, Guasmo Sur, Santa Lucía, Parque Forestal y Coop. Miramar No. 1).

En los meses de la estación seca (junio a diciembre) se encontraron 45 caracoles, ubicados en 3 sitios al norte (Centro Cívico, cdla. Urdesa y cdla. El Caracol) y 1 al sur (Hospital Teodoro Maldonado) de la ciudad de Guayaquil (Tabla 1).

La mayor cantidad de caracoles positivos registrados fue 23 en el mes de febrero y la menor cantidad fue 1 en los meses de enero y marzo, cada uno (Tabla 1).

En el 2012 se encontró un mayor número (mayor a 50) de caracol Gigante Africano (*Achatina fulica*), en dos sectores: Cdla Kennedy (61) y cdla. Las Garzas (50). En mediana cantidad (entre 31-50) en tres sectores: Cdla. Mucho Lote 1 (32), cdla. Urdesa (38), Parque Centenario (44) y cdla. Miraflores (47). En menor cantidad (menores a 31) en veinticinco sectores: Parque de la Espol (14), INSPI (27), Aeropuerto de Guayaquil (16), Parque Forestal (26), Puerto Santa Ana (26), Mapasingue Este (23) y Oeste (8), Guasmo Sur (11), Canal Teleamazonas (14), Cdla. Huancavilca N. (3), Laguna Samborondón (11), Ciudadela Guayaquil (6), Alborada 9<sup>na</sup> (24) y 5<sup>a</sup> Etapa (24), Coop. Miramar 1 (14), cdla. Los Ceibos (16), cdla. Santa Lucía (17), cdla. Los Esteros (3), Centro Cívico (23), cdla. El Caracol (9) y Hospital Maldonado con 2.

En el 2012 se encontró la mayor cantidad de caracoles (*Achatina fulica*) positivos para *Angiostrongylus cantonensis* en cuatro sectores al norte: Cdla. Urdesa (parque principal y residencias) con 18/32, cdla. Kennedy 1/36, Mapasingue Este con 13/21 y cdla. Miraflores con 4/39. En el centro, Parque Centenario con 10/44. En el sur, Coop. Miramar No. 1 con 1/14 (Tabla 2).

La mayor cantidad se encontró en la cdla. Urdesa (norte) con 18 caracoles positivos de 32 para *Angiostrongylus cantonensis*, hallados en las cercanías del Estero Salado (Tabla 2).

Se comparó las seis diferentes localidades donde se encontró *Achatina fulica*, positivas para *Angiostrongylus cantonensis* y resultó el sector de la cdla. Urdesa con la mayor cantidad, seguido de Mapasingue Este con 13/21 y el Parque Centenario con 10/44 (Figura 1).

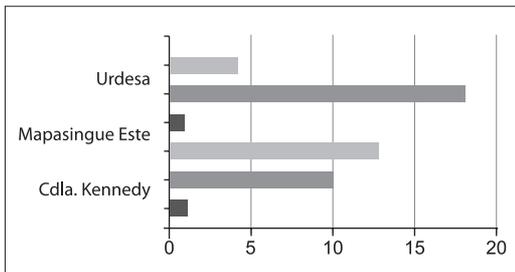


Figura 1 Cantidad de *Achatina fulica* positivos para *A. cantonensis* según su localidad encontrados. 2012

Tabla 1. Matriz principal de datos de caracoles (*Achatina fulica*) positivos para *A. cantonensis* año 2012, ciudad de Guayaquil.

Mes	Localidad	No.	N	P
Enero	INSPI (patio)	27	27	0
Enero	Cdla. Kennedy	36	35	1
Enero	Parque de la Espol	14	14	0
Enero	Aeropuerto Guayaquil	16	16	0
Enero	Parque Forestal	26	26	0
Enero	Cdla. Las Garzas	50	50	0
Febrero	Parque Centenario	21	17	4
Febrero	Puerto Santa Ana	26	26	0
Febrero	Mapasingue Este	21	8	13
Febrero	Mapasingue Oeste	8	8	0
Febrero	Parque Centenario	23	17	6
Febrero	Teleamazonas	14	14	0
Febrero	Cdla. Huancavilca N.	3	3	0
Marzo	Laguna Samborondón	11	11	0
Marzo	Miraflores	5	5	0
Marzo	Mapasingue Este	2	1	1
Marzo	Miraflores	3	3	0
Marzo	Guasmo Sur	16	16	0
Abril	Cdla. Mucho Lote 1	32	32	0
Abril	Universidad Guayaquil	6	6	0
Abril	Guasmo Sur	3	3	0
Abril	Cdla. Los Ceibos	5	5	0
Mayo	Coop. Miramar No. 1	14	13	1
Mayo	Alborada 9na Etapa	24	24	0
Mayo	Cdla. Urdesa (Parque)	24	8	16
Mayo	Cdla. Los Ceibos	11	11	0
Mayo	Santa Lucía	17	17	0
Mayo	Cdla. Urdesa	3	3	0
Mayo	Los Esteros	6	6	0
Mayo	Alborada 5ta Etapa	24	24	0
Mayo	Kennedy (Parque)	25	25	0
Mayo	Miraflores	39	35	4
Junio	Centro Cívico	23	23	0
Junio	Urdesa	8	6	2
Julio	Cdla. El Caracol	9	9	0
Nov.	Cdla. Urdesa	3	3	0
Nov.	Hospital Teodoro M.	2	2	0
Total		600	552	48

En cambio, en el año 2013 se diseccionaron 206 caracoles (*Achatina fulica*), de los cuales sólo 8 resultaron positivos para *Angiostrongylus cantonensis*, encontrados en la membrana paleal, en estadio L2 y L3 (Tabla 3).

Durante la estación lluviosa (enero a mayo) se registró 180 caracoles, ubicados en 5 sitios al norte (Aeropuerto de Guayaquil, cdla. Kennedy, cdla. Miraflores, Cdma. Los Ceibos y P. ESPOL) y 1 en el centro (INSPI) de la ciudad.

En la estación seca (junio a diciembre) se encontraron 26 caracoles, ubicados (cdla. El Cóndor) en un sitio al norte de la urbe (Tabla. 3).

La mayor cantidad de caracoles positivos fue de 5 (cinco) en el mes de abril y de menor cantidad fue de 1 (uno) en el mes de enero (Tabla. 3).

En el 2013, se encontró mayor número (mayor a 50) de caracoles Gigantes Africanos (*Achatina fulica*) en el sector: Cdma Miraflores (57). En mediana cantidad (entre 31-50) en un sector: Cdma. Kennedy (36).

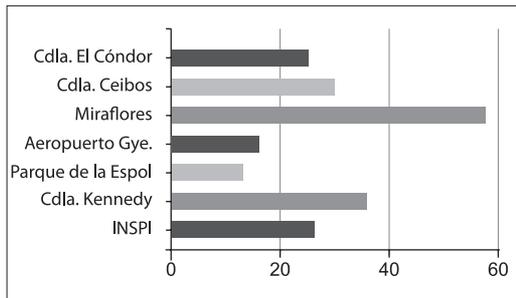


Figura 2 Localidades con mayor presencia de Caracol Gigante Africano (*Achatina fulica*) en Guayaquil, 2013.

En menor cantidad (menor a 31) en cinco sectores: Cdma. El Cóndor (26), INSPI (27), aeropuerto de Guayaquil (14) y parque la Espol con 16 (Figura 2).

En el 2013 se encontró la mayor cantidad de caracoles (*Achatina fulica*) positivos para *Angiostrongylus cantonensis*, localizados en dos sectores del norte de la urbe: Ciudadela Kennedy con 1/36 y la cdla. Miraflores con 7/57 (Tabla 4).

Se comparó con las dos localidades donde se recolectó *Achatina fulica*, positivas para *Angiostrongylus cantonensis* y resultó la cdla. Miraflores con mayor cantidad que cdla. Kennedy (Figura 3).

Se compararon los organismos positivos en los mismos tiempos (meses y estaciones) de los años 2012 con los 2013, donde se obtuvo los totales y la prevalencia de cada año correspondiente (Tabla 5).

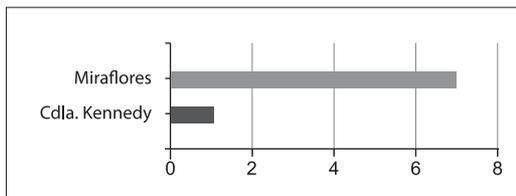


Figura 3 Cantidad de *Achatina fulica* positivos para *A. cantonensis* según su localidad encontrados 2013.

Tabla 2. Localidades con mayor cantidad de *Achatina fulica* positivos para *Angiostrongylus cantonensis* y totales en el 2012.

Localidades	Cantidades
Cdma. Kennedy	1/36
Parque Centenario	10/44
Mapasingue Este	13/21
Coop. Miramar No. 1	1/14
Urdesa (Parque principal)	16/24
Urdesa(residencia)	2/8
Cdma. Miraflores	4/39

Tabla 3. Matriz principal de datos de caracoles (*Achatina fulica*) positivos para *A. cantonensis* y totales en el año 2013, ciudad de Guayaquil.

Mes	Localidad	No.	N	P
Enero	INSPI	27	27	0
Enero	Cdma. Kennedy	36	35	1
Enero	Parque la Espol	14	14	0
Enero	Aeropuerto J. O.	16	16	0
Febrero	Miraflores	16	16	0
Febrero	Cdma. Ceibos	30	30	0
Marzo	Miraflores	34	32	2
Abril	Miraflores	7	2	5
Sep.	Cdma. El Cóndor	8	8	0
Octubre	Cdma. El Cóndor	18	18	0
<b>TOTAL</b>		<b>206</b>	<b>198</b>	<b>8</b>

Tabla 4. Localidades con mayor cantidad de *Achatina fulica* para *Angiostrongylus cantonensis* en el 2013.

Localidades	Cantidades
Cdma. Kennedy	1/36
Cdma. Miraflores	7/57

Tabla 5. Comparación entre los meses del año 2012 con los del 2013.

2012		2013	
Mes	Casos	Mes	Casos
Enero	1	Enero	1
Febrero	23	Febrero	0
Marzo	1	Marzo	2
Abril	0	Abril	5
Mayo	21	Mayo	0
Junio	2	Junio	0
Julio	0	Julio	0
Agosto	0	Agosto	0
Septiembre	0	Septiembre	0
Octubre	0	Octubre	0
Noviembre	0	Noviembre	0
Diciembre	0	Diciembre	0
<b>Total</b>	<b>48</b>	<b>Total</b>	<b>8</b>

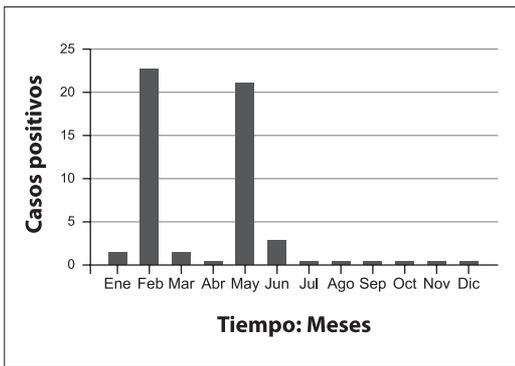


Figura 4. Presencia de *Angiostrongylus cantonensis* en caracoles (*Achatina fulica*) en el año 2012.

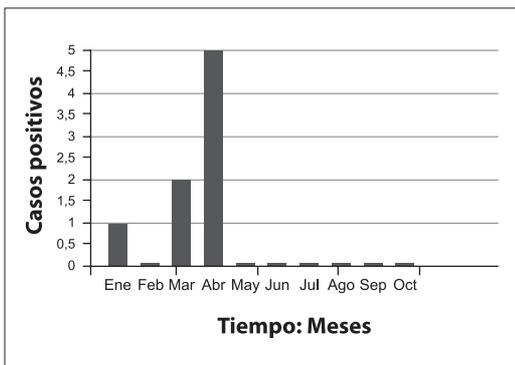


Figura 5 Presencia de *Angiostrongylus cantonensis* en caracoles (*Achatina fulica*) en el año 2013.

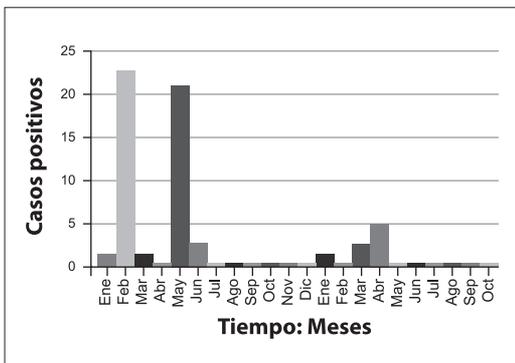


Figura 6 Presencia de *Angiostrongylus cantonensis* en caracoles (*Achatina fulica*) entre los años 2012-2013.

En el año 2012 se registró un total de 48 organismos positivos y en el año 2013 registraron sólo 8 organismos, de los cuales en el mes de marzo coincidió con la presencia de *A. cantonensis* en el organismo reservorio (Tabla 5).

En el año 2012 se presenta una prevalencia de 0,08 o 8% y en el año 2013 de 0,04 o 4%, esto indica que hay un mayor número de significancia de parasitismo en el año 2012 en comparación con el 2013 (Tabla 5).

Al establecer una comparación entre los dos años (2012 y 2013) el primer año presentó una mayor abundancia y prevalencia de *Angiostrongylus cantonensis*, en los 13 diferentes sitios de la ciudad en comparación con el segundo año, que presentó menor cantidad, en los pocos sitios encontrados (Tabla 5).

A lo largo del año 2012, durante los meses de febrero y mayo (estación lluviosa) se registró la mayor cantidad de positividad en los vectores naturales y en menor cantidad durante los meses de enero, marzo y junio. En el resto de los meses, durante la estación seca (Abril hasta Diciembre), hay ausencia tanto del caracol (*Achatina fulica*) como del parásito *A. cantonensis* (Figura 4).

A lo largo del año 2013, durante los meses de enero, marzo y abril (estación lluviosa) se registró la mayor cantidad de positividad para *Angiostrongylus cantonensis* en los vectores naturales (*Achatina fulica*). El resto de meses (estación seca), hasta el mes de Octubre, presenta ausencia del caracol (*Achatina fulica*) y también del parásito *A. cantonensis* (Figura 5).

En los meses de febrero y mayo del 2012, aparece la mayor cantidad de registros de caracoles positivos de *A. cantonensis*. Las cantidades significativamente menores se registraron durante enero, marzo y junio del mismo año. Se determinó ausencias de parásitos (*Angiostrongylus cantonensis*) durante julio a diciembre del año 2012 y nuevamente surgen durante enero, marzo y abril del 2013, pero en menor cantidad en comparación del año 2012.

El resto de meses (desde mayo hasta octubre), del año 2013, se registró ausencia tanto de moluscos *Achatina fulica* como de parásitos *A. cantonensis* (Figura 6).

## Discusión

En el 2012 se recolectaron cinco veces más caracoles (600) que en estudios anteriores (Martini et al., 2009 y Martini, 2011); esto se debe a la alta velocidad de expansión y reproducción de *A. fulica* (Muzzio, 2011). El poco conocimiento sobre el molusco, la falta de interés y/o los malos hábitos de higiene, permitió esta epidemia de forma natural.

Durante la estación lluviosa (enero a mayo) se reportó el mayor número de caracoles (*A. fulica*) y caracoles infectados, en contraste con la estación seca (junio a diciembre). Estos resultados coinciden con los datos publicados por Palacios y Ontaneda (2012), que registran el promedio de precipitaciones del 2012, en un total de 1,235.4 mm, superior en 15% de lo normal, en 124 días (enero a abril). Dadas las condiciones húmedas, el molusco *A. fulica*, incrementó su población al igual que la tasa de infección por *A. cantonensis*.

De los 27 sitios, sólo 6 resultaron positivos para *A. cantonensis* en el 2012. Esto es debido al desarrollo del molusco (*A. fulica*) en zona urbana habitada,

como los ramales del estero salado, que poseen condiciones ambientales húmedas de un 70%, a una temperatura de 18°C a 20°C, en tales condiciones estos organismos pueden proliferar con facilidad y extenderse en otros sectores de la ciudad (Correoso, 2008 y Muzzio, 2011).

En la frecuencia absoluta en el 2012, el número de caracoles *A. fulica* infectados fue inferior al número de no infectados, debido a que se recolectó en zonas residenciales, edificaciones escolares y otros lugares, en donde en su mayoría no se cumplía todo el ciclo natural de *A. cantonensis*.

En el 2013, se recolectaron dos veces más caracoles (206) que en estudios anteriores, pero menos que en el año 2012, debido a las condiciones climáticas desfavorables para la reproducción de *A. fulica*, los pocos lugares naturales donde pueda habitar y a una campaña dirigida por la OPS, INH, Agrocalidad y el Ministerio de Salud. En la campaña masiva participaron los medios de comunicación (periódicos, canales de televisión y radios).

En la estación lluviosa (enero a abril) del 2013 se reportó el mayor número de caracoles (*A. fulica*) infectados, en comparación con la estación seca (junio a octubre) del mismo año. Estos meses coinciden con los datos publicados por Palacios y Ontaneda (2013), que en el 2013 registran un total de precipitaciones de 108.56 mm, inferior en -9% de lo normal en 51 días (enero a abril). Resultando este año, como un año muy seco, más que el anterior, y por ello la poca cantidad de caracoles *A. fulica*. Si la cantidad de hospederos intermediarios disminuye, también disminuye el riesgo de contagiarse de *A. cantonensis*. Aún así se encontró un número significativo de caracoles en los mismos meses y los mismos lugares en comparación con el año anterior.

De los 7 sitios solo 2 resultaron positivos para *A. cantonensis*. Esto es debido al reducido número del molusco (*A. fulica*) tanto en zonas urbanas habitadas, como en zonas verdes y lugares no intervenidos por el hombre.

Considerando la frecuencia absoluta en el año 2013, el número de caracoles *A. fulica* infectados fue menor e inferior al número de caracoles infectados y no infectados del 2012. Similar al año anterior, no se obtuvo la misma carga parásita de *A. cantonensis*.

Según las investigaciones realizadas en la provincia del Guayas en los años 2008 y 2009 (Martini et al., 2009 y Martini, 2011), se recolectaron 105 ejemplares de caracol Gigante Africano (*Achatina fulica*), entre éstos, 2 resultaron positivos para *Angiostrongylus cantonensis*, con una prevalencia de 1,63%. En el 2011, en Guayaquil se recolectaron 145 caracoles de los cuales 6 resultaron positivos, con una prevalencia de 4% (Martini et al., datos no publicados). Los resultados obtenidos en el presente estudio coinciden con las observaciones que se habían realizado hasta el

momento, la ciudad de Guayaquil presenta la misma especie positiva para *A. cantonensis*.

Coincidiendo con el tiempo de captura por Martini (2009 y 2011), en los meses más lluviosos (enero-abril) existe una mayor probabilidad de encontrar *A. fulica* infectada con *A. cantonensis* en comparación con los meses más secos (junio-diciembre), debido a que estos inducen a la proliferación del caracol y por ello existen más probabilidades de que se infecten por el parásito.

Las localidades donde aparece *A. fulica* son ambientes urbanos donde influyen factores como el asentamiento de viviendas, deposición de basura y presencia del hospedero definitivo (*Rattus* spp.). En este caso, la especie hospedera es un vector introducido que posee una estrecha relación con *A. cantonensis* (Muzzio, 2011) y a su vez se encuentra relacionada con el consumo o manipulación de caracoles (*A. fulica*) vivos, aumentando el riesgo de aparición de casos con Angiostrongiliasis en la ciudad.

## Conclusiones

*Achatina fulica* es la única especie encontrada positiva para *Angiostrongylus cantonensis*, ésta se encuentra distribuida en 27 localidades en la ciudad de Guayaquil.

El número de prevalencia de moluscos infectados de forma natural en este estudio, revela el aumento progresivo de la infección larvaria en los hospederos intermediarios e indica probablemente que *A. fulica* sea la responsable de los casos de meningitis eosinofílica en Guayaquil (Martini, 2011).

Con mayor índice en el 2012 y menor índice de positividad en el 2013 para el parásito, *A. fulica* presentó el mayor índice de positividad en los dos sectores del norte, durante los dos años estudiados. Durante la estación lluviosa (enero-abril) se obtiene una mayor cantidad de *A. fulica* parasitados y no parasitados, en comparación con la estación seca. Hay una relación directa y significativa entre el ambiente que se desarrolla el hospedero intermediario y el grado de infección con el parásito.

El número de organismos infectados (prevalencia) es similar a estudios anteriores realizados. Se encontró una mayor cantidad de estadíos larvales: L3 que L2 de *Angiostrongylus cantonensis*, enquistados en las zonas viscerales.

*Achatina fulica* es una especie que se está adaptando y distribuyendo rápidamente en diferentes hábitats del Ecuador, además de ser potencialmente sensible a *A. cantonensis*, y posee un buen grado de adaptabilidad en estos dos últimos años de estudios.

## Recomendaciones

Realizar una continuación del presente estudio, fortalecer los mecanismos de vigilancia epidemiológica

e investigación necesaria del parásito y del caracol gigante africano (*Achatina fulica*), durante temporada lluviosa, debido a que la proliferación de este molusco con su respectivo parásito afectaría a una mayor cantidad de pobladores.

A nivel del sector salud las acciones más importantes que se deben desarrollar son:

- Difusión masiva a la comunidad de mensajes de prevención, indicando que se abstengan de consumir caracoles crudos o cualquier otro alimento que no preste las condiciones óptimas de sanidad, evitar que los niños se expongan a la baba de caracol a través del juego o que los adultos la utilicen para fines cosméticos.
- Controlar los botaderos de basura, donde pueden proliferar los caracoles (*Achatina fulica*) y las ratas u otros roedores.
- Entrenamiento del personal de salud para la detección y manejo oportuno de casos sospechosos de *Angiostrongylus cantonensis*.
- Campaña de educación alimentaria, con la finalidad de difundir la “No ingesta de alimentos crudos”, que puedan haber sido contaminados por caracoles.
- Toda acumulación de casos, en una zona geográfica o institución requiere una investigación epidemiológica.
- Se sugiere el relleno de las zanjas, limpieza de drenajes y cajas de aguas-lluvias, por medio de ordenanzas municipales, para evitar los asentamientos o ambientes naturales propicios del caracol gigante africano (*Achatina fulica*) donde puedan proliferar, expandirse y distribuirse de forma sucesiva.
- A nivel del sector ambiental, las acciones más importantes que se deben de desarrollar son:
- Inventario de especies autóctonas e importadas de caracoles.
- Actividades que conduzcan a la reducción de moluscos de *Achatina fulica*.
- Control estricto de las importaciones y exportaciones de alimentos o productos como la baba de caracol, en especial de especies vivas.
- Investigación de mecanismos ilegales de importación y exportación de alimentos o productos como la baba de caracol.

## Agradecimientos

Al Dr. Luis Solórzano Álava, responsable del Laboratorio del Sub-Proceso de Parasitología del “Instituto Nacional de Salud Pública e Investigación” (INSPI), por conceder el permiso para el uso de las instalaciones y los materiales de laboratorio y de oficina que hicieron posible el desarrollo de la presente investigación.

## Referencias

Aguiar P. H., P. Morera y J. Pascual (1981). Primer registro *Angiostrongylus cantonensis* en Cuba. *Am J Trop. Med. Hyg*; 1(1), 963-965.

- Andersen E., D. Guble, K. Sorensen, et al. (1986). First report of *Angiostrongylus cantonensis* in Puerto Rico. *Am J Trop Med Hyg*, 35, 319-322.
- Beaver P. C., R. Jung and E. Cuup. et al. (1984). Beaver's Clinical Parasitology. (9ª ed.) Philadelphia, Lea &Febiger, 292-294.
- Caldeira R. L., G. F. Mendoza, C. O. Goveia, H. L. Lenzi, C. Graeff-Teixeira, W. Lima (2007). Primer registro de moluscos infectados de forma natural con *Angiostrongylus cantonensis* (Chen, 1935) (Nematoda: Metastrongylidae) en Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Brasil; 102, 887-889.
- Chen TH. (1935) Un nouveau nematode pulmonaire, *Pulmonema cantonensis* n.g.n. sp., des rats de Canton. *Ann Parasitol Hum Comp*. 13, 321-7.
- Cheng TH., RW. Burton (1965). The American oyster and clam as experimental intermediate host of *Angiostrongylus cantonensis*. *Parasitol*. 51, 296.
- Correoso, R. (2005, 25 de septiembre). El caracol gigante, un nuevo peligro. *Diario El Comercio de Quito*, pp. B8.
- Correoso, R. (2008). Los Moluscos terrestres y fluviales del Ecuador Continental. La Biodiversidad desconocida. SIMBIOE, Quito-Ecuador; 1, 151
- Dorta A. J., N. García, B. Padilla, et al. (2006). *Aportes cubanos al estudio de Angiostrongylus cantonensis*. Ciudad de La Habana: Editorial Academia, 70-75.
- Kliks M. & N. Palumbo. (1992). Eosinophilic meningitis beyond the Pacific Basin: the global dispersal of a peridomestic zoonosis caused by *Angiostrongylus cantonensis*, the nematode lungworm of rats. *Soc. Sci Med*, 34, 199-212.
- Kwon E., T. Ferguson, S. Park, A. Manuzak, Y. Qvarnstrom, S. Morgan, P. Ciminera y G. Murphy (2013) Un caso grave de meningitis eosinofílica por *Angiostrongylus* con encefalitis y secuelas neurológicas en Hawai. *Hawaii J Med Salud Pública*; 72: 41-45.
- Maldonado Jr., O. Simões, M. Oliveira, E. Motta, M. Fernández, Z. Pereira, S. Monteiro, E. Torres, C. Thiengo. (2010) First report of *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongylidae) in *Achatina fulica* (Mollusca: Gastropoda) from Southeast and South Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*; 105: 7, 938-941.
- Martinez I., R. Valdez, C. Azambuja, N. Estrada. (2005) Prevalencia de mutaciones en el factor II, V y en la Metiltetrahidrofolato Reductasa, en una población de donantes de sangre en Paraguay. *An. Fac. Cienc. Méd.*; 38:4, 17-29.
- Martini R., J. Muzzio y L. Solórzano. (2009). Morfología y Ciclo Evolutivo del *Angiostrongylus cantonensis* en *Achatina fulica*. *Rev. INH*; 1:1, 1-120.
- Martini R. (2011). Diseño de un programa de control y prevención de *Angiostrongylus cantonensis* en el Ecuador período 2008-2009. Tesis de Maestría. *Universidad Guayaquil*. 1: 1-19.
- Martini R. L. (2012). Guía operativa para la vigilancia epidemiológica, parasitológica y malacológica de la meningoencefalitis eosinofílica causada por el parásito: *Angiostrongylus cantonensis*. *MSP*, 1, 10.
- Moreira V., E. Giese, FT. Melo, R. Simões, EG. Giese, SC. Thiengo, A. Maldonado Jr, JN. Santos. (2012). Endemic angiostrongyliasis the Brazilian Amazon: Natural parasitism of *Angiostrongylus cantonensis* in *Rattus rattus* and *R. norvegicus*, and sympatric giant African and snails *Achatina fulica*. *Acta Tropical*. ELSEVIER, 1, 2-8.
- Muzzio A. (2011). *Moluscos hospederos intermediarios de Angiostrongylus cantonensis en dos provincias de Ecuador*. Tesis de Maestría. Instituto de Medicina Tropical “PEDRO KOURI”. Departamento de Control de Vectores Laboratorio de Malacología, La Habana, Cuba, 14-28.
- Palacios J. y G. Ontaneda. (2012). BOLETIN CLIMATOLOGICO ANUAL AÑO 2011. INAMH. Dirección Gestión Meteorológica. *Estudios e Investigaciones Meteorológicas*, 4, 10 y 11.
- Palacios J. y G. Ontaneda. (2013). BOLETIN CLIMATOLOGICO ANUAL AÑO 2012. INAMH. Dirección Gestión Meteorológica.

*Estudios e Investigaciones Meteorológicas*; 4, 10 y 11.  
Paraense W. L. (1976). *Lymnaea viatrix* a study of topotypic specimens (Mollusca: Lymnaeidae). *Rev Brasil Biol*, 36, 419-428.  
Raccurt CP, J. Blaise J, M. Durette-Desset (2003) Presence of *Angiostrongylus cantonensis* in Haiti. *Trop Med Int Health*; 8: 423-426.  
Thiengo S.C., Maldonado A., Mota E.M., Torres L., Caldeira R., Carvalho O., et al. (2010) The giant african snail *Achatina fulica* as natural intermediate host of *Angiostrongylus cantonensis* in Pernambuco, northeast Brazil. *Acta Tropic*; 115(3): 194-199.  
Vargas M., JD Gómez, EA Malek. (1992). First record of *Angiostrongylus cantonensis* in the Dominican Republic. *Trop Med Parasitol*; 43, 231-235

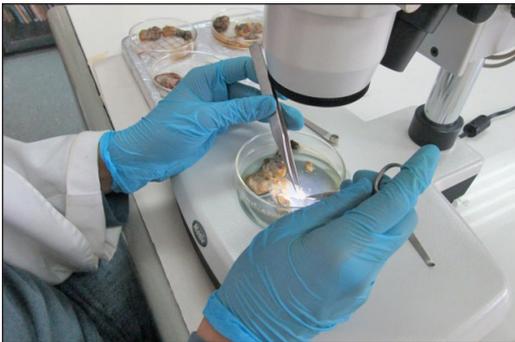


Figura 7. Manipulación de la membrana de la cavidad Paleal, bajo estereomicroscopio (1:1).



Figura 8. Enquistamiento de *A. cantonensis* en la membrana paleal *A. fulica* (0,5-0.9 mm).



Figura 9. Enquistamiento de L3 de *A. cantonensis* en la membrana Paleal *A. fulica* (0,5-0.9 mm).



Figura 10. Larva 3 *A. cantonensis* enquistada en *A. fulica* (0,10-0,40 mm).



Figura 11. 5 Área de estudio de la ciudad de Guayaquil año 2012 y 2013. Constituye: El presente estudio se realizó en 28 sectores seleccionados: Cda. Los Esteros, Guasmo Sur, Parque Centenario, Santa Lucía, Cda. Miraflores, Cda. El Caracol, Puerto Santa Ana, Cda. Huancavilca, Mapasingue Este y Oeste, Cda. La Alborada 5ta y 9na Etapa, Cda. La Kennedy, Coop. Miramar 1, Universidad Estatal de Guayaquil (ciudadela), Cda. Mucho Lote 1, Cda. El Cóndor, Centro Cívico, Aeropuerto de Guayaquil José Joaquín de Olmedo, el INSPI (localidad), Cda. Los Ceibos, Teleamazonas, Parque Forestal, Parque de la Espol - Prosperina, Urdesa, Cda. Las Garzas y Hospital Teodoro Maldonado.

## Estudios de control biológico de la polilla del tomate, plaga reciente en España

Studies of biological control of the tomato moth, a recent pest in  
Spain

Jaime E. Araya<sup>1,\*</sup>, Sara Hernando<sup>2</sup>, Alberto Fereres<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Casilla 1004, Santiago, Chile.  
(562) 2978-5714.

<sup>2</sup> Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC, C/Serrano, 115-bis 28006, Madrid, España.  
(34) 91-745 25 00. sara.hernando@ica.csic.es, afereres@ccma.csic.es

Recibido 6 de mayo 2015; recibido en forma revisada 16 de mayo 2015, aceptado 8 de junio 2015  
Disponibile en línea 30 de junio 2015

### Resumen

Existen diversos agentes de control natural de *Tuta absoluta* en Chile y España, entre los que destacaron los himenópteros parasitoides *Apanteles gelechiidivoris* y *Necremnus artynes*. En ensayos de laboratorio sobre discos de folíolos de tomate, metaflumizone y flubendiamida tuvieron una alta toxicidad para *T. absoluta* pero fueron inocuos para *Necremnus*. Los insecticidas imidacloprid y  $\alpha$ -cipermetrina tuvieron baja eficacia frente a *T. absoluta* y fueron incompatibles con el parasitoides. Se propone incluir en estudios similares al himenóptero braconídeo *A. gelechiidivoris*, por su rol en el control natural de *T. absoluta* en Colombia, su hábitat natural, en el norte de Chile y por uso potencial en España. Además, se debe continuar analizando la toxicidad de los insecticidas utilizados en control de plagas, para preferir aquellos que afecten a la plaga pero no sean tan tóxicos para enemigos naturales como *N. artynes*.

**Palabras clave:** *Apanteles gelechiidivoris*, control biológico, *Necremnus artynes*, polilla del tomate, *Tuta absoluta*.

### Abstract

The hymenopteran parasitoids *Apanteles gelechiidivoris* and *Necremnus artynes* look promising among the diverse natural control agents of *Tuta absoluta* in Chile and Spain. In laboratory trials on disks of tomato leaflets, metaflumizone and flubendiamide were highly toxic for *T. absoluta* but innocuous for *Necremnus*. The insecticides imidacloprid and  $\alpha$ -cypermethrin had low efficacy against *T. absoluta*, and were not compatible with the parasitoid. The braconid hymenopteran *Apanteles gelechiidivoris* should be included in similar studies, because of its role in natural control of *T. absoluta* in Colombia, its natural habitat, and northern Chile, and because of its potential use in Spain. Also, the toxicity of the insecticides used against pests should be analyzed continuously, to prefer those that affect the pest but are not so much toxic for natural enemies like *N. artynes*.

**Keywords:** *Apanteles gelechiidivoris*, biological control, *Necremnus artynes*, tomato moth, *Tuta absoluta*.

### Introducción

La polilla del tomate se colectó originalmente en 1917 en Huancayo, Perú, e identificó como *Phthorimaea absoluta* (Meyrick). Esta especie es una plaga clave de este cultivo, tanto en Chile, donde se conoce desde 1963 (Rojas, 1964) como en España, donde se introdujo hace pocos años (Urbaneja *et al.*, 2007). Esta nueva plaga del tomate en los países en torno al Mediterráneo (Desneux *et al.*, 2010) y en España en particular pone en riesgo la implementación de programas de manejo integrado que se están llevando a cabo en las principales regiones productoras de

tomate, ya que el control de una larva minadora es difícil por su capacidad de supervivencia a insecticidas de contacto, la herramienta más habitual para reducir los daños. En Chile se le ha estudiado desde hace 4 décadas (Vargas, 1970), y según Salazar y Araya (2001), este insecto recibía con frecuencia hasta 15 tratamientos insecticidas a lo largo de un solo ciclo de cultivo en el extremo norte del país (Valle de Azapa), por lo que ha desarrollado resistencia a algunos plaguicidas.

Los adultos de *T. absoluta* son pequeñas polillas de color gris con antenas largas y filiformes de hasta 7

\* Correspondencia del autor:  
E-mail: jaimearaya@yahoo.com



mm de longitud y una expansión alar de ~10 mm. La hembra pone 40 a 50 huevos blancos que amarillean a medida que maduran. Las larvas son de color verde con la cabeza oscura. La pupa es de tipo obtecta, de 4,4 mm de largo y 1,1 mm de diámetro y de color verde hacia marrón a medida que madura; se encuentran de preferencia en el suelo en capullos blancos sedosos y a veces en el follaje. En las condiciones climáticas de las regiones VI y VII de Chile (central) se presenta en primavera, y las poblaciones aumentan en primavera y verano. El umbral mínimo de desarrollo es 7,9°C, el que se utiliza para el cálculo de grados día en Chile. La polilla requiere 74,4 d a 14°C y 23,8 d a 27°C para completar el ciclo. Esta plaga causa daño en tomate en las hojas, flores y frutos. En hojas construye galerías anchas al alimentarse del mesófilo y dejar sólo la epidermis. También puede producir aborto floral. En el fruto penetra dejando una lesión superficial y cava galerías en su interior. Si la infestación comienza en frutos verdes éstos se deforman. La pérdida de rendimiento puede llegar hasta 90% (Estay y Bruna, 2002).

En Europa, la invasión de *T. absoluta* ha alcanzado todos los países en torno al Mediterráneo. Las posibilidades para su control biológico han sido revisadas recientemente (Desneux *et al.*, 2010). Los parasitoides asociados a *T. absoluta* en Cataluña son los himenópteros *Stenomiesus* sp. (Chalcididae) y *Necremnus artynes* (Walker) (Eulophidae) (Gabarra y Arno, 2010). También aparecen con frecuencia depredadores polífagos como los miridos *Macrolophus pygmaeus* (Rambur), *M. caliginosus* Warner y *Nesidiocoris tenuis* Reuter (Arnó *et al.*, 2009).

Se desarrolló un proyecto de análisis sobre el posible uso de agentes de control biológico de *T. absoluta* en colaboración entre el CSIC de Madrid y la Universidad de Chile (Convenio bilateral 2010CL0008), con dos objetivos: 1. Seleccionar de agentes de control biológico de uso potencial contra *T. absoluta* en España, y 2. Evaluar la susceptibilidad del parasitoide *Necremnus artynes* hacia algunos insecticidas utilizados contra la polilla del tomate en España.

### 1. Selección de agentes de control biológico de *Tuta absoluta*

#### Año 1, Chile, mayo de 2011

Objetivo: Prospección de enemigos naturales de *T. absoluta* que pudieran ser de interés para mejorar los programas de control biológico tanto en Chile como en España. En una primera fase se han identificado los parasitoides asociados a *T. absoluta* en la región de Arica.

Metodología: Se muestrearon hojas de tomate con síntomas de daño por *T. absoluta* y se llevaron al laboratorio de la Universidad de Tarapacá (Arica, Chile), donde el material vegetal infestado se puso en baterías Flanders. Las parcelas donde se tomaron las muestras se seleccionaron en base a su historial

de tratamientos químicos, que como se indica en la introducción, son frecuentes en el Valle de Azapa. Se eligieron rastrojos de cultivos en este valle (Fig. 1) y que por tanto no habían recibido tratamientos recientes con insecticidas. Los cultivos de tomate en este sector ocurren sólo donde hay riego. Las laderas del valle no tienen vegetación y los insectos fitófagos se concentran sólo en las plantas de tomate. Además, se tomaron muestras *in situ* en los lugares de muestreo de ejemplares adultos de *Apanteles gelechiidivoris* Marsh mediante aspirador (Fig. 2).

La ubicación de los sitios de muestreo en la temporada 2011 en Arica, Chile, se presenta en la Tabla 1. Los parasitoides colectados en los puntos de muestreo se presentan en la Tabla 2.

En los sitios de muestreo 1 y 2 se recogieron abundantes ejemplares adultos de *Apanteles gelechiidivoris* Marsh (Braconidae; Figura 2), que se preservaron en alcohol 70% para confirmar su identificación.

Los folíolos muestreados se procesaron para verificar la presencia de otros enemigos naturales de *T. absoluta*. En ellos se identificaron larvas inmóviles de *T. absoluta*, parasitadas por larvas del eulófido, *Dineulophus phthorimaeae* De Santis (Figura 3). Estos ejemplares se separaron para su desarrollo y verificar la identidad de los adultos. Tras unos días, las larvas de *D. phthorimaeae* evolucionaron a pupas (Figura 4).

También se aislaron 15 larvas muertas de *T. absoluta* desde las galerías, que aparentemente no estaban parasitadas por ningún entomófago. Estas larvas se aislaron en tubos Eppendorf para aislar e identificar posibles microorganismos que pudieran ser de interés para el control de *T. absoluta*, y se enviaron al Prof. Primitivo Caballero (Universidad Pública de Pamplona, España), un especialista en patología de insectos. En esas muestras no aparecieron baculovirus del género *Granulovirus* que podrían ser patogénicos y podrían tener interés práctico como agentes de biocontrol. En estas muestras tampoco aparecieron hongos entomopatógenos, pero sí bacterias esporígenas en tres de ellas. Actualmente, esas bacterias se están analizando para verificar si son patógenas para *T. absoluta* y si se cumplen los postulados de Koch.

#### Año 1, España, junio 2011

Objetivo: Prospección de enemigos naturales de *T. absoluta* que pudieran ser de interés para mejorar los programas de control biológico tanto en Chile como en España. En una primera fase se han identificado los parasitoides asociados a *T. absoluta* en las regiones de Alicante, Aranjuez y Barcelona.

Metodología del estudio 1: En parcelas de tomate con bajo uso de insecticidas se muestrearon folíolos con síntomas de daño por *T. absoluta*, que se pusieron en cajas ventiladas en el laboratorio del CSIC, Madrid, que se mantuvieron a 24°C de día y 20°C durante la noche a un fotoperíodo de 16:8 L:O. La ubicación



Figura 1. Plantación de tomate en el Valle de Azapa (Chile).



Figura 2. Hembra adulta de *Apanteles gelechiidivoris* colectada en 2011 sobre foliolo de tomate en el sitio 1 de muestreo en Azapa, Arica, Chile.

de los puntos de muestreo en la temporada 2011 en España se presenta en la Tabla 3.

Resultados del estudio 1: En el sitio 1 se colectaron 13 larvas de *T. absoluta*, una de ellas con signos de infección por patógenos y que se aisló en una cápsula Eppendorf para su identificación posterior. Las demás larvas puparon normalmente y las pupas se criaron para observar si había parasitismo.

En el sitio 2 se colectaron hojas de tomate de la variedad Anairis en invernadero con daños de *T. absoluta*. Las hojas se pusieron en cajas ventiladas en una cámara de crianza a 24°C de día y 20°C durante la noche y un fotoperíodo de 16:8 L:O. En los puntos de muestreo 1 y 4 se encontraron larvas de *T. absoluta* con síntomas de infección por microorganismos.

En los sitios 5, 6, 7 y 8 se hicieron liberaciones de parasitoides criados en laboratorio por el grupo del IRTA-Cabrils, en invernaderos donde se está estudiando su biología en condiciones controladas, en particular los himenópteros *Stenomomesius* sp. (Chalcididae) y *Necremnus artynes* (Walker) (Eulophidae), ambos

parasitoides de larvas de *T. absoluta* que se encuentran en forma espontánea en esa región.

## Año 2, Chile, febrero-marzo de 2012

En el segundo año del proyecto se las actividades se centraron en las actividades siguientes:

En Arica, Chile, se colectaron en junio de 2012 individuos de *Apanteles gelechiidivoris* Marsh, para hacer una crianza sobre *T. absoluta* y desarrollar otro proyecto en el futuro, con un ensayo similar al que se describe en el estudio 2 sobre *Necremnus artynes*. Conclusiones del estudio 1: Existen diversos agentes de control natural de *T. absoluta* en Chile y España, entre los que destacaron los himenópteros parasitoides *Apanteles gelechiidivoris* y *Necremnus artynes*.

## 2. Evaluación de la susceptibilidad del parasitoide *Necremnus artynes* hacia algunos insecticidas utilizados contra la polilla del tomate en España

Metodología del estudio 2: En Madrid se hicieron ensayos con *N. artynes* para determinar su compatibilidad con insecticidas que se usan para

Tabla 1. Sitios de muestreo de enemigos naturales de *T. absoluta* en Arica, Chile, en 2011.

Sitios	Puntos de muestreo	Fechas de colecta	Coordenadas		
			Latitud	Longitud	Altitud
1	Ticnama-Azapa-Pampa algodónal (38,8 km de Arica)	13/05	18.580°S	69.952° W	732 m
2	Parcela de Umberto Mamani (39 km de Arica)	17/05	18.577°S	69.949° W	693 m
3	Parcela Ribera del Río Lauca	20/05	18.515°S	70.181° W	251 m

Tabla 2. Especies de parasitoides colectados en 2011 en Arica, Chile.

Sitios	Puntos de muestreo	Especies colectadas
1	Ticnama-Azapa-Pampa algodónal	• <i>Apanteles gelechiidivoris</i> (Braconidae; abundantes ejemplares adultos)
2	Parcela Umberto Mamani	• <i>Dineulophus phthorimaeae</i> (Eulophidae)
3	Parcela Ribera del Río	No se colectaron parasitoides.



Figura 3. Larva de *Tuta absoluta* parasitada por una larva de *Dineulophus phthorimaeae*.



Figura 4. Larva muerta de *Tuta absoluta* (arriba) y dos pupas de *Dineulophus phthorimaeae* (abajo).

el control de *T. absoluta*, durante la estancia del investigador chileno (15 de junio al 15 de julio de 2012). Para este ensayo de laboratorio se seleccionaron los siguientes insecticidas a 3 dosis (100% de la dosis alta recomendada para el control de *T. absoluta* por las casas comerciales y a 75 y 50% de la dosis mayor):

- Metaflumizona 24%, (Alverde, BASF)
- Alfa-cypermctrina, 10% p/v (Dominex, Cheminova)
- Imidacloprid, 20% p/v (Confidor, Bayer)
- Flubendiamida, 24% (Fenos, Bayer)

La metodología usada se basó en un protocolo, con algunas modificaciones al propuesto por IRAC para evaluar insecticidas en *T. absoluta* en la hoja de método 22: [http://www.irac-online.org/wp-content/uploads/2009/09/Method\\_022\\_Tuta-.pdf](http://www.irac-online.org/wp-content/uploads/2009/09/Method_022_Tuta-.pdf)

Se usaron cajitas cilíndricas de plástico transparente de 2,5 cm de diámetro y 1,5 cm de alto con tapas con tela de visillo para ventilación en las que se pusieron 2 discos de papel filtro humedecido con 5 gotas de agua destilada. En placas Petri se pusieron discos de folíolos de tomate de 2,2 cm de diámetro que se habían sumergido previamente 3 seg. en las soluciones insecticidas (3 dosis) con una pinza metálica y agitación. Los discos tratados se dejaron secar sobre una rejilla metálica con el haz hacia arriba, y una vez con la superficie secada se pusieron sobre las placas Petri (1 disco/placa) (Figura 5).

Los insectos usados en el ensayo (*N. artynes*) fueron proporcionados por Koppert España SL. Los ensayos se hicieron con hembras y machos adultos. Para manipularlos se pusieron en una bandeja con hielo. En cada placa Petri se pusieron con pincel cinco adultos. Se hicieron 3 repeticiones por tratamiento más un control con discos de hoja sin tratar.

Las 3 cajitas de cada tratamiento se pusieron en una placa Petri estándar con una cápsula con miel al 50% en agua en el centro y una de papel filtro conectada

a las 3 cápsulas con los adultos de *Necremnus* cajitas para proporcionarles alimento. Las placas Petri se mantuvieron a 25°C con fotoperíodo 16:8 L:O.

La mortalidad de los adultos se evaluó a las 1, 24, 48 y 96 h de exposición. Los resultados se presentan en la Tabla 4.

En junio-julio de 2012 se hicieron ensayos de laboratorio en el CSIC de Madrid con adultos de *Necremnus artynes* (Walker) (Hymenoptera: Eulophidae), proporcionados por Koppert España SL, para evaluar su susceptibilidad hacia algunos insecticidas que se utilizan en el control de *T. absoluta* en la península, incluyendo metaflumizona 24% (Alverde, Basf),  $\alpha$ -cypermctrina 10%p/v (Dominex, Cheminova), imidacloprid 20% p/v (Confidor, Bayer) y flubendiamida 24% (Fenos, Bayer).

Los insecticidas se aplicaron sobre folíolos de tomate al 100% de la mayor concentración recomendada contra *T. absoluta* y al 75% y 50% de la primera. Para asegurar una buena cobertura foliar se agregó el coadyuvante nonifenil-polietilenglicol (éter) (Adarán 20% PV, Aragro), incluso en el control con agua destilada. Se usaron cápsulas cilíndricas de acrílico transparente (2,5 cm diám x y 1.5 cm alto) con tapas con un orificio de ventilación cubierto con tela de visillo, con 2 discos de papel filtro humedecido con 5 gotas de agua destilada en la base. Sobre ellos se pusieron discos de hoja de tomate de 2,2 cm de diámetro, que se habían sumergido previamente en las soluciones insecticidas (3 concentraciones) durante 3 seg. con una pinza metálica y alguna agitación, que se dejaron secar sobre una rejilla metálica con el haz hacia arriba antes de instalar los parasitoides adultos sobre ellos. En el ensayo se evaluó la susceptibilidad de adultos (hembras y machos) de *Necremnus* sp., proporcionados por Koppert España SL. Para su manipulación, estos insectos se mantuvieron en una bandeja con hielo, desde donde se introdujeron con pincel cinco adultos por cápsula, con tres repeticiones por tratamiento incluyendo un control con discos

Tabla 3. Puntos de muestreo de parasitoides en 2011 en España.

Sitios	Puntos de muestreo	Fechas de colecta	Coordenadas		
			Latitud	Longitud	Altitud
1	Muchamiel, Alicante	03/06	38.439°N	0.486°W	38 m
2	Finca Víctor Sánchez, Real Cortijo de Aranjuez	15 /06	40.05°N	3.57°W	469 m
3	Viveros Olmedo, Olmea de las Fuentes	16/06	40°21'27"N	3.13°W	7,2 m
4	Finca de I. Colomer, Roquetas del mar, Almería	20/06	36°44'41"N	2°37'8"W	17 m
5	Bellatrin, Municipio de Argentona, Barcelona	22/06	41°33'19"N	2°24'02"E	36 m
6	Ribosa, Municipio de Cabrera de Mar, Barcelona	22/06	41°31'34"N	2°23'36"E	17 m
7	Viñals, Municipio de Cabrera de Mar, Barcelona	22/06	41°24'21"N	2°09'37"E	18 m
8	Font, Municipio de Cabrera de Mar, Barcelona	22/06	41°30'53"N	2°23'27"E	24 m



Figura 5. Ensayo para evaluar la susceptibilidad de *Necremnus artynes* a tratamientos insecticida. La cápsula del centro contiene una solución de miel en agua al 50% y las con círculos de lámina foliar tratados con insecticidas para exponer 5 individuos del parasitoide a la acción de contacto de los residuos.

de hoja tratados sólo con agua destilada. Las tres cápsulas de cada tratamiento se pusieron en una placa Petri estándar, junto con otra cápsula en el centro de la placa con miel diluida al 50% en agua y una cinta de papel filtro conectada a las cápsulas cilíndricas con los discos de folíolos y los parasitoides adultos de *Necremnus* para facilitarles alimento. Todas las placas Petri se mantuvieron en una cámara Sanyo a 25°C y fotoperíodo de 16:8 L:O durante el experimento.

Resultados del estudio 2: La mortalidad (corregida por la fórmula de Abbott, 1925) de mayor nivel se obtuvo en los tratamientos con imidacloprid y alfa-cipermetrina, y aumentó con la concentración. Los insecticidas metaflumizona y flubendiamida resultaron inocuos para *N. artynes* y sólo produjeron una mortalidad de nivel similar a la del control no tratado (Tabla 1).

Metaflumizona y flubendiamida fueron inocuos sobre *N. artynes*, sin diferencias significativas entre las concentraciones y tiempos de exposición. En comparación, imidacloprid y  $\mu$ -cipermetrina resultaron tóxicos para el parasitoide, en mayor medida en la concentración comercial y a medida que aumentó el tiempo de exposición.

Los resultados obtenidos en el ensayo con *N. artynes* se analizaron en conjunto con los de un ensayo con

los mismos insecticidas y concentraciones sobre *T. absoluta*, con el fin de hacer recomendaciones de manejo que favorezcan la preservación del parasitoide en condiciones de campo. La mortalidad corregida de *T. absoluta* con los tratamientos insecticida se presenta en la Tabla 5.

El ensayo con *T. absoluta* obtuvo resultados opuestos a los obtenidos con *N. artynes*. Metaflumizona y flubendiamida fueron muy tóxicos sobre las larvas de la plaga, con diferencias significativas con los otros dos insecticidas, de mayor nivel al aumentar el tiempo de exposición, que en flubendiamida llegó incluso al 100% mortalidad en las dosis media y alta. Imidacloprid y  $\mu$ -cipermetrina tuvieron poco efecto sobre *T. absoluta*, sin diferencias significativas entre las dosis evaluadas y los tiempos de exposición.

Conclusiones del estudio 2: En los ensayos de laboratorio sobre discos de folíolos de tomate, metaflumizona y flubendiamida tuvieron alta toxicidad para *T. absoluta* pero fueron inocuos para *Necremnus*. Los insecticidas imidacloprid y  $\alpha$ -cipermetrina tuvieron baja eficacia frente a *T. absoluta* y fueron incompatibles con el parasitoide.

## Recomendaciones

Se propone incluir en estudios similares el parasitoide *Apanteles gellechiidivoris* Marsh (Hymenoptera: Braconidae), por su rol en el control natural de *T. absoluta* en Colombia, su hábitat natural, en el norte de Chile y por uso potencial en España. Además, se debe continuar analizando la toxicidad de los insecticidas utilizados en control de plagas, para preferir aquellos que afecten a la plaga pero no sean tan tóxicos para enemigos naturales como *N. artynes*.

## Referencias

- Arnó, J., J. Ariño, R. Español, M. Martí & O. Atomar. 2009. Conservation of *Macrolophus caliginosus* Wagner (Het Miridae) in commercial greenhouses during tomato crop-free periods. *IOBC/WPRS Bull.* 23(1):241-246.
- Arnó, J., R. Sorribas, M. Prat, M. Matas, C. Pozo, D. Rodríguez, A. Garreta, A. Gómez & A. Gabarra. 2009. *Tuta absoluta*, a new pest in IPM tomatoes in the northeast of Spain. *IOBC/WPRS Bull.* 49:203-208.
- Desneux, N., E. Wajnberg, K.A.G. Wyckhuys, G. Burgio, S. Arpaia, C.A. Narváez-Vásquez, J. González-Cabrera,

**Tabla 4.** Mortalidad corregida (% ± error estándar) de adultos de *Necremnus artynes* después de 1, 24, 48 y 96 h de exposición a folíolos de tomate tratados con varios insecticidas.

Tratamientos	Mortalidad			
	1 h	24 h	48 h	96 h
Imidacloprid 50	0	0	13,3±13,3 a	21,7±11,7 ab
a-cipermetrina 50%	0	20,0±11,5 a	26,7±17,6 a	55,0±10,4 b
Metaflumizona 50	0	6,7±6,7 a	6,7±6,7 a	6,7±6,7 a
Anova factorial (gl 3,8)		F=2,028 P=0,1886	F=0,990 P=0,4450	F=6,860 P<0,05
Imidacloprid 75%	13,3±6,7 a	13,3±6,7 a	26,7±13,3 ab	38,3±7,3 b
a-cipermetrina 75%	0,0 a	28,3±6 a	50,0±5,7 b	45,0±10,4 b
Metaflumizona 75%	6,7±6,7 a	6,7±6,7 a	6,7±6,7 a	6,7±6,7 a
Flubendiamida 75%	0,0 a	6,7±6,7 a	6,7±6,7 a	6,7±6,7 a
Anova factorial (gl 3,8)	F=1,833 P=0,2192	F=1,02 P=0,2077	F=3,508 P=0,0692	F=6,84 P<0,05
Imidacloprid 100%	6,7±6,7 a	58,3±10,1 b	85,0±7,6 b	85,0±7,6 b
a-cipermetrina 100%	33,3±6,7 b	40,0±23,1 ab	46,7±29,1 ab	41,7±30,0 ab
Metaflumizona 100%	0,0 a	6,7±6,7 a	6,7±6,7 a	0,0 a
Flubendiamida 100%	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
Anova factorial (gl 3,8)	F=11,403 P<0,05	F=5,051 P<0,05	F=5,051 P<0,05	F=6,032 P<0,05

\* Los resultados de mortalidad natural se descontaron con la fórmula de Abbott, y se compararon mediante un andeva-factorial después de una transformación mediante arcsin/x.  
 \*\* Los promedios en una columna seguidos por letras distintas son diferentes estadísticamente (P<0,05).

**Tabla 5.** Mortalidad corregida (% ± error estándar) de larvas de 2º estadio de *T. absoluta* después de 24, 48 y 72 h de exposición a folíolos de tomate tratados con varios insecticidas.

Tratamientos	Mortalidad		
	24 h	48 h	96 h
Imidacloprid 50%	0,0 a	4,7±2,3 a	4,3±4,3 a
A-cipermetrina 50%	4,3±4,3 a	8,7±4,3 a	13,7±6,8 a
Metaflumizona 50%	26,7±13,2 b	67,3±3,2 b	83,3±6,5 b
Flubendiamida 50%	88,7±2,2 c	95,7±4,3 c	97,7±2,3 b
Anova factorial (gl 3,8)	F=32,470; P<0,05	F=37,4; P<0,05	F=31,075; P<0,05
Imidacloprid 75%	0,0 a	2,3±2,3 a	2,3±2,3 a
α-cipermetrina 75%	4,7±2,3 a	4,7±2,3 a	9,3±6,2 a
Metaflumizona 75%	29,0±7,7 b	63,7±5,4 b	83,3±6,5 b
Flubendiamida 75%	100,0±0,0 c	100,0±0,0 c	100,0±0,0 c
Anova factorial (gl 3,8)	F=121,776; P<0,05	F=101,397; P<0,05	F=59,011; P<0,05
Imidacloprid 100%	2,3±2,3 a	9,0±5,8 a	9,0±5,8 a
α-cipermetrina 100%	6,7±3,7 a	9,0±2,0 a	13,7±7,8 a
Metaflumizona 100%	39,0±6,1 b	77,7±5,8 b	95,0±2,5 b
Flubendiamida 100%	93,0±4,0 c	100,0±0,0 c	100,0±0,0 b
Anova factorial (gl 3,8)	F=35,363; P<0,05	F=68,122; P<0,05	F=36,899; P<0,05

\* Los resultados de mortalidad natural se descontaron con la fórmula de Abbott, y se compararon mediante un andeva-factorial después de una transformación mediante arcsin/x.  
 \*\* Los promedios en una columna seguidos por letras distintas son diferentes estadísticamente (P<0,05).

- D. Catalán Ruescas, E. Tabone, J. Frandon, J. Pizzol, C. Poncet, T. Cabello & A. Urbaneja. 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *Journal of Pest Science* 83:197-215.
- Estay, P. & A. Bruna. 2002. *Insectos, ácaros y enfermedades asociadas al tomate en Chile*. Santiago, INIA La Platina. 111 p.
- Gabarra, R. & J. Arnó. 2010. Resultados de las experiencias de control biológico de la polilla del tomate en cultivo de invernadero y aire libre en Cataluña. *Phytoma España*, 217:65-68.
- Meyrick, E. 1917. Descriptions of South American Microlepidoptera. *Trans. Ent. Soc. London*, p. 44. (in L. Caltagirone, 1967, correspondencia personal).
- Meyrick, E. 1925. Family *Gelechiidae*. *Gen. Jns.*, 184.9] (in J. Pastrana, 1967, correspondencia personal).
- Rojas, S. 1964. "Polilla del tomate". *Gnorimoschema sp. cercana a G. absoluta (Lepid. Gelechiidae)*. *Bol. Esp. Dep. Inv. Agríc. N° 22*, Min. Agricultura, Chile. 367 p.
- Salazar, E. & J.E. Araya, 2001. Respuesta de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick), a insecticidas en Chile. *Agricultura Técnica (Chile)* 61(4):429-435.
- Urbaneja, A., R. Vercher, V. Navarro, F. García Mari & J.L. Porcuna. 2007. La polilla del tomate, *Tuta absoluta*. *Phytoma España* 194:16-23.
- Vargas, H. 1970. Observaciones sobre la biología y enemigos naturales de la polilla del tomate, *Gnorimoschema absoluta* (Meyrick) (Lep. Gelechiidae). *Idesia* 1:75-110.

## Halotolerancia y síntesis enzimática en *Pseudomonas* cf. *fluorescens* aislada de las piscinas de Ecuasal, provincia de Santa Elena, Ecuador

Halotolerance and enzymatic synthesis by *Pseudomonas* cf. *fluorescens* isolated from Ecuasal salt ponds, province of Santa Elena, Ecuador

Jaime Santos<sup>1,2,\*</sup> & José Villalta<sup>2,\*\*</sup>

<sup>1</sup> Docente de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil

<sup>2</sup> Investigador, Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Av. Raúl Gómez Lince s/n y Av. Juan Tanca Marengo, Guayaquil, Ecuador, Teléfono +593 04 3080777 Ext. 218

Recibido 6 de mayo 2015; recibido en forma revisada 16 de mayo 2015, aceptado 8 de junio 2015  
Disponibile en línea 30 de junio 2015

### Resumen

El objetivo de la presente investigación es determinar la halotolerancia y síntesis enzimática de *Pseudomonas* cf. *fluorescens*. Para evaluar la halotolerancia, se cuantificó el crecimiento celular en 2 M, 3 M y 4 M NaCl a 30°C. También se evaluó la síntesis enzimática extracelular proteolítica, amilolítica y lipolítica mediante halos de producción. Se determinó que el tratamiento a 4 M a 30 °C fue el mejor en los ensayos de halotolerancia, con una velocidad de crecimiento ( $\mu$ ) 0.048 h<sup>-1</sup>, tiempo de duplicación (td) 14.55 h y a una densidad celular de 5 906 666 ± 305 505 cel/mL. La síntesis proteolítica fue la más alta (halo de 30±0.82 mm), seguida por la producción de amilasas (halo de 22.5±1.73 mm), no se observó actividad lipolítica.

**Palabras claves:** Amilasa, halotolerancia, lipasa, proteasa, *Pseudomonas* cf. *fluorescens*, síntesis enzimática.

### Abstract

The goal of this research is to determine the halotolerance and enzymatic synthesis of *Pseudomonas* cf. *fluorescens*. To evaluate halotolerance, cell growth was quantified in 2 M, 3 M and 4 M NaCl at 30°C. Also, the extracellular proteolytic enzyme synthesis, amylolytic and lipolytic was evaluated by halos of production. The treatment of 4 M to 30°C was the best Halotolerance assay, with a growth rate ( $\mu$ ) 0.048 h<sup>-1</sup>, doubling time (td) 14.55 h and a cell density of 5 906 666 ± 305 505 cell/mL. Proteolytic synthesis was the highest (halo 30 ± 0.82 mm), followed by the production of amylases (halo of 22.5±1.73 mm), the lipolytic activity was not observed.

**Keywords:** Amylase, enzymatic synthesis, halotolerant, lipase, protease, *Pseudomonas* cf. *fluorescens*, substrate.

## Introducción

Para el aprovechamiento de la síntesis proteica o de las actividades celulares que realizan los microorganismos, cuyos productos de interés sirvan para el uso a nivel industrial, es necesario aislar y caracterizar los biovares presentes en sus ambientes nativos. Este proceso de aislamiento permite una selección estricta de aquellos microorganismos adaptados a su medio y que pueden ser candidatos potenciales en aplicaciones biotecnológicas (Saxena, 2015).

Las enzimas provenientes de la fracción extracelular de microorganismos halófilos extremos y de halófilos

moderados, son muy estables y funcionales en presencia de concentraciones salinas elevadas, en estas condiciones, la mayoría de las enzimas no halófilas sufren agregación y adoptan una conformación no funcional (Ventosa, Nieto & Oren, 1998). En consecuencia, crece el interés por conocer la diversidad enzimática de microorganismos halófilos (Bertus, 2003).

Las enzimas hidrolíticas producidas por microorganismos halófilos son utilizadas en la industria farmacéutica para la elaboración de algunos medicamentos como antibióticos, hormonas y pesticidas (Joshi *et al.*, 2000; Sudge, Bastawde, Gokhale, Kalkote & Ravindranathan,

Correspondencia de autores:

\* E-mail: j.santos2387@gmail.com

\*\* E-mail: villalta.josedavid@gmail.com



2015 Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil. Este obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional

1998), también han sido usadas para el tratamiento de superficies marinas contaminadas con petróleo (Stosz, Weiner & Coyne, 1995).

El descubrimiento de nuevas especies extremófilas y la especificación de las secuencias de sus genomas proveen una ruta para la caracterización de nuevas enzimas, lo que potencialmente podría conducir a aplicaciones tecnológicas novedosas (Gupta, *et al.*, 2005). Una de las aplicaciones más importantes y actuales en biotecnología consiste en la producción de enzimas hidrolíticas, tales como celulasas, amilasas, lipasas, proteasas, nucleasas y pululanases, estables en condiciones extremas.

Entre las bacterias halófilas, las moderadas representan el grupo más común. En ambientes hipersalinos se encuentran en mayor frecuencia representantes de bacterias Gram negativas, anaerobios facultativos o aerobios, incluyendo a los géneros *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Aeromonas* y *Vibrios* (Martínez, Quesada, Martínez & Béjar, 2004).

La característica principal de las bacterias halófilas es su dependencia al NaCl, donde las concentraciones salinas óptimas para su crecimiento varían entre las distintas especies, desde 0.5 M a 5 M de NaCl, habiéndose determinado que tal requerimiento es directamente dependiente del aumento de la temperatura y la concentración de nutrientes presentes en el medio (Cánovas, Vargas, Csonkja, Ventosa & Nieto, 1996).

*Pseudomonas fluorescens* es un bacilo recto o ligeramente curvado, aerobio estricto y móvil gracias a los flagelos polares que posee, con reacción positiva a la actividad de oxidasa (Brenner, Krieg & Staley, 2005). El presente trabajo tuvo como objeto determinar la halotolerancia y la síntesis enzimática extracelular de *P. cf. fluorescens*, aislada de las lagunas de Ecuasal, en la provincia de Santa Elena, Ecuador.

## Materiales y métodos

### Material biológico

Las muestras utilizadas en el presente estudio fueron colectadas de las lagunas de Ecuasal, en la estación Pacoa. Se encuentran localizadas en la provincia de Santa Elena, en el suroeste del Ecuador, a menos de 200 m de la línea costera del Océano Pacífico (Latitud 02°13.807 y longitud 080°57.748). Estas piscinas están ubicadas en un área semi-desértica (Red Hemisférica de Reservas para Aves Playeras [RHRAP], 2009) y son de origen artificial.

Las muestras colectadas en la estación Pacoa (n= 6), fueron tomadas del suelo de las piscinas evaporadoras empleando nucleadores esterilizados, posteriormente se transportaron en hieleras temperadas a 4°C hasta el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil.

### Aislamiento e identificación

Se suspendieron 20 g de suelo en 100 mL de agua de mar filtrada y esterilizada, se tomaron 100 µL de esta suspensión para ser sembrados por desgaste en placas con agar King B: Agar 20.0 g; Peptona 15.0 g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> anhidro 1.5 g; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O; glicerol 15.0 mL y 1000 mL H<sub>2</sub>O, suplementado con la solución de sales: NaCl 205.2 g; 36 g MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O; 52 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O; 0.8 g CaCl<sub>2</sub>·2 H<sub>2</sub>O; 5.2 g KCl; 0.2 g NaHCO<sub>3</sub>; 0.6 g NaBr; 2.5 mL FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O al 0.5% (p/v); 1000 mL H<sub>2</sub>O (Rodríguez, 1993) al 5% (p/v) y 30% (p/v), con pH 7 e incubado a 30°C.

Para determinar la especie, se realizaron las siguientes pruebas: Crecimiento a 37°C y 42°C, licuefacción de la gelatina, arginina dihidrolasa, oxidación de la glucosa, oxidación de la lactosa, oxidación del manitol, motilidad, prueba de indol, citrato Simmons y citocromo oxidasa, las cuales han sido descritas para *P. fluorescens* (Forbes, Sahn & Weissfeld, 2009; Cowan, 1974). Se realizaron cinco réplicas de cada prueba y un testigo (sin inóculo), ajustándose a una salinidad de 70 ppt NaCl.

### Ensayo de Halotolerancia

La prueba de halotolerancia se realizó mediante una cinética de crecimiento en 30 mL de medio King B suspendido con NaCl a 2 M, 3 M y 4 M por triplicado con un inóculo inicial de 600 000 células/mL para cada réplica. Se realizó un control negativo para cada uno de los tratamientos con el mismo volumen final y en ausencia de inóculo.

El conteo celular para los tratamientos se lo realizó cada seis horas hasta la declinación del número de células utilizando la cámara de Neubauer.

Una vez obtenidos los resultados de la cinética se procedió al análisis estadístico mediante la prueba de varianza de Kruskal-Wallis no paramétrico utilizando los programas estadísticos Simfit 7.0 y SPSS 19.

### Síntesis enzimática

Se utilizó el medio de cultivo starch agar con almidón soluble al 1 % (p/v) para la producción de amilasas, skim milk agar con leche descremada al 1 % (v/v) para la producción de proteasas y para la producción de lipasas el agar sierra al 1 % de tween 80 (v/v).

Se prepararon cinco placas de cada medio a pH7 y 70 ppt de NaCl, cuatro de las cuales fueron sembradas con el aislado bacteriano y una designada como control negativo (sin inóculo). La siembra de las colonias fue realizada con un asa de platino en el centro de las placas (9.20 mm de diámetro) y posteriormente incubados a 30°C durante cinco días.

La presencia o ausencia de degradación de los sustratos por la producción de enzimas, se determinó mediante la medición de un halo consumo-sustrato cada 24 horas; con el fin de revelar el halo en agar de almidón se colocó lugol al 10 % v/v.

## Resultados

### Aislamiento e identificación

Se logró obtener aislados de *Pseudomonas* spp. en el agar King B suplementado con la solución de sales al 5 % (Fig. 1). Además, las pruebas bioquímicas realizadas determinaron que el aislado es muy cercano a *Pseudomonas fluorescens* (Tabla 1).

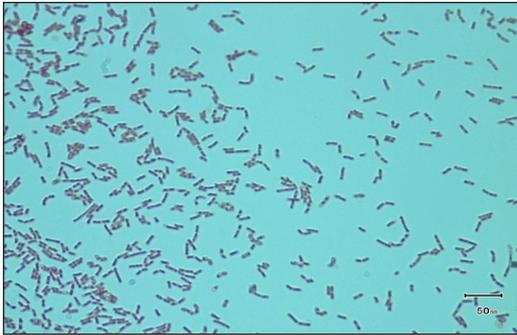


Figura 1. Tinción de Gram (negativo) del aislado de *P. cf. fluorescens* aislada de las salinas de Ecuasal (10X).

Tabla 1. Resultado de las pruebas bioquímicas de *P. cf. fluorescens*.

Test	Resultado
Crecimiento a 37°C	+
Crecimiento a 42°C	-
Licuefacción de la gelatina	+
Arginina dihidrolasa	+
Oxidación de la glucosa	+
Oxidación de la lactosa	d+
Oxidación del manitol	+
Motilidad	+
Prueba de indol	d-
Citrato Simmons	+
Citocromo Oxidasa	+

d+ = 90% positivo; d- = 90% negativo

### Prueba de Halotolerancia

El cultivo realizado a 2 M NaCl llegó a un número máximo de  $4\,133\,333 \pm 285\,346$  cel/mL a las 36 horas con una velocidad de crecimiento ( $\mu$ ) de  $0.054\text{ h}^{-1}$  y una tasa de duplicación ( $td$ ) 12.93 h. En 3 M NaCl el número máximo fue de  $5\,680\,000 \pm 105\,830$  cel/mL a las 48 horas con un  $\mu = 0.047\text{ h}^{-1}$  y un  $td = 14.80$  h y para 4 M NaCl el número máximo fue  $5\,906\,666 \pm 305\,505$  cel/mL a las 48 horas, con un  $\mu = 0.048\text{ h}^{-1}$  y un  $td = 14.54$  h. (Fig. 2).

El análisis estadístico no paramétrico de Kruskal Wallis determinó que no existieron diferencias significativas entre los tratamientos 2 M, 3 M y 4 M de NaCl con un  $p > 0.05$  siendo  $H = 1.723$  (Tabla 2).

También se observó que entre las medias de crecimiento no se encontraron diferencias significativas (Fig. 3); sin embargo, los tratamientos a 3 M y 4 M NaCl fueron los que presentaron la mayor densidad celular.

Tabla 2. Análisis estadístico de Kruskal Wallis no paramétrico en la prueba de halotolerancia.

Fuente	Tamaño muestral	Rango medio	Coficiente H	p-Valor
2 M	10	12.55	1.723	0.423
3M	10	17.35		
4M	10	16.6		

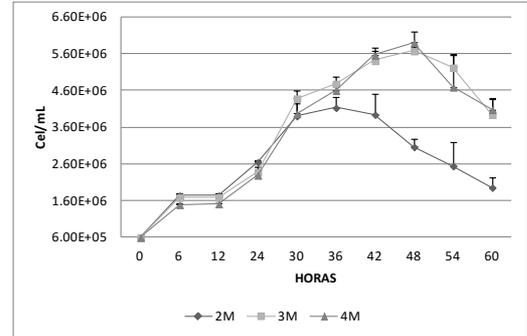


Figura 2. Medias de la cinética de crecimiento con desviación estándar a distintas concentraciones de NaCl para *P. cf. fluorescens*.

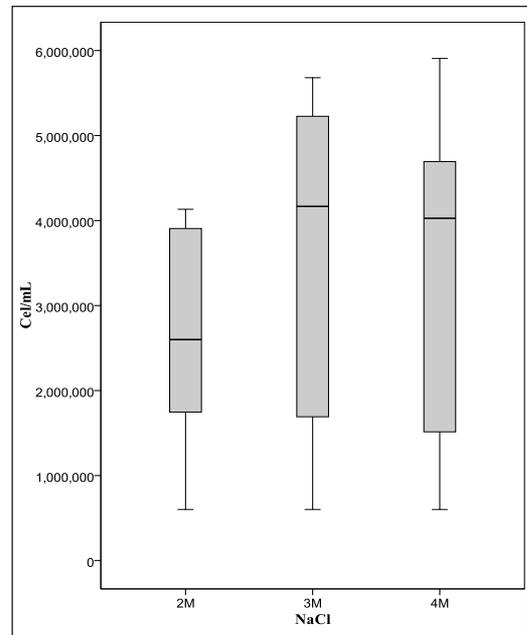


Figura 3. Diagrama de cajas y bigotes en los tratamientos de halotolerancia para *P. cf. fluorescens*.

### Síntesis enzimática

Se observaron halos enzimáticos en los sustratos de leche descremada y almidón soluble demostrando la producción de enzimas proteolíticas y amilolíticas, mientras que el sustrato para obtener lipasas no presentó halo de producción enzimática (Fig. 4).

La síntesis enzimática alcanzó su mayor producción luego de 96 horas de haber sido inoculadas (Fig. 5), siendo la enzima proteasa cuyo sustrato fue leche

descremada la que obtuvo el mejor resultado, con un halo de  $30 \pm 0.82$  mm de diámetro, mientras, el sustrato utilizado para producir amilasas con una base de almidón soluble fue el segundo de mayor producción con un diámetro de halo de  $22.5 \pm 1.73$  mm.

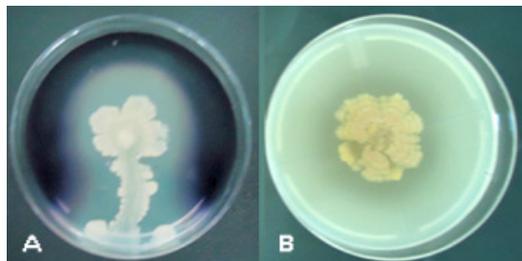


Figura 4. Halos enzimáticos producidos por *P. cf. fluorescens*. A) Agar de almidón con lugol para detección de actividad amilolítica. B) Agar de leche descremada para detección de actividad proteolítica.

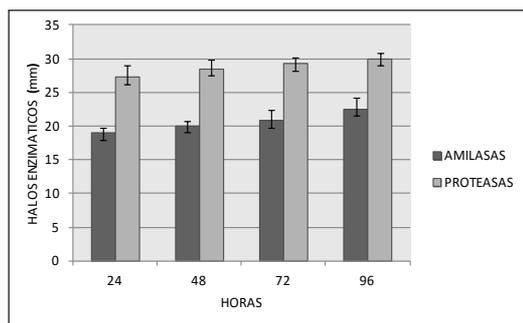


Figura 5. Medias de los diámetros de halos enzimáticos (mm) con su desviación estándar para amilasas y proteasas producidos diariamente por *P. cf. fluorescens*.

## Conclusiones

Los resultados de la presente investigación son similares a los de Narváez (2007), que también determinó la actividad proteolítica para el género *Pseudomonas* aislada de las salinas de Ecuasal, donde presentó halos de diámetros cercanos a los resultados obtenidos en este trabajo para proteasas, las cuales también fueron las de mayor actividad hidrolítica.

Las pruebas bioquímicas aplicadas al aislado de las salinas de Ecuasal coinciden en un 90 % con las pruebas de identificación para *Pseudomonas fluorescens* descritas por Cowan (1974) y Forbes *et al.* (2009), siendo esta la razón por lo que se denomina a esta especie aislada como *Pseudomonas cf. fluorescens*.

El tiempo de duplicación de  $14.09 \pm 1.3$  h y la velocidad de crecimiento de  $0.050 \pm 0.004$  h<sup>-1</sup> observados entre los tratamientos realizados a *P. cf. fluorescens* son muy cercanos a los previamente reportados para *P. fluorescens* (11.19 h y  $0.062$  h<sup>-1</sup>, respectivamente; en Márquez, Piramanrique, Carrascal, Clavijo & Quevedo, 2007). Esta similitud en el crecimiento demuestra la normalidad en la división celular de *P. cf. fluorescens* a 2 M, 3 M y 4 M de NaCl.

Los datos obtenidos a partir de la prueba de halotolerancia a 3 M y 4 M de NaCl registraron los mayores valores de velocidad de crecimiento, siendo la concentración de 4 M de NaCl el mejor tratamiento, al registrar el menor tiempo de duplicación y la mayor densidad celular. Consecuentemente, el aislado de *P. cf. fluorescens* es una bacteria halófila extrema al encontrarse en el rango de salinidad óptimo para este grupo de bacterias (2.5-5.2 M de NaCl; según Kuhsner & Kamekura, 1988).

*P. cf. fluorescens* produce en mayor proporción enzimas proteolíticas utilizando leche descremada como sustrato y en menor proporción amilasas en sustrato de almidón soluble en una concentración de 70 ppt de NaCl a 30 °C y no produce enzimas lipasas utilizando tween 80 como sustrato.

## Recomendaciones

Realizar la caracterización molecular de la cepa *Pseudomonas cf. fluorescens* para obtener una confirmación definitiva de su identidad taxonómica.

Evaluar la producción de enzimas de *P. cf. fluorescens* en altas concentraciones de temperatura y salinidad.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la Facultad de Ciencias Naturales y sus autoridades por permitir la realización de esta investigación en el Laboratorio de Biotecnología; y al Prometeo Adolfo Borges Ph.D, por su ayuda en la elaboración de este documento.

## Referencias

- Bertus, B. (2003). Extremophiles as a source for novel enzymes. IMenz. *Bioengineering BV. Elsevier Science Ltd.* The Netherlands.
- Brenner, D., Krieg, N. & Staley, J. (2005). *The Proteobacteria. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2C* (2<sup>nd</sup> edition). pp. 1388. New York, US: Springer publishing.
- Cánovas, D., Vargas, C., Csonkja, L., Ventosa, A. & Nieto, J. (1996). Osmoprotectants in *Halomonas elongata*: high affinity betaine transport system and choline-betaine pathway. *J Bacteriol.* 178, pp.7221-7226.
- Cowan, S. (1974). *Cowan and Steel's manual for identification of medical bacteria* (2<sup>nd</sup> edition). pp.26-27. Cambridge: Cambridge University Press.
- Forbes, B., Sahn, D. & Weissfeld, A. (2009). *Bailey y Scott Diagnóstico microbiológico* (12<sup>a</sup> edición). pp.340-344. Editorial panamericana.
- Gupta, A., Roy, I., Patel, R., Singh, S., Khare S. & Gupta, M. (2005). One step purification and characterization of an alkaliphilic protease from haloalkaliphilic *Bacillus* sp. *J. Chromatogr A.* 1075 (1-2): pp.103-108.
- Joshi, R., Ravindranathan, T., Bastawade, K., Gkhale, D., Kalkote, U., & Sudge, S. (2000). Halophilic *Pseudomonas* strain having accession no. NCIM 5209 (ATCC 55940) and a process for preparing D(-) N-carbamoylphenylglycine using said strain. Patent US6121024.
- Kuhsner, D. & Kamekura, M. (1988). Physiology of halophilic eubacteria. In: Rodríguez, F. (ed) *Halophilic bacteria*, vol 1. pp109-138. Boca Raton: CRC Press.

- Márquez, C., Piramanrique, K., Carrascal, A., Clavijo, B. & Quevedo, B. (2007). Determinación cuantitativa de proteasas de bacterias psicrotróficas aisladas de leche cruda. *Nova-publicación científica*. 5: pp.14-24.
- Martínez, M., Quesada, E., Martínez, F. & Béjar, V. (2004). A taxonomica study to establish the relationship between exopolysaccharide producing bacterial strains living in diverse hypersaline habitats. *Curr Microbiol.* 48: pp.348-353.
- Narváez, V. (2007). *Aislamiento e identificación de bacterias aerobias halófilas con actividad proteolítica procedentes de piscinas de la industria de sal ECUASAL localizada en Santa Elena-Ecuador*. (Tesis de licenciatura). Escuela Superior Politécnica del Ejército. Ecuador. Recuperado de: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/580/1/T-ESPE-025287.pdf>
- Red hemisférica de reservas para aves playeras (RHRAP). (2009). Western Hemisphere Shorebird Reserve Network. Recuperado de: <http://www.whsrn.org/es/perfil-de-sitio/lagunas-de-ecuasal>
- Rodríguez, F. (1993). Introduction to saline environments. In: Vreeland, R. & Hochstein, L. (Eds.). *The Biology of Halophilic Bacteria*. pp.1-23. Boca Raton: CRC Press.
- Saxena, S. (2015). *Applied Microbiology*. New York, US: Springer publishing. DOI: 10.1007/978-81-322-2259-0
- Statgraphics Plus Version 5.1. (2000). Satitiscal Graphics Corp. Magnugistics, Inc. Rockville, MD.
- Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) Version 19. (2010). International Business Machines Corp. Armonk, US.
- Stosz, S., Weiner, R., & Coyne, V. (1995). Agarase system from *Alteromonas* strain 2- 40. Patent U85418156.
- Sudge, S., Bastawde, K., Gokhale, D., Kalkote, U. & Ravindranathan, T. (1998). Production of D-hydantoinase by halophilic *Pseudomonas* sp. NCIM 5109. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 45: pp.594-599.
- Ventosa, A., Nieto, J. & Oren, A. (1998). Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 62: pp.504- 544.

## Análisis Socio-Ambiental de la utilización de Albarradas en los recintos Cacheli Grande y Miraflores del cantón Ventanas, Ecuador

Socio-Environmental Analysis of the use of Albarradas in the enclosures  
Cacheli Grande and Miraflores, Ventanas Parish, Ecuador

**Arllys E. Escobar Albán<sup>1,\*</sup>, Wilson Pozo Guerrero<sup>2</sup>  
& José Antepara Basurto<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> *Estudiante de Pregrado de la Escuela de Ciencias Geológicas y Ambientales, Facultad de Ciencias Naturales. Universidad de Guayaquil. (05) 2 734 495, +593987936490*

<sup>2</sup> *Docente de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, +59304434927 59399897538; wpozog@gye.satnet.net*

<sup>3</sup> *Docente de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, +593992430975; jose.anteparab@ug.edu.ec*

Recibido 6 de mayo 2015; recibido en forma revisada 16 de mayo 2015, aceptado 8 de junio 2015  
Disponible en línea 30 de junio 2015

### Resumen

Con el análisis de la problemática socio-ambiental, se realizó el mapeo de las albarradas inventariadas en los recintos Cacheli Grande y Miraflores, en el cantón Ventanas, en la costa de Ecuador. La albarrada más grande es de 25 m, la longitud promedio de las albarradas es de 10 m y la más pequeña tiene 6 m de largo, la profundidad máxima es de 8 m. El 81% de las albarradas fueron construidas por falta de agua y el 3% con fines recreativos. Se realizaron comprobaciones en campo de los resultados, así como un seguimiento fotográfico de las albarradas de interés. En lo social y económico, se estableció que 75 % de los socios basan su actividad económica en la agricultura, en relación con el empleo son independientes, en la componente ambiental se verificó como las albarradas modernas influyen en la modelación del paisaje, en el abastecimiento de agua de buena calidad para los cultivos agrícolas y en el cauce normal de ríos, con el mantenimiento de los manantiales con plantas propias de la zona. Los beneficios de las albarradas son la recarga de acuíferos, se debe contrarrestar la erosión hídrica de ciertas áreas como también los azolvamientos por sedimentación. La vegetación circundante beneficia al agro ecosistema proveyendo de humedad a los suelos.

**Palabras clave:** Agroecosistemas, albarradas, análisis socio-ambiental, calidad del agua, cultivos, recargas.

### Summary

Based on the analysis of environmental and social problems, a map containing the recorded albarradas was elaborated from Cacheli Grande y Miraflores, in Ventanas Parish, on the coast of Ecuador. The largest albarrada is of 25 m long, the average size is of 10 m and the smallest is of 6 m long, the deepest are of 8 m. Of those albarradas, 81% were built as water supply and 3% for recreational purposes. A photo monitoring of earthworks of interest was performed in the field and result tests were conducted, as well. From the social and economical viewpoints, it was established that 75% of the partners base the economic activity on agriculture, and that those are independent in relation to employments; on the environmental component was verified as modern albarradas influence on shaping landscapes, providing of good quality water for agricultural crops, and on the normal course of rivers while flowing to form springs with native plants. The benefits of the albarradas are groundwater recharge, regulating hydric erosion in some areas as well as the clogging by sedimentation. The surrounding vegetation benefits the agro ecosystem providing moisture to the soils.

**Keywords:** Agro-ecosystems, albarradas, crops, earthworks, refills, social-environmental analysis, water quality.

\* Correspondencia del autor:  
E-mail: arlyes\_escobar@hotmail.com



## Introducción

El Ecuador es un territorio con gran diversidad biológica, social y cultural, es por esto que los trabajos de investigación deben enmarcarse en estos tres ámbitos y en la interacción de cada uno de ellos respecto al otro para fomentar el manejo sostenible y sustentable de los recursos naturales.

Entendemos que: “Desarrollo sustentable es aquel estilo de desarrollo que permite simultáneamente el crecimiento económico incorporando la calidad de vida, la equidad social y la conservación ambiental por el carácter de activo económico de los recursos ambientales, como por su potencial a largo plazo en la producción alimenticia, farmacológica e industrial. Tiene tres objetivos: el crecimiento económico, la equidad social y la sustentabilidad ambiental” (Marcos, 2004).

Como lo establece la constitución:

“El territorio del Ecuador constituye una unidad geográfica e histórica de dimensiones naturales, sociales y culturales, legado de nuestros antepasados y pueblos ancestrales” (Constitución de la República del Ecuador, 2008).

El Ecuador tiene periodos cíclicos con momentos de abundancia de agua, como es el caso de la presencia del Evento del Niño, un evento Océano-Atmosférico, cuya intensidad se va diluyendo para esperar un evento débil, similar a un invierno con precipitaciones pluviales medianas, los agricultores se han visto obligados a tomar medidas para el auto abastecimiento de agua para uso doméstico y para el mantenimiento de sus cultivos, es por esta razón que recurrieron a la construcción de albarradas: humedales lénticos artificiales o reservorios de agua artificial (Marcos, 2004).

Los miembros de la Asociación 25 de Junio, en su necesidad de conservar el recurso agua por mayor tiempo y enfrentarse a las sequías, han recurrido a la construcción de albarradas para mejorar sus cultivos, sin embargo el componente ambiental se ha visto afectado. Si bien las albarradas mitigan en gran magnitud la carencia de agua, estas causan alteraciones el equilibrio hídrico del sector, debido a que en esta zona los esteros o riachuelos que se encuentran son de primer o segundo orden, conocidos también como ríos intermitentes.

La construcción de las albarradas se las realizó sin previo estudio técnico, basado en la empírea ancestral, lo que ocasiona que el flujo normal del agua se vea afectado en las zonas más bajas, ya sea por los efectos de inviernos fuertes que reciben caudales máximos que sumados a la construcción anti-técnica de los muros o compuertas de retención se destruyen y arrastran los sedimentos que se depositan en las zonas bajas, causando el azolvamiento en esteros o riachuelos.

Aunque el agua que se logra captar por las albarradas en invierno sirve para los cultivos en verano, esta agua no es destinada para el consumo humano, debido a que los habitantes prefieren consumir el agua de los pozos.

El área de estudio donde se desarrolló el proyecto de investigación es la Asociación 25 de junio, la cual abarca los recintos Cacheli Grande y Miraflores, en la costa de Ecuador. La cobertura vegetal es muy baja, los principales cultivos son cacao (*Theobroma cacao* L.), maíz: (*Zea mays* L.) y café (*coffea spp.*) (INIAP l. , 1987), además, se puede observar en un porcentaje mínimo remanentes de un bosque húmedo muy alterado (BHma) (Sistema Nacional de Información).

El clima que presenta esta zona es megatérmico húmedo, con un rango de temperatura atmosférica media de entre 25 y 26°C y presenta una precipitación anual media de 2200 a 2300 mm, sin riesgo de deslizamientos, debido a que se trata de zonas bajas, aunque ciertas zonas presentan una pendiente de hasta un 25%.

Los beneficiarios del presente estudio lo constituyen de manera directa los socios que forman parte de la Asociación 25 de junio, así como también las 140 personas que conforman las familias de los encuestados, quienes verificarán el beneficio de la información producto del presente estudio.

Aproximadamente hace tres años, los miembros de la Asociación 25 de junio de los Recintos Cacheli Grande y Miraflores del Cantón Ventanas, localizadas entre las ciudades de Ventanas y Echeandía en el límite de las provincias de Bolívar y Los Ríos, con 32 socios activos, se han visto en la necesidad de construir un sistema de aprovisionamiento para riego a través de albarradas.

Ventanas es uno de los cantones que más maíz produce en la provincia y el Litoral ecuatoriano, por lo que se la cataloga como la Capital Maicera del Ecuador. Cada año siembra alrededor de 40.000 hectáreas que producen aproximadamente 40 millones de quintales (Prefectura de Los Ríos, 2010).

Como establece la constitución:

“Se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, *sumak kawsay*” (Constitución de la República del Ecuador, 2008).

## Métodos

Se procedió a recopilar información bibliográfica de libros (físicos y digitales), realizar encuestas, cuestionarios, entrevistas con los miembros de la asociación y además se llevó un registro fotográfico del estado actual de las albarradas, los cuales sirvieron para la elaboración del Diagnóstico Socio-Ambiental.

El registro de las albarradas se realizó por medio de coordenadas geográficas UTM (Fernández-Coppel), que se tomaron con un GPS marca Garmin.

## Resultados

Se realizó un inventario de 42 albarradas ubicadas en los Recintos Cacheli Grande y Miraflores, estas fueron registradas en varias salidas de campo en las propiedades de los socios, por medio de coordenadas con Datum U.T.M WGS84. Con estos datos se procedió a realizar un mapeo de la ubicación y distribución de las albarradas (Fig. 1).

El inventario realizado se lo llevó a cabo elaborando un código alfanumérico (INPC, 2014) de registro internom escrito sin espacios, unido exclusivamente por guiones medios, y se colocó en el siguiente orden AA25J-000 (Fig. 2), donde:

AA25J = Albarrada Asociación 25 de junio  
 000 = Corresponde a el número de albarrada existente registrada.

Se encuestó a un total de 32 socios de la Asociación 25 de junio, para obtener testimonios orales y escritos con el propósito de averiguar hechos, opiniones, datos relevantes de la zona de estudio, se realizó un diseño de 31 preguntas para determinar mediante información cruzada las condiciones de las albarradas, beneficios sociales y problemas ambientales de acuerdo al criterio de los dueños de estas.



Figura 1. Registro de inventario de albarradas.

Se realizó el diagnóstico socio-ambiental agrupando los resultados de las encuestas en 3 componentes: Social, económico y ambiental.

- **Componente Social.**- Se refiere a la composición de la población como por ejemplo, cantidad de individuos, localización, distribución por sexo y en grupos según su identidad cultural, así como los servicios sociales, vivienda, salud, educación ya que existe la preocupación y necesidad de considerar a los grupos de involucrados, beneficiarios últimos como una parte activa y transcendental de los proyectos (Herrera Franco, 2012).

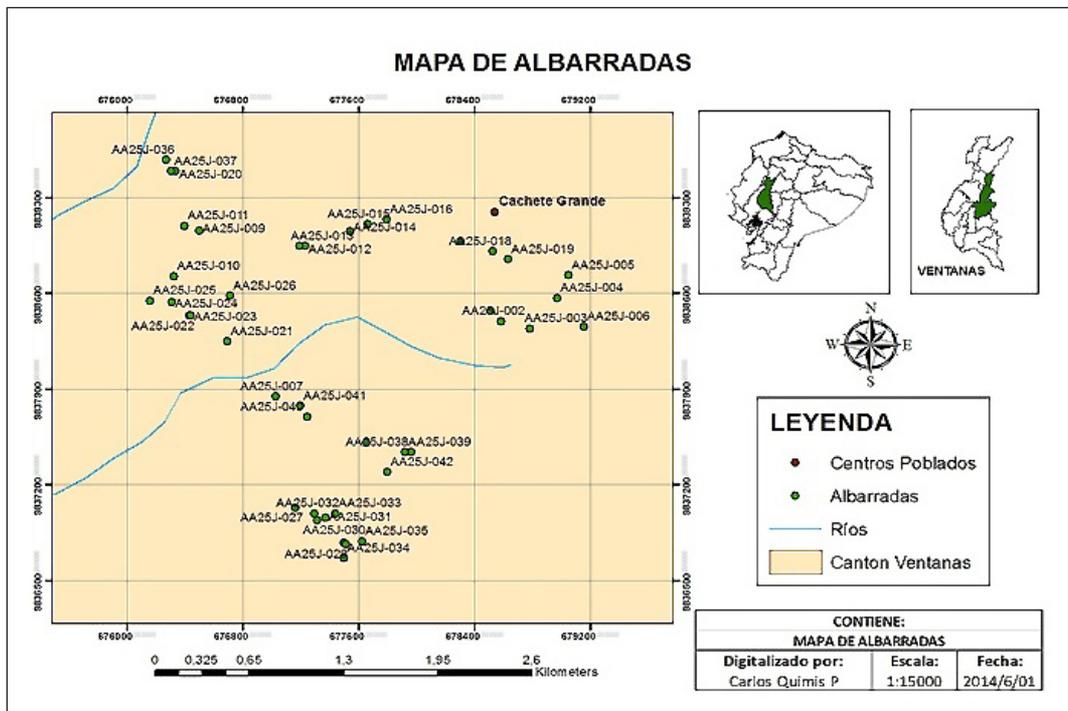


Figura 2. Albarradas inventariadas en los recintos Cacheli Grande y Miraflores del cantón Ventanas, Ecuador.

- **Componente Económico.**- Está relacionado con las actividades productivas de la región, volumen de producción y comercialización de los mismos, es decir, los componentes económicos son las actividades del hombre y utiliza los recursos de la naturaleza.
- **Componente Ambiental.**- Comprende las características respecto al suelo, vegetación, clima, recursos hídricos, entre otros, es decir, todos los componentes bióticos y abióticos que existen en la naturaleza. Este componente tiene por objeto contribuir al mejor uso del Ambiente y de los Recursos Naturales, preservando su potencialidad de producción e introduciendo el uso de tecnologías no degradantes (Contreras, 1991).

### Resultados del componente Social

Entre los resultados del componente social se presenta la población según las edades y sus respectivos porcentajes (Tabla 1).

Tabla 1. Socios por su edad y en porcentajes.

Edad/años	Porcentaje
51 - 60	25
31 - 40	22
21 - 30	3

Es indispensable que las personas más jóvenes formen parte de la asociación para así fortalecerla y que los conocimientos de los mayores no se pierdan. Respecto al género de los socios se puede apreciar una clara diferencia entre hombres 66% y mujeres 34%.

En relación a la cultura y costumbres de los socios se pudo identificar que un porcentaje alto 66% de socios, se identifican como montubios mientras que el 34% de socios se identifica como mestizos.

A partir de las respuestas de los socios respecto a el motivo de la construcción de las albarradas, se obtuvo que el 81% de los socios construyeron sus albarradas debido a la falta de agua en verano debido a que esta escasea mucho en esta zona y ellos necesitan buscar autoabastecerse, un 3% construyeron albarradas para fines recreativos, el 16% del total de socios no tienen albarradas (Fig. 3).

Debido a la falta de agua en verano se procedió a la construcción de las albarradas como una obra entregada por la prefectura de Los Ríos, en lo que se estipula fue entre el año 2010 y 2011 de acuerdo a datos obtenidos a través de los socios.

Adicionalmente, se estableció que el mayor porcentaje de los socios afirmó que el principal propósito para la construcción de las albarradas es para el mantenimiento de los cultivos agrícolas, principalmente para el riego de cacao (*Theobroma cacao L.*) (fig. 4).

Con respecto a la capacidad de captación de las albarradas, los resultados expresan que en el mes de noviembre escasea el agua; algunas captan muy poca agua y en otras el agua que logran captar se filtra demasiado rápido y se seca.

Según la estimación respecto a las dimensiones, se obtuvo que el promedio de las albarradas construidas es de 10 m de largo por 8 metros de profundidad (Fig. 5), la albarrada más pequeña tiene 6 m de largo y 4 metros de ancho, mientras que la más grande tiene unos 25 m de largo.

Cabe recalcar que la albarrada más larga es en la que se juntan 2 albarradas formando un solo reservorio que da como medida unos 50 m de largo por 12 m de ancho, así mismo, la profundidad media de estas albarradas es de 7 u 8 m ya que sólo hasta ese punto llegaba el brazo hidráulico de la retroexcavadora utilizada.

Con respecto al componente social, los recintos involucrados cuentan con dos escuelas, una ubicada en el recinto Cacheli Grande llamada "Escuela Pueblo Viejo" y la otra ubicada en el recinto Miraflores llamada "Escuela Ventanas"; sin embargo, carecen de centro de atención médica, el más cercano se encuentra en el recinto Los Ángeles.

### Resultados del componente económico

En relación a la ocupación de los socios el 75% de las personas se dedican a la agricultura, el quehacer doméstico es la segunda ocupación, con un 19%, el restante se dedica a otras actividades.

En cuanto a la modalidad de empleo, los socios en su mayoría son trabajadores independientes.

Respecto a la utilización de las tierras, el mayor porcentaje de personas utiliza sus tierras para cultivos transitorios como el maíz (*Zea mays L.*) en primer lugar y a la vez utilizan sus tierras para cultivos permanentes como el café (*Coffea spp.*) o cacao (*Theobroma cacao L.*) (INIAP, 1987), no obstante también podemos encontrar tierras con sembríos de árboles, como la teca (*Tectona grandis L.s.*) y la boyá (*Ochroma pyramidale Cav. ex Lam.*), además también encontramos tierras con predomios de vegetación natural.

Se estableció que las personas utilizan más de 5 has. para cultivos agrícolas transitorios y varias hectáreas de tierras son destinadas al cultivo de cacao y café, algunas de estas personas arriendan tierras para poder realizar sus cultivos transitorios (Fig. 6).

La frecuencia de estos cultivos agrícolas se los realiza una vez al año; cuando la lluvia lo permite se lo puede realizar hasta dos veces al año (Fig. 7).

La fuente de agua para los cultivos agrícolas es el agua lluvia que cae en invierno, en verano riegan los

cultivos de cacao o café con agua de las albarradas o agua de algún río cercano.

### Resultados del componente Ambiental

En lo que respecta al cuidado y mantenimiento de las albarradas, la mayoría de las personas se encarga de limpiar las orillas y cortar las malezas, así como sembrar “sombras” como cañas guadúa (*Guadua angustifolia*; Fig. 8), tacuara (*Guadua trinii*), paja toquilla (*Carludovica palmata*), bijao (*Calathea lutea*), árboles de boya/balsa (*Ochroma pyramidale*), nigüito (*Muntingia calabura*), ciruelas/ovo de la Costa (*Spondias spp.*) y arbustos para mantener el agua de estas albarradas por mayor tiempo y más limpia.

El 16% de los involucrados afirma que no se les da mantenimiento a las albarradas en la época invernal, debido a que en esa temporada no la utilizan, otros no le dan mantenimiento ni en invierno ni en verano. Un 3% de los socios afirma que cuando podían le sacaban la tierra que entraba a las albarradas para que no le disminuya la profundidad, además, ciertas albarradas contienen peces.

Con respecto a la calidad de agua de las albarradas, según el criterio de los socios el 47% afirma que el agua es buena, el 13% señalan que es de excelente calidad, mientras que el 13% dicen que el agua de su albarrada es inadecuada (Fig. 10).

Según los resultados del Análisis de Calidad de Agua para Riego obtenidos por el laboratorio del INIAP, el agua analizada cumple los parámetros establecidos por lo cual el agua sirve para riego de los cultivos agrícolas sin afectar al cultivo o suelo involucrado (Tabla 2).

Cabe recalcar que cada una de las nueve albarradas seleccionadas para su análisis en el laboratorio, presentan desechos, como residuos de envases de plaguicidas (Fig. 9).

Durante la estación invernal, el agua de la lluvia fluye hacia los esteros más cercanos que son de comportamiento estacional (intermitentes). Ocasionalmente, el agua que está en las albarradas rebosa y entonces sigue su curso natural, según la pendiente, hacia los esteros.

En lo que respecta al manejo de los recursos naturales, una albarrada se la construye para 2 o 3 usuarios, por lo general tienen una profundidad de 8 a 9 m y medidas de 20 x 5 m o 10 x 10 m, dependiendo de la cantidad de hectáreas que posean los agricultores. Una albarrada abastece para 5 o 10 ha. de cultivos y se las construyó para riego de cacao y café (Prefectura de Los Rios, 2014).

Los pagos anuales por concesión de agua para uso doméstico y/o agrícola son de aproximadamente \$2, entre los pozos debe haber una distancia mínima de 500 m para que no haya afectación alguna. Las concesiones para uso agrícola e industrial tienen un



Figura 3. Albarrada utilizada por personas para bañarse (cód. AA25J-019)



Figura 4. Albarrada ubicada dentro de un cultivo de cacao (*Theobroma cacao L.*) (cód. AA25J-013)



Figura 5. Albarrada promedio.



Figura 6. Cultivo de cacao (*Theobroma cacao L.*) con sistema de riego por aspersión.



Figura 7. Cultivos transitorios de maíz.



Figura 8. Guadua angustifolia sembrada en las orillas de las albarradas.



Figura 9. Restos de envases de plaguicida, cercano a estero y albarrada.

tiempo de 10 años renovables. Las concesiones para uso doméstico son indefinidas (SENAGUA, 2014).

Se procedió a realizar breves charlas a la comunidad acerca de lo que son las albarradas, su historia, mantenimiento, beneficios e impactos.

### Discusión

Del total de socios, un 13% afirmó que su agua es de dudosa calidad, pero de acuerdo a los análisis de agua para riego realizados en el INIAP se confirma que el agua, de las albarradas analizadas, cumple con indicadores de calidad para ese fin.

Los registros de recursos naturales a través de inventarios permiten llevar un seguimiento para su manejo, de manera que sirve para que los socios y autoridades competentes puedan hacer uso de este, de modo que la información generada no sea producida solamente para los archivos de las bibliotecas (Dublín, 1983).

Las personas están conscientes de que el azolvamiento en ciertas zonas es evidente y que una medida para controlar la sedimentación y asolvamiento es el método del dragado (DePablo, 1995). En el caso de las albarradas, la medida es retirar los sedimentos a través de una máquina buldozer. Aunque este método es solamente correctivo ya que, transcurrirle suficiente tiempo, el azolve volverá a acumularse.

La capacitación Ambiental es imprescindible para los socios, quienes están de acuerdo. La educación ambiental debe ser un proceso continuo y de retroalimentación mediante la experimentación constante. El conocimiento debe ser transmitido entre las diferentes generaciones, para que los jóvenes pobladores no desmejoren los avances logrados (Sánchez Cortéz, 2010)

En cuanto al equilibrio hídrico de la zona, KASHYAPA A. S. YAPA, recomienda la construcción de pequeñas albarradas para abastecimiento individual de agua. Sin embargo, antes de construirlas debemos analizar su comportamiento frente a una lluvia fuerte, con la finalidad de que no se constituya ningún riesgo para sus vecinos aguas abajo, debido a que algunos de los vecinos de los socios se han visto afectados por la construcción de albarradas a corta distancia.

Tabla 2.- Resultados de calidad de agua para riego. INIAP 2014

Nº Laboratorio	Identificación del Lote	µS/cm	mg/L					meq/L				pH	RAS	PSI	% Na	Clase
			CE	Ca	Mg	Na	K	*CO3	*HCO3	*Cl	*SO4					
1644	Código AA25J-001	134	5.2	2.1	13.2	3.3	ND	0.8	0.3	<LC	6.5	1.0	1.0	57.0	C1S1	
1644	Código AA25J-002	90	6.6	2.7	11.4	2.9	ND	0.8	0.2	<LC	6.7	1.0	<1	47.0	C1S1	
1644	Código AA25J-003	87	6	2.3	9.6	3	ND	0.7	0.3	<LC	7.1	1.0	<1	46.0	C1S1	
1644	Código AA25J-004	84	5.4	2	8.8	2.4	ND	0.8	0.2	<LC	6.2	1.0	<1	47.0	C1S1	
1644	Código AA25J-007	68	5.4	2.1	15.2	2.4	ND	0.6	0.5	<LC	6.2	1.0	1.0	60.0	C1S1	
1644	Código AA25J-013	64	4.32	1.7	10.6	4.24	ND	0.5	0.6	<LC	6.3	1.0	<1	56.0	C1S1	
1644	Código AA25J-019	67	5.3	1.9	11.4	3.1	ND	0.4	0.3	<LC	6.3	1.0	<1	54.0	C1S1	
1644	Código AA25J-020	79	5.5	1.7	10.4	5.5	ND	0.4	0.8	<LC	6.8	1.0	<1	52.0	C1S1	
1644	Código AA25J-038/039	112.7	10.6	3.6	11	4.3	ND	0.6	0.8	<LC	6.7	1.0	<1	37.0	C1S1	

Si bien La Prefectura de Los Ríos establece que una albarrada se la construye para 2 ó 3 usuarios, abastece de 5 a 10 ha. de cultivos, destinando las albarradas sólo para riego de café y cacao, esto no se cumple ya que cada uno de los socios llega a tener entre una a dos, lo cual según también contradice lo establecido, que la distancia mínima entre pozos y/o albarradas debe de ser de 500 m para que no haya afectación alguna (SENAGUA, 2014).

## Conclusiones

Los beneficios de las albarradas en esta área son la recarga de los acuíferos a largo plazo y abastecer de agua a los sectores involucrados en la investigación, así como, mantener la cobertura vegetal nativa en su alrededor.

Basado en los parámetros de calidad de agua para riego, la calidad de las aguas de las nueve albarradas referenciales dentro del área de estudio es apta, además, se la puede llegar a utilizar para consumo humano siempre y cuando se realice un tratamiento adecuado.

Se detectó la erosión hídrica de varias albarradas generando que el arrastre de los sedimentos se deposite en los cauces fluviales intermitentes en sectores más bajos y cause azolvamiento.

## Recomendaciones

Es necesario que los socios concesionen adecuadamente sus fuentes de agua para consumo humano, como son los pozos, esteros y las fuentes de agua para riego (albarradas).

Establecer políticas internas para el manejo correcto y mantenimiento de las albarradas.

El manejo de los desechos de envases vacíos de plaguicidas es indispensable para garantizar que el agua que se encuentra en las albarradas, esteros, riachuelos, pozos y aguas subterráneas, no sea afectada.

## Referencias

Constitución de la República del Ecuador. (2008). Ciudad Alfaro, Montecristi, provincia de Manabí: Asamblea Constituyente.

Contreras, H. (1991). *Análisis de Impacto Ambiental y componente ambiental y de los Recursos Naturales*. Obtenido de Libros Google: <http://books.google.com.ec/books?id=ZM8qAAAAYAAJ&pg=PA1&dq=componente+ambiental&hl=es&sa=X&ei=4CH-U46dJ67NsQSeYKQBg&ved=0CBwQ6AEwAA#v=onepage&q=componente%20ambiental&f=false>

DePablo, A. (1995). *CICENA*. Obtenido de Centro de Formación y Comunicación Ambiental de Norte America C.A.: <http://www.ciceana.org.mx/recursos/Asolvamiento.pdf>

Dublín, P. (1983). *Inventario de Recursos Naturales en países en vías de desarrollo: El caso de Centro América*. Obtenido de Libros Google: <http://books.google.com.ec/>

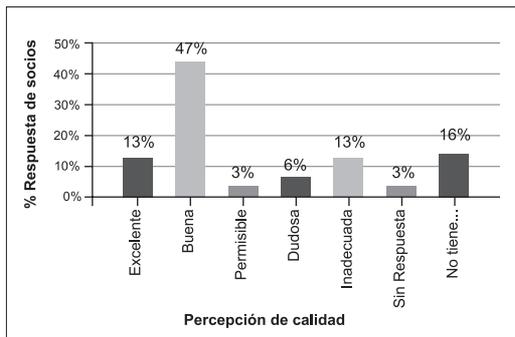


Figura 10. Calidad de agua de las albarradas.

books?id=9-INAQAIAAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\_ge\_summary\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Fernández-Coppel, I. (s.f.). *Las Coordenadas Geográficas y la Proyección UTM*. Obtenido de <http://www.cartesia.org/data/apuntes/cartografia/cartografia-geograficas-utm-datum.pdf>

Herrera Franco, G. (15 de Mayo de 2012). *Facultad de Ciencias Sociales y Humanistas - ESPOL*. Obtenido de [http://www.fen.espol.edu.ec/herrerafrancogricelda\\_lacomponentesocialenlosproyectos](http://www.fen.espol.edu.ec/herrerafrancogricelda_lacomponentesocialenlosproyectos)

INIAP, I. (1987). *MANUAL AGRÍCOLA DE LOS PRINCIPALES CULTIVOS DEL ECUADOR*. QUITO, ECUADOR.

INIAP, L. (2014). *IFORME DE ANÁLISIS QUÍMICO DE AGUAS*. Km 26 vía Durán-Tambo.

Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, I. (2000). *III Censo Nacional Agropecuario*. Recuperado el 2013, de [http://www.inec.gob.ec/estadisticas/?option=com\\_content&view=article&id=111&Itemid=126](http://www.inec.gob.ec/estadisticas/?option=com_content&view=article&id=111&Itemid=126)

KASHYAPA A. S. YAPA. (2013). *Prácticas Ancestrales de crianza de agua*.

Marcos Pino, J. G., & Bazarco Osorio, M. (2006). *Albarradas y Camellones en la Región Costera del Antiguo Ecuador*. En F. Valdez, *Camellones y Albarradas: Contexto Social, Usos Y Retos del Pasado y del Presente* (págs. 94-108). Quito, Ecuador: ABYA YALA.

Marcos, J. (2004). *Las Albarradas del Ecuador: Rescate del manejo sustentable de la biodiversidad* (Vol. I). (J. Marcos, Ed.) Guayaquil: Camd.

*Prefectura de Los Ríos*. (08 de Abril de 2010). Recuperado el 2 de Diciembre de 2013, de Portal Gobierno Provincial Los Ríos: [http://www.los-rios.gob.ec/index.php?option=com\\_content&view=article&id=83:68&catid=1:ultimasnoticias](http://www.los-rios.gob.ec/index.php?option=com_content&view=article&id=83:68&catid=1:ultimasnoticias)

Prefectura de Los Ríos, Á. (febrero de 2014). *Contrucción de Albarradas*. (A. Escobar Albán, Entrevistador)

Sánchez Cortéz, J. (2010). *Manejo Sustentable de Puntos de Interes Gesoturísticos (PIGT)*, Sobre la Base de la Caracterización y Evaluación, en la Península de Santa Elena. *Tesis de Grado para la obtención del título de Magister en Ciencias con Énfasis en Manejo Sustentable de Biorecursos y el Medio Ambiente*. Guayaquil, Guayas, Ecuador.

SENAGUA, C. (Febrero de 2014). *Concesión de reservorios de agua*. (A. Escobar, Entrevistador)

## Normas para la publicación de artículos “Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales”

### Guidelines for publishing articles “Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales”

La Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales, es una revista científica-académica de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil. Su objetivo es contribuir a la producción científica, su socialización y debate, en el ámbito de las Ciencias Naturales y Ambientales. La publicación es semestral en los meses de julio y diciembre.

Los autores pueden someter sus trabajos a la Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales, en español o inglés. Deben asumir los siguientes lineamientos, los artículos que no lo sigan serán rechazados o devueltos para que se realicen las correcciones pertinentes:

#### Tipos de artículos

1. La Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales publicará artículos sobre diversos aspectos de las Ciencias Naturales, pudiendo ser de cuatro tipos:

- De investigación, que reportan investigación básica original relacionada con los campos de las ciencias antes descritas, usando enfoques cualitativos, cuantitativos o mixtos.
- De revisión, que contribuyan al progreso de la producción de conocimiento en alguno de los campos de las ciencias antes descritas. Se trata de manuscritos orientados a sintetizar investigación científica previa, a discutir problemas metodológicos o conceptuales.
- De discusión, que contribuyan a la discusión de los diversos aspectos de las Ciencias antes descritas.
- De ensayo.

*No se publicarán artículos que expresen exclusivamente opiniones, anécdotas o interpretaciones no fundamentadas.*

#### Originalidad

2. Los trabajos deben ser originales e inéditos. No deben haber sido presentados en otra editorial simultáneamente.

#### Componentes de los escritos

3. La estructura de los documentos presentados contendrán los siguientes apartados:

a) Título

- b) Resumen  
c) Palabras clave  
d) Introducción  
e) Materiales y métodos  
f) Resultados  
g) Discusión  
h) Conclusiones  
i) Recomendaciones  
j) Referencias

4. El “Título” debe incluir la siguiente información:

- a) Título del artículo, éste debe estar en Español e Inglés.  
b) Nombre completo del autor o de los autores; éste debe tener un sólo apellido, en caso de incluir el apellido materno los dos apellidos deben estar unidos con un guión, por ejemplo: Torres-Pinto.  
c) Nombre y dirección completa de la institución, centro de estudio o trabajo actual a la que pertenece y posición que desempeña, incluyendo números telefónicos y correo electrónico.

*Los datos personales facilitados por los autores a esta revista se usarán exclusivamente para los fines declarados por la misma, no estando disponibles para ningún otro propósito.*

5. El resumen debe estar escrito en español e inglés y no debe superar las 200 palabras. Éste debe resumir la información sobre el propósito, objetivos e hipótesis del trabajo, así como su procedimiento, resultados y conclusión.  
6. Después del resumen se indicarán cuatro palabras clave en español e inglés, esas deben de estar escritas en orden alfabético según cada idioma. Con este fin se utilizará el Tesoro de la UNESCO (Consulte en: <http://databases.unesco.org/thesp/>).  
7. Las referencias deben de incluirse todas y únicamente las publicaciones citadas en el texto.

#### Normas de estilo

8. Los trabajos deben ser compatibles con Microsoft Word. La extensión no debe superar las 7.000 palabras, incluyendo el título, el resumen, las referencias bibliográficas, tablas y figuras.  
9. Deben estar configurados en formato A4, con letra Times New Roman de 12 puntos con interlineado de 1,5, a una columna, justificado al margen izquierdo.

\* Correspondencia de la revista:

E-mail: [revistacienciasnaturales@ug.edu.ec](mailto:revistacienciasnaturales@ug.edu.ec)



10. Para la entrega del documento, las tablas y las figuras deben estar aparte del archivo, no incluido.
11. Las imágenes, las fotografías en blanco y negro deben tener una resolución mínima de 300 dpi, las fotografías a color deben tener una resolución mínima de 600 dpi y las ilustraciones o dibujos en blanco y negro deben tener una resolución de 1.200 dpi. en formato .jpg, .tiff, .raw o psd.
12. Las tablas deberán estar en excel o algún editor de hojas de cálculo.
13. Se recibirán un máximo de 5 figuras y 5 tablas por artículo, salvo resolución editorial para casos particulares.
14. Toda tabla y figura debe estar citado dentro del texto del manuscrito.
15. Las leyendas de las tabla o figuras, se deben colocar al final del documento, después de la bibliografía, debidamente numeradas.
16. Para la redacción de los trabajos los autores deberán apearse a las pautas del Manual de Estilo de Chicago de acuerdo con los siguientes ejemplos:

Cuando se haga referencia de manera general a una obra, se escribirá el apellido del autor, el año de publicación y el número de página, dentro de un paréntesis: (Alberti, 2002), o en el caso de dos autores (Rodríguez y García: 1998); si son más de dos autores se anotará (Sánchez *et al.*, 2003).

En el caso de citar obras del mismo autor publicadas en el mismo año, esas se ordenarán alfabéticamente y se les distinguirá con una letra minúscula después del año: "La poesía no puede sacar partido del arrepentimiento, pues no bien se plantea este último, el escenario es interno" (Kierkegaard, 1992a)... "Un momento así exige tranquilidad, no debe ser perturbado por la reflexión" (Kierkegaard, 1992b). Se debe citar en orden cronológico.

La bibliografía debe estar escrita en el mismo sistema, ordenada alfabética y cronológicamente según corresponda. No usar mayúsculas continuas. Los apellidos y nombres de los autores deben estar completos, es decir, no deben anotarse solo abreviaturas. Como norma general, los títulos de libros se reseñarán en cursiva; y los títulos de artículos con tipografía normal; véanse los siguientes ejemplos:

**Para revistas:**

- Van Beusekom, C. F. 1971. Revision of *Meliosma* (Sabiaceae) section *Lorenzanea* excepted, living and fossil, geography and phylogeny. *Blumea* 19: 355-529.
- Johnson, L. A. S. & B. G. Briggs. 1975. On the Proteaceae: The evolution and classification of a southern family. *Bot. Jour. Linnean Soc.* 70:83-182.

**Para libros:**

- Holdridge, L. R. 1967. *Life zone ecology*. Edición revisada. Tropical Science. Center. San José, Costa Rica.

- Pennington, T. D. 1997. *The genus Inga, Botany*. The Royal Botanic Gardens, Kew, United Kingdom.
- Jørgensen, P. M. & S. León-Yáñez. 1999. *Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador*. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 75: 1-1181.

**Para series monográficas:**

- Berg, C. C. 1998. Moraceae (excl. *Ficus*). *Flora of Ecuador* 60: 1-128.
- Henderson, A. 2000. *Bactris* (Palmae). *Flora Neotropica Monograph* 79: 1-181.

**Para capítulos de libros:**

- Herrera, W. 1985. Clima de Costa Rica. En: L. D. Gómez (ed.). *Vegetación y clima de Costa Rica*. Vol. 2. Editorial Universidad Estatal a Distancia, San José, Costa Rica.
- Herrera-MacBryde, O., T. R. Maldonado, V. Jiménez & K. Thomsen. 1997. Osa Península and Corcovado National Park Costa Rica. En: S. D. Davis, V. H. Heywood, O. Herrera-MacBryde, J. Villa-Lobos & A. C. Hamilton (eds.). *Centres of Plant Diversity. A guide and strategy for their conservation* Vol. 3, World Wildlife Fund, International Conservation Union.

**Para referencias a sitios web:**

**Para publicaciones disponibles en línea:**

- Bestland, E. A. & G. Retallack. 1994. *Geology and paleoenvironments of the Clarno unit, John Day Fossil Beds National Monument, Oregon. Final report*. [http://www.nps.gov/history/history/online\\_books/joda/besttland-retallack1/index.htm](http://www.nps.gov/history/history/online_books/joda/besttland-retallack1/index.htm) Consulta Agosto 2014.

**Para publicaciones disponibles en línea que están en permanente actualización:**

- Stevens, P. F. 2001, en adelante. Angiosperm Phylogeny Website. Version 9, June 2008 [en actualización continua]. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.

**Para páginas web de instituciones:**

- The New York Botanical Garden (NYBG). Consulta 2010. *The C. V. Starr Virtual Herbarium* <http://sciweb.nybg.org/science2/VirtualHerbarium.asp> The New York Botanical Garden, Bronx, New York.

**En caso de haber dos o más publicaciones de un mismo autor:**

- Cornejo, X. 2009. Two new species of *Pentagonia* (Rubiaceae, Hippotidae) from Colombia and Ecuador. *Novon* 19:25-31.
- . 2010. *Pentagonia lanciloba*: A new Rubiaceae (Hippotidae) from northwestern Ecuador. *Brittonia* 62:7-11.

**En caso de haber dos o más publicaciones de un mismo autor y durante el mismo año, agregar un literal después del año:**

Cornejo, X. & H. H. Iltis. 2008a. The reinstatement of *Cappariastrum* (Capparaceae). *Harvard Pap. Bot.* 13:229-236.

---- & ----. 2008b. A revision of the American species of the genus *Crateva* (Capparaceae). *Harvard Pap. Bot.* 13:121-135.

**Proceso editorial**

17. El documento recibido por el editor responsable pasa por dos procesos de selección:
  - a) El primero se lleva a cabo en el Consejo Editorial Interno, quien determinará la pertinencia y solvencia científica del manuscrito.
  - b) El segundo proceso lo realiza el Consejo Editorial Externo, según el sistema de revisión por pares (doble ciego). En el caso de resultados discrepantes se remitirán a un tercer dictamen, el cual será definitivo.
18. El Consejo Editorial notificará a los autores la decisión de los evaluadores en cuanto a la aceptación, solicitud de revisión o rechazo del artículo.
19. Si el artículo es aceptado para la publicación, los editores combinarán los comentarios de los revisores con sus propias observaciones editoriales y regresarán el manuscrito al autor principal para su revisión final. Para su aceptación final, el autor debe entonces realizar las correcciones y cambios necesarios. Usualmente el tiempo dado para los cambios no será mayor a dos semanas.
20. La coordinación editorial de la revista se reserva el derecho de hacer corrección de estilo y cambios editoriales que considere necesarios para mejorar el trabajo.
21. Una vez diagramado el texto, se enviará una prueba de composición del artículo para corregir errores y su aprobación. En este punto no será posible hacer cambios en el manuscrito, sino solamente corregir errores. El autor debe retornar la prueba de impresión a los editores máximo una semana después de haberla recibido.
22. Si un artículo es publicado en la Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales, el artículo será subido a la página web: <http://www.revistacienciasnaturales.com>

**Declaración de responsabilidad**

23. Como parte del proceso de envío, se requiere que los autores indiquen si sus envíos cumplen con las siguientes indicaciones:
  - a. El envío no ha sido publicado previamente ni se ha enviado previamente a otra revista (o se ha proporcionado una explicación al Editor responsable).
  - b. El fichero enviado está en formato Microsoft Word o compatible, y no tiene una extensión superior a 7.000 palabras.
  - c. El texto tiene interlineado 1.5; el tamaño de fuente es 12 puntos y el tipo es Times New Roman; y todas las ilustraciones, figuras y tablas están dentro del texto en el sitio que les corresponde y no al final.
  - d. El texto cumple con los requisitos bibliográficos y de estilo de la norma Chicago.
  - e. La página "Título" incluye todos los datos identificativos de los autores.

**Derechos de autor**

24. Las obras que se publican en esta revista están sujetas a los siguientes términos:
  - a. El Servicio de Publicaciones de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil (la editorial) conserva los derechos patrimoniales (copyright - © 2015, Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil, Ecuador) de las obras publicadas, y favorece y permite la reutilización de las mismas bajo la licencia de uso indicada en el literal b.
  - b. Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales se publica en versión escrita bajo una licencia <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/ec/>. Se pueden copiar, usar, difundir, transmitir y exponer públicamente, siempre que: i) se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista e editorial); ii) no se usen para fines comerciales; iii) se mencione la existencia y especificaciones de esta licencia de uso.

**Presentación**

25. Los artículos deben ser enviados mediante archivos adjuntos al e-mail: [revistacienciasnaturales@ug.edu.ec](mailto:revistacienciasnaturales@ug.edu.ec), con copia al editor responsable: [carmenbonifaz@hotmail.com](mailto:carmenbonifaz@hotmail.com).

# Contenidos de la Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales Vol. 9(1)

Detección del parásito <i>Cryptosporidium</i> sp. en caracoles <i>Lissachatina fulica</i> de las provincias del Guayas y Los Ríos, Ecuador / Detection of the parasite <i>Cryptosporidium</i> sp. in <i>Lissachatina fulica</i> snails at the provinces of Guayas and Los Ríos, Ecuador .....	1
.....Biutty Cazorla Caicedo, Luiggi Martini Robles, Marco Erazo Chiguano, Félix Man-Ging Freire & Luis Solórzano Álava .....	
Prevalencia del nemátodo <i>Angiostrongylus cantonensis</i> en el Caracol Gigante Africano ( <i>Achatina fulica</i> ), en el período 2012 y 2013 en varios sectores de la ciudad de Guayaquil, Ecuador / Prevalence of the nematode <i>Angiostrongylus cantonensis</i> in the Giant African Snail ( <i>Achatina fulica</i> ), during 2012 and 2013 period in several areas of Guayaquil, Ecuador.....	5
Francisco Sánchez-Amador & Félix Man-Ging .....	
Estudios de control biológico de la polilla del tomate, plaga reciente en España / Studies of biological control of the tomato moth, a recent pest in Spain .....	14
..... Jaime E. Araya, Sara Hernando & Alberto Fereres ..	
Halotolerancia y síntesis enzimática en <i>Pseudomonas</i> cf. <i>fluorescens</i> aislada de las piscinas de Ecuasal, provincia de Santa Elena, Ecuador / Halotolerance and enzymatic synthesis by <i>Pseudomonas</i> cf. <i>fluorescens</i> isolated from Ecuasal salt ponds, province of Santa Elena, Ecuador .....	21
Jaime Santos & José Villalta .....	
Análisis Socio-Ambiental de la utilización de Albarradas en los recintos Cacheli Grande y Miraflores del cantón Ventanas, Ecuador / Socio-Environmental Analysis of the use of Albarradas in the enclosures Cacheli Grande and Miraflores, Ventanas Parish, Ecuador .....	26
.....Arlys E. Escobar Albán, Wilson Pozo Guerrero & José Antepara Basurto .....	
Normas para la publicación de artículos en la Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales / Guidelines for publishing articles in the Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales	