



**Determinación de la actividad biológica de *Pochonia chlamydosporia* en conjunto con ácido bórico / extracto de ají, sobre las babosas.**

Julian Zapata Duque

Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Bioquímico

Asesores

Laura Inés Pinilla Mendoza. Bióloga, PhD en Biotecnología.

Dagoberto Castro Restrepo. I.A. PhD en Ciencias agrícolas.

Universidad de Antioquia

Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Química

Ingeniería Bioquímica

El Carmen de Viboral, Antioquia, Colombia

2023

---

<b>Cita</b>	(Zapata Duque, 2023)
<b>Referencia</b>	Zapata Duque, J (2023). <i>Determinación de la actividad biológica de Pochonia chlamydosporia en conjunto con ácido bórico / extracto de ají, sobre las babosas.</i>
<b>Estilo APA 7 (2020)</b>	[Trabajo de grado]. Universidad de Antioquia, El Carmen de Viboral, Colombia.

---



Centro de Documentación Ingeniería (CENDOI)

**Repositorio Institucional:** <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - [www.udea.edu.co](http://www.udea.edu.co)

**Rector:** John Jairo Arboleda Céspedes.

**Decano/Director:** Julio César Saldarriaga Molina.

**Jefe departamento:** Lina María González Rodríguez.

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

## **Dedicatoria**

A Dios y mi familia.

## **Agradecimientos**

A Bioquirama SAS, a mis compañeros Sergio, Zuly y Cielo, de manera especial a Rodrigo Patiño.

## Tabla de contenido

Resumen .....	9
Abstract .....	10
Introducción .....	11
1 Objetivos .....	13
1.1 Objetivo general.....	13
1.2 Objetivos específicos.....	13
2 Marco teórico .....	14
2.1 Generalidades de <i>Pochonia chlamydosporia</i> .....	14
2.1.1 Conidiogénesis.....	14
2.1.2 Acción enzimática.....	14
2.2 Ácido bórico .....	16
2.3 Extracto de ají.....	16
3 Metodología .....	17
3.1 Preparación medios de cultivo.....	17
3.1.1 Medio de activación.....	17
3.2 Pruebas de compatibilidad.....	17
3.2.1 Prueba de compatibilidad <i>Pochonia chlamydosporia</i> con ácido bórico.....	17
3.2.2 Prueba de compatibilidad <i>Pochonia chlamydosporia</i> con extracto de ají.....	18
3.3 Procedimiento para la visualización de formación de conidios por parte de <i>Pochonia chlamydosporia</i> .....	18
3.4 Procedimiento para recolección de babosas .....	18
3.5 Procedimiento para la determinación de la actividad biológica de <i>Pochonia chlamydosporia</i> con ácido bórico / extracto de ají sobre las babosas .....	19
4 Resultados .....	21

4.1 Crecimiento radial de <i>Pochonia chlamydosporia</i> .....	21
4.2 Crecimiento radial de <i>Pochonia chlamydosporia</i> en conjunto con extracto de ají .....	21
4.3 Crecimiento radial de <i>Pochonia chlamydosporia</i> en conjunto con ácido bórico .....	22
4.4 Visualización formación de conidios.....	23
4.5 Pruebas de patogenicidad sobre las babosas.....	24
4.5.1 Porcentaje de mortalidad para las pruebas de patogenicidad sobre las babosas.....	25
4.5.2 Análisis estadístico tratamiento con extracto de ají.....	25
4.5.3 Análisis estadístico tratamiento con ácido bórico.....	26
4.5.4 Prueba de patogenicidad con extracto de ají al 25%.....	26
4.5.5 Prueba de patogenicidad con ácido bórico 500 ppm .....	27
4.5.6 Seguimiento de pérdida del apetito y del movimiento sobre las babosas con el bioproducto que contenía extracto de ají .....	27
4.5.7 Seguimiento de pérdida del apetito y del movimiento sobre las babosas con el bioproducto que contenía ácido bórico .....	28
4.6 Infección de huevos .....	29
5 Análisis.....	30
6 Conclusiones .....	33
7 Recomendaciones.....	34
Referencias .....	35
Anexos.....	37

## Lista de tablas

<b>Tabla 1.</b> Crecimiento radial (mm) de <i>Pochonia chlamydosporia</i> en cajas Petri control .....	21
<b>Tabla 2.</b> Crecimiento radial (mm) de <i>Pochonia chlamydosporia</i> en conjunto con extracto de ají .....	22
<b>Tabla 3.</b> Crecimiento radial (mm) de <i>Pochonia chlamydosporia</i> en conjunto con ácido bórico .	22
<b>Tabla 4.</b> Tratamientos en las pruebas de campo sobre las babosas .....	25
<b>Tabla 5.</b> Porcentaje de mortalidad para los tratamientos con extracto de ají y ácido bórico .....	25
<b>Tabla 6.</b> Tabla ANOVA extracto de ají .....	26
<b>Tabla 7.</b> Tabla ANOVA ácido bórico .....	26
<b>Tabla 8.</b> Porcentaje de mortalidad para la solución con extracto de ají al 25% .....	27
<b>Tabla 9.</b> Porcentaje de mortalidad para la solución con ácido bórico 500 ppm .....	27
<b>Tabla 10.</b> Seguimiento de pérdida del apetito y del movimiento sobre las babosas usando tratamientos con extracto de ají .....	28
<b>Tabla 11.</b> Seguimiento de pérdida del apetito y del movimiento sobre las babosas usando tratamientos con ácido bórico .....	28

## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> Crecimiento radial de <i>Pochonia chlamydosporia</i> en conjunto con extracto de ají (a) y ácido bórico (b), a través del tiempo .....	23
<b>Figura 2.</b> Morfología de <i>Pochonia chlamydosporia</i> - control extracto de ají (a) y control ácido bórico (b) .....	24
<b>Figura 3.</b> Infección en huevos del bioproducto con extracto de ají al 25% (a) y ácido bórico a 500 ppm (b) .....	29
<b>Figura 4.</b> Crecimiento en tierra de <i>Pochonia chlamydosporia</i> con ácido bórico 500 ppm .....	32
<b>Figura 5.</b> Infección cuerpo de <i>Derocera reticulatum</i> por <i>Pochonia chlamydosporia</i> .....	32

## Siglas, acrónimos y abreviaturas

<b>PDA</b>	Medio papa dextrosa agar
<b>ppm</b>	Partes por millón

---

## Resumen

En el presente proyecto de investigación se busca evaluar la capacidad de patogenicidad del hongo *Pochonia chlamydosporia* en conjunto con el ácido bórico y el extracto de ají, como alternativa en el biocontrol de babosas. Para alcanzar los objetivos propuestos, el hongo es activado en medio PDA para posteriormente realizar las pruebas de compatibilidad, luego, se realiza el debido seguimiento a los ensayos para seleccionar las concentraciones adecuadas que pasarán a la prueba de patogenicidad sobre los invertebrados. El bioproducto “POKONIA ® SC” que tiene como principio activo a *Pochonia chlamydosporia* es mezclado con las soluciones establecidas para realizar el control en las plagas, con el fin último de observar el rendimiento y eficacia del nuevo bioformulado.

*Palabras clave:* *Pochonia chlamydosporia*, ácido bórico, extracto de ají, biocontrol, plagas, babosas.

### Abstract

This research project seeks to evaluate the pathogenicity capacity of the fungus *Pochonia chlamydosporia* in conjunction with boric acid and chili extract, as an alternative in the biocontrol of slugs. To achieve the proposed objectives, the fungus is activated in PDA medium to later carry out the compatibility tests, then, the proper follow-up of the tests is carried out to select the appropriate concentrations that will pass the pathogenicity test on invertebrates. The "POKONIA® SC" bioproduct, which has *Pochonia chlamydosporia* as its active ingredient, is mixed with established solutions to control pests, with the goal of observing the performance and efficacy of the new bioformulate.

*Keywords:* *Pochonia chlamydosporia*, boric acid, pepper extract, biocontrol, pests, slugs.

---

## Introducción

Los moluscos conforman uno de los más grandes filos del reino animal, pero tan solo una clase de estos invertebrados ha sido considerada como plagas de cultivos hortícolas, ornamentales y agrícolas, los gasterópodos, en donde se incluye a las babosas (Speiser & Kistler, 2002).

Para conocer la anatomía de las babosas basta con encontrar un texto de biología en donde se hable de los también conocidos limacos, en general estos últimos se caracterizan por su forma alargada que contiene un manto o escudo de protección y que finaliza con las conocidas antenas sensoriales propias de este tipo de organismos, es importante destacar también una pequeña parte de su estructura llamada rádula, ubicada en la base de la boca (Moreno Suárez et al., 2008). El raspado que ocasiona la rádula a los diferentes cultivos provoca en los tejidos vegetales heridas que comúnmente se localizan en el centro de la hoja, al mismo tiempo, la secreción mucosa que estos invertebrados producen afecta hojas, tallos y brotes, razón suficiente para no subestimar la acción de estos moluscos (Moreno Suárez et al., 2008).

Aunque se han presentado diferentes alternativas de solución para el control de las babosas, estas no han sido realmente efectivas y amigables con el ambiente. En cuanto a los métodos químicos encontramos el uso de molusquicidas, se destacan formulaciones con elementos altamente tóxicos que requieren emplearse con gran precaución al ser nocivos para la salud de diferentes seres vivos (Kumar, 2020). Por otra parte, los métodos físicos para el control de limacos incluyen barreras y trampas que necesitan de un alto costo de obra, y que a la vez son muy poco recomendados por perturbar considerablemente el área intervenida (Kumar, 2020). Finalmente, los métodos biológicos para el control de invertebrados mediante el uso de hongos entomopatógenos se perfilan como la mejor alternativa para contrarrestar la acción de las plagas no deseadas en los diversos cultivos (Motta-Delgado et al., 2011).

BIOQUIRAMA SAS ubicada en Rionegro-Antioquia, es una empresa líder en investigación, producción y comercialización de biopesticidas elaborados a partir de extractos botánicos e insumos biológicos tales como bacterias y hongos entomopatógenos, con una gran variedad de productos tratan plagas y enfermedades a nivel agrícola. A pesar de su inmenso portafolio, el control de las babosas en edad adulta es una problemática que aún no ha sido combatida. El bioproducto conocido como “POKONIA® SC” es un bioformulado que es usado

---

principalmente en los cultivos de crisantemo, y que tiene como principio activo al hongo *Pochonia chlamydosporia*, este microorganismo “tiene la capacidad de mejorar los niveles de materia orgánica y de manera indirecta controla patógenos y nematodos” (*POKONIA*® SC, 2018). Por consiguiente, *Pochonia chlamydosporia* se ha usado como biocontrolador de huevos de moluscos mostrando grandes resultados, es por lo anterior que en el presente proyecto de investigación se propone la mejora del biopesticida “*POKONIA*® SC” a partir de una nueva formulación que incluya al hongo en conjunto con ácido bórico / extracto de ají como alternativa en el control biológico de babosas en etapa adulta.

## 1 Objetivos

### 1.1 Objetivo general

Determinar el grado de Patogenicidad del hongo entomopatógeno *Pochonia chlamydosporia* en conjunto con ácido bórico / extracto de ají, como alternativa para el control biológico de babosas.

### 1.2 Objetivos específicos

Evaluar el efecto de la combinación del hongo *Pochonia chlamydosporia* con ácido bórico.

Obtener un extracto botánico a partir de ají, para luego evaluar el efecto de la combinación del extracto con *Pochonia chlamydosporia*.

Observar el efecto del producto “POKONIA® SC” en conjunto con el ácido bórico / extracto de ají sobre las babosas.

## **2 Marco teórico**

Los hongos entomopatógenos son microorganismos que tienen la capacidad de secretar toxinas y enzimas que invaden a las denominadas plagas, organismos fitófagos que afectan a los diferentes cultivos: hortícolas, ornamentales y agrícolas, y que causan la disminución de su producción, además de aumentar considerablemente el costo de mantenimiento de las cosechas. En general, los hongos entomopatógenos, debilitan y causan la muerte de la plaga cuando esta última lo ingiere, el hongo pasa entonces al interior del organismo hasta colonizar sus células e infectar el hemocele (Speiser & Kistler, 2002).

### **2.1 Generalidades de *Pochonia chlamydosporia***

*Pochonia chlamydosporia* es un hongo entomopatógeno que ha sido ampliamente estudiado para el control de plagas. Morfológicamente se caracteriza por la coloración de sus colonias que pasan de blancas a amarillentas, de crecimiento relativamente lento (0.3 cm/día), de apariencia densa, elevada y aterciopelada (“Beneficial Microbes in Agro-Ecology,” 2020).

#### **2.1.1 Conidiogénesis**

*Pochonia chlamydosporia* se caracteriza por producir conidióforos que se diferencian de la hifa vegetativa, estos últimos se encuentran en forma erguida y pueden presentar una fiálide verticilada o solitaria (“Beneficial Microbes in Agro-Ecology,” 2020). Produce conidios globulares que se arreglan para formar cabezas o cadenas, finalmente, se destaca por producir dictioclamidiosporas que son estructuras de resistencia ubicadas generalmente en la superficie del micelio (“Beneficial Microbes in Agro-Ecology,” 2020).

#### **2.1.2 Acción enzimática**

*Pochonia chlamydosporia* secreta de forma natural diversas enzimas como proteasas, quitinasas, esterases y lipasas, que son las proteínas más importantes en el proceso de infección de

---

los organismos no deseados. Gracias al gran potencial de este hongo, su aplicación como biopesticida ya ha sido usado, estudios realizados por (Moosavi et al., 2010) de patogenicidad en huevos de *Meloidogyne javanica* (nematodo fitopatógeno) han demostrado que la utilización de *Pochonia chlamydosporia* tiene un gran potencial en el control biológico de estas especies, alcanzando valores de virulencia de hasta 95%. De la misma manera, (Castro et al., 2019) han realizado pruebas para el control de huevos de caracoles de *Pseudosuccinea columella*, también conocido como caracol americano, esta especie pertenece a los moluscos gasterópodos al igual que las babosas, en dicho trabajo se evaluó la susceptibilidad de las masas de huevos, indicando que el uso del hongo entomopatógeno perjudicó severamente el proceso de embriogénesis de los caracoles con un promedio de 93% de virulencia, durante el proceso de infección el hongo produce una serina proteasa de tipo subtilisina que degrada la membrana vitelina en la superficie de la cáscara del huevo y expone la capa de quitina para luego inducir las enzimas quitinasas que debilitan la capa interna de la cáscara hasta colonizar por completo el embrión (Esteves et al., 2009).

Entre otros metabolitos secundarios producidos por *Pochonia chlamydosporia* se destacan las lactonas resorcílicas ácidas que son policétidos fúngicos que consisten en un residuo de ácido  $\beta$ -resorcílico (ácido 2,4-dihidroxibenzoico) incrustado en un anillo de macrolactona, que a su vez pertenecen a la subclase de las bencenodiol lactonas (Kuttikrishnan et al., 2022). Las macrolactonas en conjunto con las lactonas resorcílicas ácidas tienen múltiples usos a nivel industrial, en especial para el control de nematodos y artrópodos (Pérez-Cogollo et al., 2018). La literatura relacionada con los efectos de las lactonas han demostrado efectos de alta toxicidad sobre diversos gasterópodos en etapa adulta como lo muestra el artículo de (Lumaret et al., 2012) en donde se evalúa el comportamiento de diversos organismos como: *Biomphalaria glabrata*, *Hydrobia ulvae*, *Potamopyrgus jenkinsii*, *Littorina littorea*, *Nucella lapillus*, *Patella vulgata*, obteniendo grandes resultados que terminan afectando los procesos de alimentación, movimiento e incluso causan la muerte de dichos invertebrados.

Cabe destacar que, aunque *Pochonia chlamydosporia* ha sido usada mayormente en etapas prematuras de las babosas (huevos), todos los anteriores resultados sugieren que el control biológico de los gasterópodos en etapa adulta a través de este microorganismo sí es posible, surgiendo como una alternativa efectiva y amigable con el medio ambiente.

## **2.2 Ácido bórico**

Para mejorar entonces la acción del hongo entomopatógeno, este se puede potenciar con el uso de ácido bórico, como lo describe (Gaikwad et al., 2021) en donde se evaluó la toxicidad de este compuesto en tres especies de moluscos para diferentes periodos de exposición, obteniendo resultados muy prometedores que finalizan con la intoxicación de gran cantidad de estos organismos, afectando la supervivencia de los invertebrados e impidiendo la fertilidad y fecundidad en cortos tiempos de aplicación.

## **2.3 Extracto de ají**

Los extractos botánicos también son una gran alternativa para combatir y repeler las plagas, algunas especies botánicas como el ají han demostrado tener propiedades molusquicidas, resultando ser altamente tóxicas para las babosas, así lo muestra el trabajo realizado por (Maza, 2013) en donde se presenta la eficiencia de mortalidad en caracoles usando extracto de ají puro, resultando en la inhibición de la alimentación como primer síntoma de aplicación, para luego alcanzar porcentajes que superan el 90% de muerte en muchas de las babosas evaluadas. Como menciona (López & Lima, 2018) en su trabajo, la acción fagodisuasiva del ají en los moluscos puede estar asociada a la presencia de sustancias pungentes como los capsaicinoides que son componentes activos característicos de todas las variedades de ají y que producen una irritación severa en los invertebrados, hasta causar su muerte.

---

## 3 Metodología

### 3.1 Preparación medios de cultivo

En cuanto a la preparación de los medios de cultivo (fase 1) se debe tener en cuenta que se usarán 2 cajas Petri para la activación y 18 cajas Petri para las pruebas de compatibilidad. Se emplea entonces el medio PDA teniendo en cuenta que se requieren 39 gramos/litro, luego de disolver la cantidad necesaria del medio deshidratado en agua filtrada, la solución pasa a agitación continua a una temperatura de 121°C por 20 minutos, finalmente, se sirven las cajas de Petri estériles en la cabina de flujo laminar vertiendo aproximadamente 20 ml, para posteriormente dejar en reposo y enfriar (Icochea, 2004).

#### 3.1.1 Medio de activación

Para la activación del hongo *Pochonia chlamydosporia* (fase 2) se debe usar un asa estéril, con la cual se siembra el hongo que se encuentra en crioconservación, posteriormente, la caja Petri se almacena en la incubadora a 26 °C.

### 3.2 Pruebas de compatibilidad

Una vez crecido el hongo en el medio de activación (10 días aproximadamente) para las pruebas de compatibilidad, se procede a realizar el ensayo experimental con el ácido bórico y el extracto de ají en conjunto con el hongo.

#### 3.2.1 Prueba de compatibilidad *Pochonia chlamydosporia* con ácido bórico

Para realizar la prueba de compatibilidad con el ácido bórico (fase 3), este último se pesa en la balanza analítica: 200 mg, 300 mg, 400 mg y 500 mg, para luego disolver cada muestra en 1 litro de agua (Gaikwad et al., 2021). Una vez servido el medio en las cajas Petri, se depositan 100  $\mu$ l de las soluciones con ácido bórico obtenidas en cada una de las placas y se realiza el protocolo

---

sugerido por (Martínez, 2011) para medir el crecimiento radial del hongo teniendo como referencia la caja Petri control.

Nota: La prueba se realiza por duplicado. Al finalizar estas observaciones se descartan las concentraciones que afectan el normal desarrollo del hongo, y las demás pasarán a la prueba en campo de patogenicidad sobre las babosas.

### **3.2.2 Prueba de compatibilidad *Pochonia chlamydosporia* con extracto de ají**

La cuarta fase del proyecto es muy similar a la prueba de compatibilidad de *Pochonia chlamydosporia* con el ácido bórico, sin embargo, aquí se presentan ligeras modificaciones para la preparación del extracto botánico de ají, este último se corta en rodajas (500 g) para ser licuado con agua (500 ml) y tomar muestras de 100 ml, 150 ml, 200 ml y 250 ml que posteriormente se disuelven en 1 litro de agua (Maza, 2013), a partir de aquí se realiza el protocolo sugerido por (Martínez, 2011) para observar el crecimiento radial del hongo entomopatógeno, teniendo como referencia la caja Petri control que solamente contiene al biocontrolador.

Nota: La prueba se realiza por duplicado. Al finalizar estas observaciones se descartan las concentraciones que afectan el normal desarrollo del hongo, y las demás pasarán a la prueba en campo de patogenicidad sobre las babosas.

### **3.3 Procedimiento para la visualización de formación de conidios por parte de *Pochonia chlamydosporia***

Con el objetivo de observar microscópicamente la formación de conidios, que son las estructuras de defensa de *Pochonia chlamydosporia*, en la fase 5 de este estudio se usarán las cajas Petri control de cada una de las pruebas de compatibilidad con ácido bórico y extracto de ají (una vez finalizadas estas últimas) para visualizar los conidios del hongo que son el elemento más importante para garantizar la actividad entomopatógena del microorganismo usando el microscopio bajo el objetivo de 40X (Icochea, 2004).

### **3.4 Procedimiento para recolección de babosas**

---

Los moluscos para el presente estudio (fase 6) serán recolectados principalmente de cultivos de repollo y lechuga que se encuentran ubicados en Rionegro Antioquia, también se realizará la colecta cerca de cuerpos acuáticos y pequeños jardines con gran humedad, de manera manual se seleccionan los organismos para ser llevados a recipientes con tierra fresca, las babosas serán alimentadas diariamente, además de proporcionarles una gran aireación, en esta ocasión se trabajará con la especie *Derocera reticulatum*.

### **3.5 Procedimiento para la determinación de la actividad biológica de *Pochonia chlamydosporia* con ácido bórico / extracto de ají sobre las babosas**

Finalmente, conocidas las concentraciones de ácido bórico y de extracto de ají aceptadas, en la séptima fase del proyecto se procede a realizar la prueba de patogenicidad sobre las babosas. El producto comercial se mezcla en frascos tipo espray con las soluciones diluidas y se etiquetan respectivamente (volumen de trabajo 100 ml).

Se adiciona el producto comercial POKONIA® SC teniendo en cuenta la relación de ácido bórico y extracto de ají. En cuanto al ácido bórico se adicionan 10 ml de las soluciones aceptadas y se completa con 90 ml de POKONIA® SC. Por otra parte, el extracto de ají se mezcla de la siguiente manera (con las soluciones aceptadas):

- ✓ 10 ml (solución de 100 ml) + 90 ml de POKONIA® SC.
- ✓ 15 ml (solución de 150 ml) + 85 ml de POKONIA® SC.
- ✓ 20 ml (solución de 200 ml) + 80 ml de POKONIA® SC.
- ✓ 25 ml (solución de 250 ml) + 75 ml de POKONIA® SC.

Nota: Además, se usa un frasco tipo espray con la solución de ácido bórico más alta que fue aceptada en la prueba de compatibilidad y se analiza su eficiencia en los moluscos VS los productos finales. De igual manera, se usa un frasco tipo espray con la solución de extracto de ají más alta que fue aprobada y se compara su eficiencia en los moluscos VS los productos finales.

Luego, se separan las babosas en pequeños grupos y se realiza la aplicación en espray sobre la tierra en donde se encuentran, y se evalúa el porcentaje de mortalidad mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{\#babosas\ muertas}{\# total\ de\ babosas} * 100\%$$

**Formula 1.** Porcentaje de babosas muertas.

De igual manera, se hará seguimiento a los indicadores de: pérdida del movimiento, pérdida del apetito (durante 8 días) y número de huevos infectados (durante 28 días), se usa un testigo sin aplicaciones y las pruebas se realizan por triplicado.

## 4 Resultados

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en el proyecto de investigación.

### 4.1 Crecimiento radial de *Pochonia chlamydosporia*

Los datos presentados en la Tabla 1 evidencian como es la normal proliferación del hongo *Pochonia chlamydosporia* en incubación a 26°C. Los controles utilizados en las pruebas de compatibilidad muestran un desarrollo muy similar que concuerdan con la bibliografía, presentando así un crecimiento lento que no supera los 3 mm/día, hasta alcanzar una medición radial máxima de 21 mm.

**Tabla 1**

*Crecimiento radial (mm) de Pochonia chlamydosporia en cajas Petri control*

Muestra	Día							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Control prueba extracto de ají	7	9	11	15	17	18	19	21
Control prueba ácido bórico	7	9,5	12	14	15	18,5	19,5	20

### 4.2 Crecimiento radial de *Pochonia chlamydosporia* en conjunto con extracto de ají

La Tabla 2 muestra los valores de crecimiento del hongo *Pochonia chlamydosporia* en medio PDA en combinación con el extracto de ají, como se evidencia, las diferentes concentraciones de extracto de ají usadas en la prueba de compatibilidad no afectaron el normal desarrollo del microorganismo, alcanzando valores de proliferación muy similares a las cajas Petri control.

**Tabla 2***Crecimiento radial (mm) de Pochonia chlamydosporia en conjunto con extracto de ají*

%	Día							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Extracto de ají								
10	7,5	8	12	15,75	17	19,25	19,5	20,25
15	7,5	9,25	11,25	12,75	14,5	18,25	18,75	21
20	7,5	9,25	11,5	13,25	14,75	17,25	20,25	21,5
25	7,5	8,75	11	14,5	14	17,75	20,5	21,5

*Nota. Para obtener los datos de crecimiento en la prueba de compatibilidad del hongo con el extracto de ají, se realizó un promedio de las dos replicas usadas en cada concentración.*

### 4.3 Crecimiento radial de *Pochonia chlamydosporia* en conjunto con ácido bórico

En la Tabla 3 se presentan los datos de crecimiento obtenidos en la prueba de compatibilidad del hongo a las diferentes concentraciones de ácido bórico usadas, de la misma manera que en el tratamiento con el extracto de ají, el desarrollo de *Pochonia chlamydosporia* no se vio afectado a través del tiempo, incluso se puede concluir que su proliferación se favoreció al añadir este compuesto en las cajas Petri.

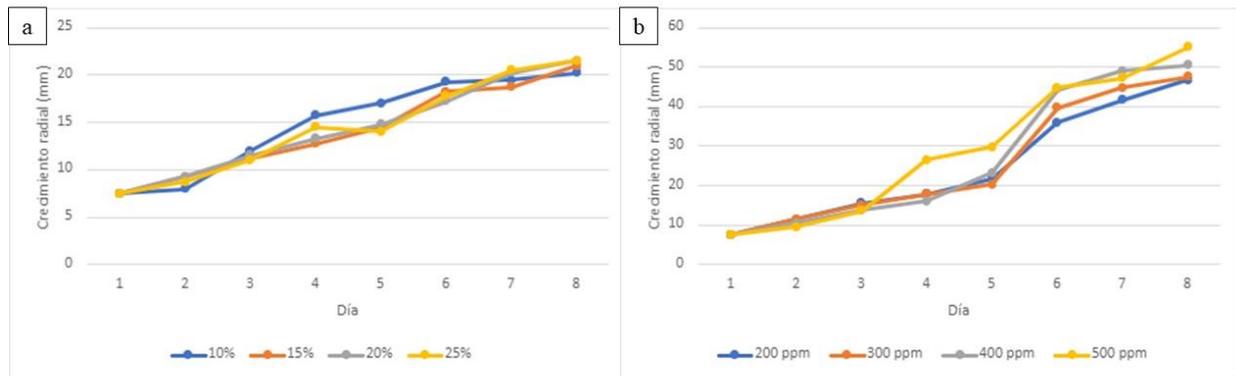
**Tabla 3***Crecimiento radial (mm) de Pochonia chlamydosporia en conjunto con ácido bórico*

Concentración ácido bórico (ppm)	Día							
	1	2	3	4	5	6	7	8
200	7,5	11,5	15,5	17,75	21,75	36	41,75	46,75
300	7,5	11,5	15	17,75	20,25	39,75	44,75	47,5
400	7,5	10,5	13,75	16	23,25	44,25	49	50,5
500	7,5	9,5	13,5	26,5	29,75	44,75	47,25	55

*Nota. Para obtener los datos de crecimiento en la prueba de compatibilidad del hongo con el ácido bórico, se realizó un promedio de las dos replicas usadas en cada concentración.*

**Figura 1**

*Crecimiento radial de Pochonia chlamydosporia en conjunto con extracto de ají (a) y ácido bórico (b), a través del tiempo*



La Figura 1 evidencia el crecimiento exponencial del hongo *Pochonia chlamydosporia* al ser inoculado con el extracto de ají (Figura 1.a) y el ácido bórico (Figura 1.b). Analizando los resultados obtenidos, el tratamiento que contenía al ácido bórico presenta las mejores condiciones para el desarrollo del microorganismo, optimizando el tiempo de proliferación hasta conseguir valores que superan los 50 mm de crecimiento radial, esto para las concentraciones más altas de 400 ppm y 500 ppm, de igual manera las cantidades de 200 ppm y 300 ppm sobrepasan ampliamente el rango de crecimiento reportado por la literatura obteniendo valores mayores a 46 mm y 47 mm respectivamente al día número 8 de seguimiento.

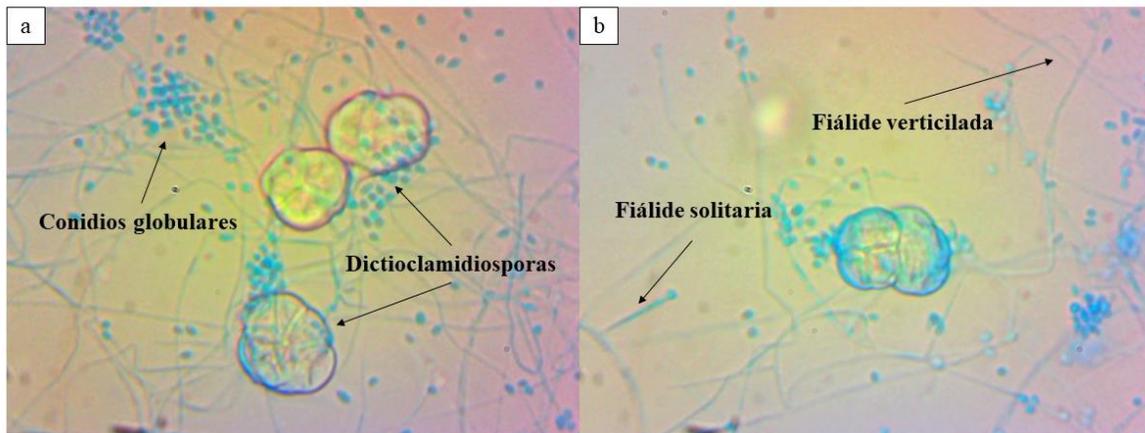
En cuanto a el tratamiento con el extracto de ají, los valores de crecimiento radial más altos se encuentran por encima de los 20 mm, valor que se aproxima de gran manera al normal crecimiento de microorganismo, en este caso no se afecta la proliferación del hongo y su desarrollo se considera estable.

Gracias a los datos de crecimiento obtenidos, todas las concentraciones de ácido bórico y extracto de ají usadas en las pruebas de compatibilidad pasan a la aplicación en campo para ser mezcladas con el producto comercial POKONIA® SC que tiene como principal principio activo a *Pochonia chlamydosporia*.

**4.4 Visualización formación de conidios**

**Figura 2**

*Morfología de Pochonia chlamydosporia - control extracto de ají (a) y control ácido bórico (b)*



*Nota: imagen propia.*

Una vez terminadas las pruebas de compatibilidad se procedió a visualizar las cajas Petri control de las pruebas de compatibilidad, de acuerdo con la morfología de *Pochonia chlamydosporia* en la Figura 2 se puede observar los rasgos característicos del hongo, el cual se reconoce por la aparición de las estructuras de resistencia conocidas como dictioclamidiosporas (Figura 2.a), este también presenta conidióforos que se ubican en el extremo de las hifas, algunas de estas estructuras microscópicas pueden ser de un solo filamento o ramificadas (Figura 2.b), finalizando con la producción de las esporas o conidios globulares (Figura 2.a).

**4.5 Pruebas de patogenicidad sobre las babosas**

**Tabla 4***Tratamientos en las pruebas de campo sobre las babosas*

Referencia	Tratamiento	Dosis	Numero de babosas
T1	Extracto de ají	10%	4
T2	Extracto de ají	15%	4
T3	Extracto de ají	20%	4
T4	Extracto de ají	25%	4
T5	Ácido bórico	200 ppm	4
T6	Ácido bórico	300 ppm	4
T7	Ácido bórico	400 ppm	4
T8	Ácido bórico	500 ppm	4
T9	Testigo	-	4

#### 4.5.1 Porcentaje de mortalidad para las pruebas de patogenicidad sobre las babosas

**Tabla 5***Porcentaje de mortalidad para los tratamientos con extracto de ají y ácido bórico*

Referencia	Tratamiento	Mortalidad
T1	Extracto de ají	25%
T2	Extracto de ají	25%
T3	Extracto de ají	50%
T4	Extracto de ají	50%
T5	Ácido bórico	0%
T6	Ácido bórico	25%
T7	Ácido bórico	50%
T8	Ácido bórico	75%
T9	Testigo	0%

*Nota. Para obtener los porcentajes de mortalidad se realizó un promedio de las tres replicas usadas en cada tratamiento.*

En cuanto al porcentaje de mortalidad calculado con la Formula 1, se puede concluir que los valores más altos se alcanzaron con el tratamiento T8 que contenía una concentración de ácido bórico igual a 500 ppm. Sin embargo, los tratamientos T3, T4 y T7 también fueron altamente significativos al alcanzar tasas de muerte del 50%.

#### 4.5.2 Análisis estadístico tratamiento con extracto de ají

**Tabla 6***Tabla ANOVA extracto de ají*

	Suma cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón -F	Valor-P
Tratamiento con extracto de ají	1.667	1	1.667	5.556	0.0402*
Residuo	3.000	10	0.300		

\*Valor  $p < 0.05$ 

Mediante el análisis ANOVA se concluye que el tratamiento realizado con el extracto de ají está activo y tiene influencia sobre el porcentaje de mortalidad en las babosas, pues el valor-P es menor a 0.05.

#### 4.5.3 Análisis estadístico tratamiento con ácido bórico

**Tabla 7***Tabla ANOVA ácido bórico*

	Suma cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón -F	Valor-P
Tratamiento con ácido bórico	12.150	1	12.150	43.92	$5.88 \cdot 10^{-05}$ *
Residuo	2.767	10	0.277		

\*Valor  $p < 0.05$ 

Con relación al tratamiento realizado con el ácido bórico, como el valor-P es igual a  $5.88 \cdot 10^{-05}$  menor que 0.05 se concluye que es una fuente de variabilidad significativa que tiene gran influencia en el porcentaje de mortalidad de la especie *Derocera reticulatum*.

#### 4.5.4 Prueba de patogenicidad con extracto de ají al 25%

**Tabla 8***Porcentaje de mortalidad para la solución con extracto de ají al 25%*

Referencia	Tratamiento	Mortalidad
T10	Extracto de ají (25%)	50%

Teniendo en cuenta que la concentración más alta de ají que fue aceptada en la prueba de compatibilidad con el hongo fue del 25%, se procedió a comparar el efecto de esta solución (sin la adición del hongo) sobre las babosas. El resultado arrojó un 50% en la tasa de muerte, valor que es idéntico al de la aplicación con el bioformulado.

#### 4.5.5 Prueba de patogenicidad con ácido bórico 500 ppm

**Tabla 9***Porcentaje de mortalidad para la solución con ácido bórico 500 ppm*

Referencia	Tratamiento	Mortalidad
T11	Ácido bórico (500ppm)	75%

Para la prueba de compatibilidad con el ácido bórico la concentración más alta que fue aceptada fue la de 500 ppm, esta última se evaluó entonces de manera individual arrojando un 75% de tasa de mortalidad en las babosas.

#### 4.5.6 Seguimiento de pérdida del apetito y del movimiento sobre las babosas con el bioproducto que contenía extracto de ají

**Tabla 10**

*Seguimiento de pérdida del apetito y del movimiento sobre las babosas usando tratamientos con extracto de ají*

% Extracto de ají	Día																
	1		2		3		4		5		6		7		8		
	A	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A	M	
10	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	
15	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	
20	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí
25	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí									
Testigo	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí

*Nota. Apetito (A), Movimiento (M)*

El seguimiento realizado durante la prueba de patogenicidad sobre las babosas muestra que la aplicación del producto final tuvo un efecto significativo en los invertebrados para las concentraciones más altas de extracto de ají utilizadas, así pues, desde el día número 6 el bioformulado que contenía un 20% de extracto de ají causó la pérdida del apetito en los moluscos, pero sin duda alguna el bioproducto con un 25% de extracto de ají obtuvo los mejores resultados causando la pérdida del apetito desde el día número 4 de seguimiento.

#### **4.5.7 Seguimiento de pérdida del apetito y movimiento sobre las babosas con el bioproducto que contenía ácido bórico**

**Tabla 11**

*Seguimiento de pérdida del apetito y del movimiento sobre las babosas usando tratamientos con ácido bórico*

Concentración ácido bórico (ppm)	Día																
	1		2		3		4		5		6		7		8		
	A	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A	M	
200	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
300	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
400	Sí	Sí	No														
500	Sí	Sí	No														
Testigo	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí

*Nota. Apetito (A), Movimiento (M)*

La tabla número 11 señala que la muestra que contenía 400 ppm de ácido bórico provocó desde el día número 2 la pérdida del apetito de las babosas al igual que la concentración con 500 ppm de ácido bórico, afectando significativamente el proceso de supervivencia de los moluscos.

#### 4.6 Infección de huevos

##### Figura 3

*Infección en huevos del bioproducto con extracto de ají al 25% (a) y ácido bórico a 500 ppm (b)*



*Nota: imagen propia.*

Haciendo referencia a la reproducción de las babosas, en todos los tratamientos los invertebrados depositaron huevos. En la Figura 3 se muestran algunas imágenes de como el bioproducto que contenía extracto de ají al 25% (Figura 3.a) infectó severamente la capa externa hasta deshacer algunos de estos, la Figura 3.b de la misma manera evidencia el proceso de virulencia del producto que contenía ácido bórico a 500 ppm. El seguimiento a todas las muestras de huevos se realizó durante 28 días y estos no eclosionaron para ninguno de los tratamientos, teniendo resultados muy similares a los de las imágenes.

---

## 5 Análisis

A partir de los resultados obtenidos en el presente proyecto de investigación se puede concluir que los tratamientos usados sobre los moluscos son significativos y tienen un efecto sobre la tasa de mortalidad. Las diferentes concentraciones de extracto de ají que fueron mezcladas con el hongo para la formulación del bioproducto causaron la alteración del estado fisiológico de los limacos e incluso la pérdida del apetito cuando se usó el biopesticida con extracto de ají al 20% y al 25%, de igual manera, los diversos bioformulados que contenían a *Pochonia chlamydosporia* con las concentraciones de ácido bórico afectaron la salud de los invertebrados llegando incluso a obtener valores del 75% de mortalidad para la concentración con 500 ppm de este compuesto.

En comparación con los tratamientos realizados con las soluciones que solo contenían extracto de ají al 25% y ácido bórico a 500 ppm (soluciones más altas que fueron aceptadas en las pruebas de compatibilidad), se puede concluir que se obtuvo el mismo porcentaje de rendimiento sobre las babosas que con el bioproducto que tenía además a el hongo entomopatógeno como principal principio activo. De lo anterior se deduce que, en un primer momento el control sobre *Derocera reticulatum* se da por el extracto botánico y el compuesto químico, generando entonces la afectación del estado fisiológico en las plagas hasta causar su muerte, por un lado, el extracto de ají causa la irritación severa, mientras que, el ácido bórico actúa como un compuesto altamente tóxico. En un segundo momento, el control de la reproducción de estos organismos es gracias a *Pochonia chlamydosporia* que por medio de la secreción natural de sus enzimas proteasas, quitinasas, esterases y lipasas, infectan los huevos de los invertebrados dando como resultado el control completo del ciclo de vida al impedir la eclosión de estos últimos.

---

Según lo reportado en la bibliografía en cuanto a la eficiencia de mortalidad en las babosas cuando se usa extracto de ají, los mejores resultados se alcanzan cuando se aplican concentraciones altas, en el proyecto realizado por (Maza, 2013) se reportan porcentajes del 100% al usar una concentración de 120 ml/L a los 6 días de aplicación, realizando una comparación con los resultados obtenidos en el presente proyecto de investigación el mayor porcentaje de mortalidad logrado fue del 50% para la concentración de 250 ml/L (bioproducto con 25% de ají) al octavo día de aplicación, la diferencia en la eficacia de los extractos botánicos se atribuye específicamente a la especie usada, pues, *Capsicum frutescens* planta empleada por (Maza, 2013) es una de las clases más picantes de ají que contiene un mayor porcentaje de capsaicinoides y por consiguiente una alta capacidad fagodisuasiva en comparación con el ají rocoto (Srinivasan, 2016).

En cuanto a la eficiencia de mortalidad cuando se usa ácido bórico, la bibliografía reporta porcentajes de hasta el 90 % cuando se usan concentraciones de 6000 ppm a los 4 días de aplicación (Gaikwad et al., 2021), comparando este resultado con el tratamiento realizado con el bioplaguicida de 500 ppm de ácido bórico en donde se obtuvo un 75% de mortalidad a los 8 días de aplicación, se puede concluir que se consigue una mayor toxicidad al usar una mayor cantidad de ácido en muy cortos tiempos de aplicación.

Analizando el crecimiento del hongo cuando fue mezclado con los extractos de ají, este tuvo un efecto positivo, de la misma manera, la combinación de *Pochonia chlamydosporia* con las concentraciones de ácido bórico favorecieron en gran medida la proliferación de este microorganismo como se pudo comprobar en las pruebas de compatibilidad, tal fue la aceptación de estas últimas mezclas que al realizar las pruebas de patogenicidad con el producto comercial sobre las babosas el hongo creció sobre la tierra de manera abundante caracterizándose por su coloración blanca, aterciopelada y elevada como se muestra en la Figura 4, este resultado se debe a que con la adición del ácido bórico el bioproducto alcanzo un pH ligeramente ácido de 5,5 que optimizo el medio y las condiciones de proliferación.

**Figura 4**

*Crecimiento en tierra de Pochonia chlamydosporia con ácido bórico 500 ppm*



*Nota: imagen propia.*

Este crecimiento en masa da como resultado la formación elevada de conidios que se encargan de colonizar las células de la plaga, dato que se logró evidenciar en las diversas pruebas realizadas en campo, donde el hongo infecto severamente los cuerpos de las babosas muertas (Figura 5).

**Figura 5**

*Infección cuerpo de Derocera reticulatum por Pochonia chlamydosporia*



*Nota: imagen propia.*

---

## 6 Conclusiones

Según los resultados obtenidos, el control de babosas en etapa adulta sí es posible por medio del uso de hongos entomopatógenos como *Pochonia chlamydosporia* cuando este se encuentra potenciado con extractos botánicos como el ají o compuestos como el ácido bórico. Las pruebas de patogenicidad realizadas sobre las babosas mostraron grandes resultados que van desde la pérdida del apetito del invertebrado hasta la muerte de estos, demostrando así que los tratamientos son altamente significativos. Teniendo en cuenta los resultados estadísticos el tratamiento con ácido bórico tiene mayor incidencia sobre la mortalidad de las babosas, surgiendo entonces como una gran alternativa en el control de plagas.

Cabe destacar además que ninguno de los compuestos adicionados en las pruebas de compatibilidad afectó el crecimiento del hongo, debido a que tanto el extracto de ají como el ácido bórico se comportan como especies ácidas, rango de pH en el cual *Pochonia chlamydosporia* crece favorablemente.

Luego de realizar las pruebas de patogenicidad, se puede concluir que la eficiencia de mortalidad en las babosas es alta cuando se utilizan dosis muy concentradas de extracto de ají y de ácido bórico en conjunto con el hongo, pues no solo se favorece el crecimiento de *Pochonia chlamydosporia*, sino que, además, la efectividad de eliminación de los invertebrados es mucho mayor en cortos tiempos de aplicación.

Comparando las concentraciones más altas que fueron aceptadas en las pruebas de compatibilidad tanto con el extracto botánico como con el ácido bórico, se concluye que en comparación con el bioproducto que también contenía al hongo entomopatógeno se da el mismo porcentaje de mortalidad en los invertebrados mas no un completo control en el ciclo de vida de los organismos al no afectar la eclosión de los huevos, de aquí la importancia de incorporar a *Pochonia chlamydosporia* como principal principio activo del bioplaguicida.

Al aplicar el bioproducto en las babosas no solo se logró alcanzar la mortalidad de la mayoría de estas, sino que también, se consiguió la pérdida del apetito con las dosis más altas de extracto de ají y ácido bórico utilizadas, dato que nos indica que es posible proteger los diferentes cultivos sin que se produzcan heridas en las plantas por el raspado que provocan estas plagas.

## 7 Recomendaciones

Se recomienda usar concentraciones más altas de extracto de ají y de ácido bórico que se puedan mezclar con el hongo entomopatógeno, con las cuales se pueda obtener mayores porcentajes de rendimiento en las tasas de mortalidad sobre las babosas, pues, los invertebrados que se encontraban entre los 6 y 7 cm de largo no se vieron afectados por ningún tratamiento. Además, se recomienda usar estas combinaciones en otro tipo de moluscos como, por ejemplo: *Deroceras laeve*, *Limax flavus*, *Milax gagates* e incluso caracoles y observar su eficacia.

---

### Referencias

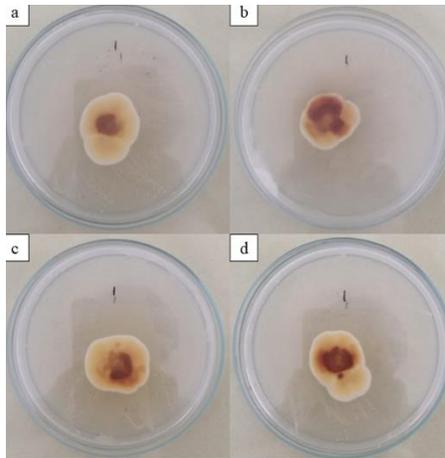
- Beneficial Microbes in Agro-Ecology. (2020). *Beneficial Microbes in Agro-Ecology*. <https://doi.org/10.1016/C2020-0-00594-3>
- Castro, L. S., Martins, I. V. F., Tunholi, V. M., de Araújo, J. v., Tunholi-Alves, V. M., & Bittencourt. (2019). Ovicidal potential of *Pochonia chlamydosporia* isolate Pc-10 (Ascomycota: Sordariomycetes) on egg masses of the snail *Pseudosuccinea columella* (Mollusca: Gastropoda). *Journal of Invertebrate Pathology*, 166, 107212. <https://doi.org/10.1016/J.JIP.2019.107212>
- Esteves, I., Peteira, B., Atkins, S. D., Magan, N., & Kerry, B. (2009). Production of extracellular enzymes by different isolates of *Pochonia chlamydosporia*. *Mycological Research*, 113(8), 867–876. <https://doi.org/10.1016/J.MYCRE.2009.04.005>
- Gaikwad, J., Gaikwad, S., Invest, N. K.-Intern. J. Biol. Environ. (2021). Boric acid toxicity in some selected molluscan species. *Ijbei.Net*, 1(1), 49–61. <https://doi.org/10.33745/ijbei.2021.v01i01.005>
- Icochea, T. A. de. (2004). *Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos*. [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=IFfNuqTeit8C&oi=fnd&pg=PA1&dq=medio+pda+hongos&ots=XCIZBLLRa5&sig=rsU7\\_lm1tAlWqaNViPJpekSBXT8](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=IFfNuqTeit8C&oi=fnd&pg=PA1&dq=medio+pda+hongos&ots=XCIZBLLRa5&sig=rsU7_lm1tAlWqaNViPJpekSBXT8)
- Kumar, P. (2020). A Review—On Molluscs as an Agricultural Pest and Their Control. *International Journal of Food Science and Agriculture*, 4(4), 383–389. <https://doi.org/10.26855/IJFSA.2020.12.004>
- Kuttikrishnan, S., Prabhu, K. S., al Sharie, A. H., al Zu'bi, Y. O., Alali, F. Q., Oberlies, N. H., Ahmad, A., El-Elimat, T., & Uddin, S. (2022). Natural resorcylic acid lactones: A chemical biology approach for anticancer activity. *Drug Discovery Today*, 27(2), 547–557. <https://doi.org/10.1016/J.DRUDIS.2021.10.001>
- López, L., & Lima, H. (2018). Efecto de repelencia de diferentes extractos vegetales acuosos sobre la babosa *Deroceras reticulatum* Müller. *Researchgate.Net*. [https://www.researchgate.net/profile/Guillermo-Perichi/publication/323829876\\_Efecto\\_de\\_repelencia\\_de\\_diferentes\\_extractos\\_vegetales\\_acuosos\\_sobre\\_la\\_babosa\\_Deroceras\\_reticulatum\\_Muller/links/5aad1d32a6fdcc1bc0bad4f6/Efecto-de-repelencia-de-diferentes-extractos-vegetales-acuosos-sobre-la-babosa-Deroceras-reticulatum-Mueller.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Guillermo-Perichi/publication/323829876_Efecto_de_repelencia_de_diferentes_extractos_vegetales_acuosos_sobre_la_babosa_Deroceras_reticulatum_Muller/links/5aad1d32a6fdcc1bc0bad4f6/Efecto-de-repelencia-de-diferentes-extractos-vegetales-acuosos-sobre-la-babosa-Deroceras-reticulatum-Mueller.pdf)
- Lumaret, J., Errouissi, F. (2012). A review on the toxicity and non-target effects of macrocyclic lactones in terrestrial and aquatic environments. *Ingentaconnect.Com*. Retrieved November 11, 2022, from <https://www.ingentaconnect.com/content/ben/cpb/2012/00000013/00000006/art00024>
- Martínez, K. V. (2011). Compatibilidad del hongo *Pochonia chlamydosporia* y extractos vegetales para el manejo integrado de *Meloidogyne incognita* en. <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/9152>
- Maza, J. M. (2013). Efecto de los extractos botánicos para el control del caracol (*Achatina fulica*) en el cultivo de arroz (*oriza sativa*). <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/12057>
- Moosavi, M. R., Zare, R., Zamanizadeh, H. R., & Fatemy, S. (2010). Pathogenicity of *Pochonia* species on eggs of *Meloidogyne javanica*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 104(2), 125–133. <https://doi.org/10.1016/J.JIP.2010.03.002>

- 
- Moreno Suárez, J. R., Gaviria Gutiérrez, B. M., Navarro Álzate, R., Durán Rivera, B., Vargas Duque, Á., Aguirre Correa, P., & Quiroz Vélez, C. E. (2008). Babosas en cultivos del valle de San Nicolás (cercano oriente antioqueño). <https://www.bioquirama.com/pdf/Babosas-cultivos-valle-SN.pdf>
- Motta-Delgado, P., Água-An, B. M.-O.-A. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. *Redalyc.Org*. <https://doi.org/10.4136/1980-993X>
- Pérez-Cogollo, L. (2018). Toxicidad y efectos adversos de las lactonas macrocíclicas sobre los escarabajos estercoleros: una revisión. *Scielo.Org.Mx*. Retrieved November 11, 2022, from [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-34532018000501293](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-34532018000501293)
- POKONIA*® SC. (2018, January 18). BIOINSUMO DE USO AGRÍCOLA, Inoculante Biológico. [https://bioquirama.com/frascos\\_fichas/pokonia.pdf](https://bioquirama.com/frascos_fichas/pokonia.pdf)
- Speiser, B., & Kistler, C. (2002). Field tests with a molluscicide containing iron phosphate. *Crop Protection*, 21(5), 389–394. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(01\)00120-X](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(01)00120-X)
- Srinivasan, K. (2016). Biological Activities of Red Pepper (*Capsicum annum*) and Its Pungent Principle Capsaicin: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(9), 1488–1500. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.772090>

## Anexos

### Anexo 1

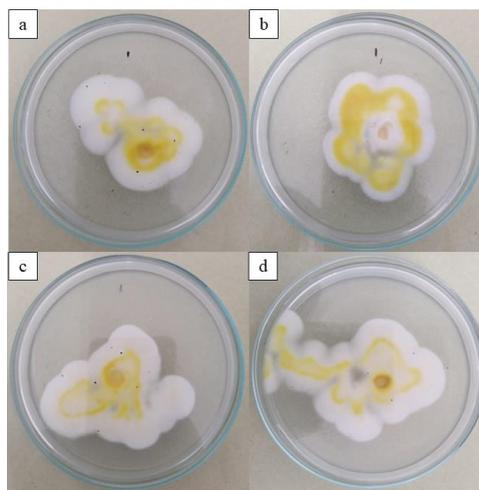
*Prueba de compatibilidad Pochonia chlamydosporia en conjunto con extracto de ají (a) 10%, (b) 15%, (c) 20%, (d) 25%*



*Nota: imagen propia.*

### Anexo 2

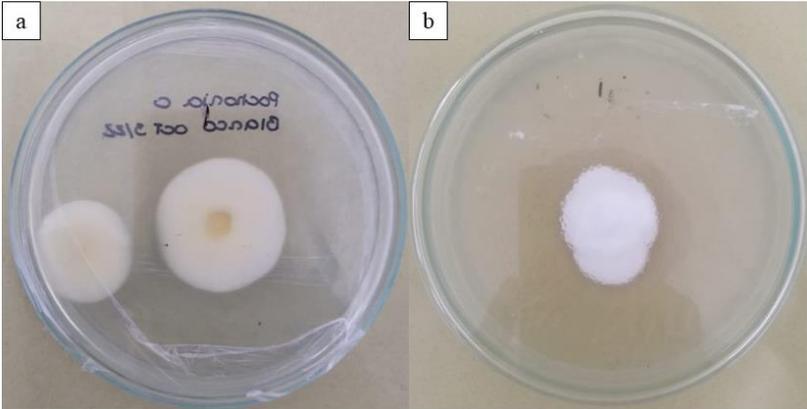
*Prueba de compatibilidad Pochonia chlamydosporia en conjunto con ácido bórico (a) 200 ppm, (b) 300 ppm, (c) 400 ppm, (d) 500 ppm*



*Nota: imagen propia.*

**Anexo 3**

*Controles pruebas de compatibilidad (a) extracto de ají, (b) ácido bórico*



*Nota: imagen propia.*