

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO E INSTITUTO DE ZOOLOGÍA AGRÍCOLA



Identificación de la malacofauna de interés agrícola del municipio Tovar, estado Aragua, Venezuela

Guillermo A., Perichi C.

Maracay, 2014

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO E INSTITUTO DE ZOOLOGÍA AGRÍCOLA

Identificación de la malacofauna de interés agrícola de la Colonia Tovar, estado Aragua, Venezuela

Trabajo presentado ante el Consejo de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, en cumplimiento de los requisitos pautados en la Ley de Universidades vigente, para ascender a la categoría de **PROFESOR ASISTENTE** dentro del personal docente y de investigación.

Dedicatoria

Con todo el amor del mundo a mi esposa Anyuris y a nuestro bebé Sebastián, a mis padres (Guillermo y Emeliglé) y hermanos (Carlos, Oscar y Verónica).

AGRADECIMIENTO

A Dios, El Gran Diseñador de todo lo bueno que nos rodea y cuya fuerza nos mueve y guía sin darnos cuenta.

Por su colaboración desinteresada en la realización de este trabajo, deseo expresar mi agradecimiento a las personas que a continuación se nombran: Ing. Agr. Cruz Berbín, Dr. Renato Crozzoli, Ing. Agr. Pablo D'enjoy, Ing. Agr. Franklin Vásquez, Prof. Francisco Mateo, Prof(a). Bárbara Nienstaedt y Prof(a) Lilian Fuentes (UCLA) y muy especialmente a la Ing. Agr. Verónica Rojas Gutt y al Bachiller Wilson Zarraga.

Por su participación y apoyo a los productores: Alejandrina Romero, Alejandro Straga, Aurora Misle, Juanita Zambrano, Miguel Almenar, Pedro Pablo Fernández y Zuleima Gutt. También quiero expresar mi agradecimiento, a los profesores Luis Angulo Graterol y Catalina Ramis del Laboratorio de Genética Molecular del Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola (CIBA) por el establecimiento del protocolo PCR-RAPD e identificación molecular de las babosas.

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (MCTI) a través del proyecto No. 2012000634 “IDENTIFICACIÓN DE LA MALACOFUNA DE INTERÉS AGRÍCOLA DEL MUNICIPIO TOVAR, ESTADO ARAGUA Y ALGUNAS ALTERNATIVAS AGROECOLÓGICAS PARA SU CONTROL”.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
ÍNDICE DE CUADROS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	x
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO GENERAL.....	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA	
Generalidades de los moluscos y su importancia.....	4
Clasificación y posición taxonómica.....	4
Recolección, conservación y técnicas de estudio e identificación de gasterópodos terrestres.....	5
Daños en cultivos causados por moluscos de interés agrícola e importancia para Venezuela.....	6
MATERIALES Y MÉTODOS	
Entrevista a los productores de la Colonia Tovar.....	10
Identificación morfoanatómica de especies de moluscos de interés agrícola.....	10

Establecimiento de un protocolo preliminar de extracción de ADN de babosas.....	17
Identificación molecular de las babosas mediante RAPD.....	19
Estimación de la densidad poblacional de los moluscos.....	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
Entrevista a los productores de la Colonia Tovar.....	22
Identificación morfoanatómica de especies de moluscos de interés agrícola.....	28
Establecimiento de un protocolo preliminar de extracción de ADN de babosas.....	42
Identificación molecular de las babosas mediante RAPD.....	46
Estimación de la densidad poblacional de los moluscos.....	49
CONCLUSIONES.....	62
RECOMENDACIONES.....	63
LITERATURA CITADA.....	64
ANEXOS.....	73

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Datos de los productores participantes y ubicación (sitios) de las trampas-refugios en la Colonia Tovar, estado Aragua, Venezuela.....	12
2	Resumen comparativo de las tres metodologías empleadas para la extracción de ADN genómico de las babosas.....	45
3	Bandas únicas de los cebadores RAPD utilizados en la Identificación molecular de las especies de babosas.....	47
4	Especies y ejemplares de moluscos (babosas y caracoles) que se registraron en los diferentes sitios inspeccionados en la Colonia Tovar, estado Aragua para el periodo Febrero-October (2013).....	51
5	Diferencias en la abundancia relativa de moluscos (babosas y caracoles) que se registraron en los diferentes sitios inspeccionados en la Colonia Tovar, estado Aragua para el periodo Febrero-October (2013).....	51
6	Descripción de entorno donde fueron ubicadas las trampas-refugios en la Colonia Tovar.....	52
7	Datos de precipitación (mm) y temperatura (°C) mínima, media y máxima para la Colonia Tovar, estado Aragua, Venezuela.....	54
8	Valores mensuales de densidad estimada de moluscos (babosas y caracoles) a lo largo del periodo de estudio Febrero-October (2013).....	57
9	Intervalos de confianza [IC(70%)] y error de estimación (%) de la densidad de moluscos (babosas y caracoles).....	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Ubicación (sitios) de las trampas-refugios en la Colonia Tovar, estado Aragua.....	11
2	Instalación de trampas-refugios en la Colonia Tovar, estado Aragua.....	14
3	Dirección del corte de disección para las babosas.....	15
4	Proporción (%) y frecuencia de respuestas de los entrevistados ante la pregunta: En su opinión, ¿los daños ocasionados por los siguientes agentes biológicos en el municipio representan?.....	23
5	Proporción (%) y frecuencia de respuestas de los entrevistados ante la pregunta: ¿Cómo ha evolucionado el problema en los últimos cinco años?.....	23
6	Proporción (%) y frecuencia de respuestas de los entrevistados ante la pregunta: ¿El conocimiento que usted tiene sobre las enfermedades y plagas ocasionadas por los siguientes agentes biológicos es?.....	26
7	Proporción (%) y frecuencia de respuestas de los entrevistados ante la pregunta: ¿Las medidas de control adoptadas por usted sobre las enfermedades y plagas ocasionadas por los siguientes agentes biológicos han resultado?.....	26
8	Aspecto morfológico externo de <i>Arion subfuscus</i> . A) Tentáculos posteriores (Tp), pneumostoma (N), manto (M) y cola (C). B) Coloración. C) Ojos (O), tentáculos anteriores (Ta) y glándula caudal (Gc). D-E) Bandas laterales. F) Órganos reproductores. G) Huevos.....	29

9	Estructura radular de <i>Arion subfuscus</i> . A) Diente central (dc) y primeros dientes laterales (dl). B) Dientes marginales (dm). C) Detalle del diente central (dc). D) Detalle dientes laterales (dl). Estructura radular de <i>Deroceras reticulatum</i> . E) Diente central (dc) y primeros dientes laterales (dl). F) Detalle del diente central (dc). G) Detalle del diente marginal (dm).....	30
10	Mandíbulas y conchas. A) Mandíbula de <i>Arion subfuscus</i> . B) Mandíbula de <i>Deroceras reticulatum</i> con lobulo cenral (lc). C) Mandíbula de <i>Lehmannia valentiana</i> . D) Limacela de <i>Deroceras reticulatum</i> . E) Limacela de <i>Lehmannia valentiana</i> . F) Conchas de <i>Helix aspersa</i> (A=Abertura; B=Borde; E=Espira y S=Sutura).....	32
11	Genitalia de <i>Arion subfuscus</i> . A) Glándula hermafrodita y epifalo. Genitalia de <i>Deroceras reticulatum</i> . B) Glándula hermafrodita. C) Pene. Genitalia de <i>Lehmannia valentiana</i> . D) Glándula hermafrodita. E) Glándula hermafrodita cubierta parcialmente por la glándula digestiva y pene con apéndice digitiforme (E1).....	33
12	Aspecto morfológico externo de <i>Deroceras reticulatum</i> . A) Manto (M) y ubicación del pneumostoma (N). B) Detalle de los retículos del cuerpo. C) Órganos reproductores. D-E) Variaciones en la coloración.....	36
13	Aspecto morfológico externo de <i>Lehmannia valentiana</i> . A) y B) Detalle de las tres bandas de color castaño oscuro. Aspecto morfológico externo de <i>Helix aspersa</i> . C) Vista dorsal. D) Vista lateral.....	39
14	Rádula de <i>Lehmannia valentiana</i> . A) Diente central (dc) y dientes laterales (dl). Rádula de <i>Sarasinula plebeia</i> (sietecuero). B) Diente central (dc) y dientes laterales (dl). Rádula de <i>Helix aspersa</i> . C-D) Diente central (dc) y dientes laterales (dl). E) Mandíbula. F) Dientes marginales (dm).....	40
15	Visualización de la cantidad y calidad de los ADN extraído mediante tres protocolos, en gel de agarosa 0,8% teñido con bromuro de etidio, visualizado con luz UV y fotografiado con analizador de imagen.....	43

16	Productos RAPD-PCR observados en geles de agarosa (1,5%) para dos especies de babosas. A) OPA-02 y B) OPA-09. Los lugares (1 al 10) corresponden a <i>Arion subfuscus</i> y (11 al 20) <i>Deroceras reticulatum</i>	43
17	Dendrograma obtenido del análisis de agrupamiento utilizando el método UPGMA, a partir del coeficiente de Jaccard, para las dos especies de babosas.....	47
18	Relación de especies y ejemplares de moluscos (babosas y caracoles) que se registraron en la Colonia Tovar, estado Aragua para todo el periodo de estudio Febrero-October (2013).....	50
19	Estructura poblacional de las babosas (moluscos desnudos) registradas en la Colonia Tovar, estado Aragua para todo el periodo de estudio Febrero-October (2013).....	50
20	Variación de la abundancia relativa de moluscos (babosas y caracoles) que se registró en todo los sitios y para todo el periodo de estudio Febrero-October (2013).....	55
21	Climograma de la Colonia Tovar, estado Aragua, Venezuela. Fuente: http://www.es.climate-data.org . Fecha de consulta: 5/12/2013.....	55
22	Tijeretas y ciempiés que coexistieron en los refugios junto con las babosas y caracoles, en la Colonia Tovar, estado Aragua, Venezuela.....	56

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Cuestionario exploratorio realizado a productores de la Colonia Tovar, estado Aragua.....	73
2	Registro de abundancia del sitio 1.....	75
3	Registro de abundancia del sitio 2.....	76
4	Registro de abundancia del sitio 3.....	77
5	Registro de abundancia del sitio 4.....	78
6	Registro de abundancia del sitio 5.....	79
7	Registro de abundancia del sitio 6.....	80
8	Registro de abundancia del sitio 7.....	81
9	Registro de la temperatura (T) y humedad relativa (HR) tomada <i>in situ</i> durante cada inspección.....	82
10	Registro de la temperatura (T) y humedad relativa (HR) tomada <i>in situ</i> durante cada inspección (continuación).....	83

11	Lesiones causadas por babosas y caracoles en diferentes especies cultivadas en la Colonia Tovar y Estación Bajo Seco (UCV). A) Acelga. B-C) Ajo porro. D-F) Brócoli. G-H) Fresa.....	84
12	Lesiones causadas por babosas y caracoles en diferentes especies cultivadas en la Colonia Tovar y Estación Bajo Seco (UCV). A-B) Lechuga. C) Higo. D) Maíz. E) Papa. F) Remolacha. G) Tomate...	85
13	Lesiones causadas por babosas y caracoles en diferentes especies cultivadas en la Colonia Tovar y Estación Bajo Seco (UCV). A) Lechuga. B) Maíz.....	86

RESUMEN

Con el fin de identificar especies de moluscos (babosas y caracoles) de importancia agrícola en el municipio Tovar, estado Aragua, se realizó un muestreo en siete localidades productoras de hortalizas de la Colonia Tovar. Previamente, se realizó una entrevista preliminar para conocer la percepción que tienen los productores sobre diferentes plagas y enfermedades. Posteriormente, se dispuso de un total de 84 trampas-refugio, las cuales se elaboraron manualmente a partir de láminas de anime de 25 mm de espesor. Cada trampa consistió en un cuadrado de este material, de 25 x 25 cm, sujetadas con una cabilla de 1/8" de diámetro y 40 cm de longitud en forma de "L" para evitar que el viento o los animales la desplazaran. Se realizaron 9 inspecciones en cada localidad, desde enero hasta octubre de 2013. Cada mes, las trampas se voltearon y se revisaron una a una participando siempre dos observadores en el examen de las mismas. Las babosas y los caracoles localizados en la cara inferior de las trampas, o en el suelo bajo ellas fueron llevados al laboratorio de Zoología Agrícola de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela (UCV) en Maracay e identificados con base a su morfología externa e interna (genitalia, estructura radular y mandíbula) y ADN (PCR-RAPD). Finalmente, se estimó la densidad poblacional mediante un muestreo por cuadros. El 61,4% de los entrevistados, consideraron que las babosas constituyen un grave problema. Mientras que el 27,3% manifestó que los caracoles son un problema en algunos cultivos solamente durante la época lluviosa. Cuatro especies fueron identificadas: *Arion subfuscus*, *Deroceras reticulatum*, *Lehmannia valentiana* (babosas) y *Helix aspersa* (caracol común de jardín). Las babosas *A. subfuscus* y *D. reticulatum* son las especies más abundantes y las que mayores daños provocan en brócoli, coliflor, fresa y lechuga. Por último, la densidad promedio estimada de *A. subfuscus*, *D. reticulatum*, *L. valentiana*, Juveniles (babosas) y *H. aspersa* para todo el periodo de estudio fue de 68, 33, 5, 55 y 1 ejemplares/m², respectivamente. En Venezuela, se conoce muy poco sobre la biología de estas especies y de los posibles agentes de biocontrol por lo que se necesitan ulteriores estudios para dilucidar estos importantes aspectos.

ABSTRACT

In order to identify species of molluscs (slugs and snails) of agricultural importance in the Tovar municipality, Aragua state, a sampling was conducted in seven localities of the Colonia Tovar. A preliminary interview was conducted to know the perception that farmers have about on different pests and diseases. Subsequently, were available of a total of 84 shelter-traps, which were manufactured with styrofoam of 25 mm thick. Each trap consisted of a square of this material, of 25 x 25 cm, fastened with a rod of 1/8" diameter and 40 cm length in an L-shape to prevent wind or animals moving it. Nine inspections were conducted in each locality, from January to October 2013. Each month, the traps are turned and reviewed one by one involved always two observers in the examination of the same. Slugs and snails that are located on the underside of the traps, or on the floor under them were brought to the laboratory de Zoología Agrícola de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela (UCV) in Maracay and were identified based on external and internal morphology (genitalia, radular structure and jaw) and DNA (PCR-RAPD). Finally, the population density was estimated using a sampling square. The 61.4% of the farmers considered the slugs a serious problem. While the 27.3% stated that snails are a problem in some crops only during the rainy season. Four species were identified: *Arion subfuscus*, *Deroceras reticulatum*, *Lehmannia valentiana* (slugs) and *Helix aspersa* (common garden snail). The slugs *A. subfuscus* and *D. reticulatum* are the most abundant species and causing further damage in broccoli, cauliflower, strawberries and lettuce. The average density estimated of *A. subfuscus*, *D. reticulatum*, *L. valentiana*, Juveniles (slugs) and *H. aspersa* for the whole period of study was 68, 33, 5, 55 and 1 specimens/m², respectively. In Venezuela, the knowledge about the biology of these species and its potential biocontrol agents are very scarce and studies to elucidate these important aspects are necessary.

INTRODUCCIÓN

El municipio Tovar se encuentra ubicado en la parte oriental de la zona nortecostera del estado Aragua, tiene un territorio de 28923 has, que equivalen a 289,23 Km² lo que representa un 4,02% del territorio aragüeño. Es uno de los pocos municipios en el país que produce cultivos de clima templado, tales como duraznero (*Prunus persica* L.) y fresa (*Fragaria vesca* L.), cuya producción es de primer orden. Asimismo produce remolacha (*Beta vulgaris* var. *vulgaris* L.), coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.), zanahoria (*Daucus carota* L.), repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.), acelga (*Beta vulgaris* var. *cicla* L.), brócoli (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.), lechuga (*Lactuca sativa* L.), cebollín (*Allium schoenoprasum* L.) y papa (*Solanum tuberosum* L.), cultivos que frecuentemente se ven afectados por moluscos terrestres, especialmente babosas (Fernández de Valera, 1982; Cadenas, 2002).

Los moluscos terrestres (caracoles, babosas y sietecueros), revisten gran importancia económica debido a los daños que ocasionan al alimentarse de hojas, tallos, bulbos, flores y raíces de plantas cultivadas; igualmente pueden alimentarse de plantas no cultivadas (Campos y Calvo, 2006; Moreno *et al.*, 2008). Para Venezuela, Fernández de Valera (1982) señaló las siguientes especies de babosas: *Arion subfuscus* Draparnaud, *Deroceras reticulatum* Müller, *Deroceras laeve* Müller, *Milax gagates* Draparnaud y *Lehmannia valentiana* Ferussac, mientras que las de sietecuerdo fueron: *Diplosolenodes bielenbergi* Semper, *Forcartulus coerulescens* Semper, *Latipes pterocaulis* Simroth, *Microveronicella diminuta* Simroth y *Sarasinula plebeia* Fischer.

La especie *Achatina fulica* Bowdich, también ha sido señalada en nuestro país. La voracidad con que se alimenta, así como su velocidad de dispersión hace que sea considerada como el caracol terrestre más perjudicial. Entre las especies de plantas de importancia económica atacadas por este molusco se señala algodón (*Gossypium* spp.), auyama (*Cucurbita pepo* L.), cacao (*Theobroma cacao* L.), lechuga (*Lactuca sativa* L.) y piña (*Ananas cosmosus* L.). Por otra parte, *A. fulica* es considerada como el vector del

nematodo *Angiostrongylus cantonesis* Chen agente causal de la meningitis eosinofílica patológica que afecta al ser humano (Martínez y Martínez, 1997; Norman *et al.*, 2010).

En 1997 en Yumare, estado Yaracuy, se detectaron en condiciones de campo, poblaciones de caracoles de la especie *Orthalicus maracaibensis* Polsboy, causando daños severos en tallos y ramas de plantas de naranja dulce [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] var. Valencia y lima Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka). Estos daños causaron muerte parcial o total de las plantas afectadas, convirtiéndose en plaga primaria de estos dos cultivos (Ordosgoitti, 1999).

El conocimiento de los moluscos terrestres y especialmente los de interés agrícola en Venezuela es escaso. En este sentido, el propósito de la presente investigación fue dar a conocer al sector campesino del municipio Tovar, estado Aragua y a la comunidad interesada, los principales moluscos de interés agrícolas y el daño que causan en los cultivos. Por otra parte, este trabajo también tiene el objeto de que en el futuro inmediato podamos profundizar los estudios de biología de estos organismos para diseñar y establecer métodos de manejo para los diferentes grupos de moluscos identificados.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la importancia que revisten los moluscos en los cultivos agrícolas de la Colonia Tovar, estado Aragua, Venezuela.

OBJETIVO ESPECÍFICOS

Entrevistar algunos productores para conocer su percepción sobre los moluscos plagas.

Identificar morfoanatómicamente géneros y especies de moluscos de interés agrícola.

Establecer un protocolo preliminar de extracción de ADN de babosas

Identificar molecularmente las babosas mediante RAPD.

Estimar la densidad poblacional de moluscos de interés agrícola.

REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades de los moluscos y su importancia

Los miembros del filo de los Moluscos figuran entre los invertebrados más notables e incluyen formas tan conocidas como almejas, babosas, calamares, caracoles y sietecueros. Constituyen el filo más grande de invertebrados junto con los artrópodos. Han sido descritas más de 50000 especies vivientes y, además, se conocen unos 35000 fósiles, debido a que este grupo tiene una larga historia geológica (Hickman *et. al.*, 1998).

Los moluscos se caracterizan por presentar una región cefálica a veces no bien definida, un pie ventral y una masa visceral dorsal rodeada por un manto fino, el cual puede segregar una concha interna o externa; sin embargo, en algunos grupos, la concha está reducida o ausente. Por otra parte, son animales que tienen simetría bilateral, celoma reducido, sistema digestivo completo, sistema excretor metanefridial, sistema circulatorio abierto, sistema respiratorio que puede ser branquial o pulmonar y un sistema nervioso conformado por tres ganglios (Barnes, 1968; Fuentes, 2006).

La importancia de los moluscos radica en que algunos grupos son fuente de alimento para los animales y el ser humano, otros se emplean como especies bioindicadoras de la contaminación, forman parte del reciclaje de nutrientes en los bosques, algunos son vectores de enfermedades de importancia médico-veterinaria y algunos son considerados plagas en numerosos cultivos (Fernández de Valera, 1982; Barrientos, 2003).

Clasificación y posición taxonómica

Este filo tiene una larga y compleja historia taxonómica, en la que se han empleado centenares de nombres para los diferentes taxones. Tradicionalmente se han separado en siete clases: Aplacophora, Bivalvia, Cephalopoda, Gastropoda, Monoplacophora, Polyplacophora y Scaphopoda. Aunque los miembros de estas siete clases tienen unos

aspectos superficiales sumamente diferentes, son extraordinariamente similares en cuanto a su organización (Brusca y Brusca, 2005).

Los moluscos de la clase Gastropoda constituyen el grupo de invertebrados más exitosos en los ecosistemas terrestres. Esta clase, se divide en tres subclases: Prosobranquia, Opistobranquia y Pulmonata; las dos primeras son casi exclusivamente marinas, con unos pocos representantes de agua dulce y en ambiente terrestre, en tanto que los Pulmonata son predominantemente terrestres (Vera-Ardila, 2008).

Los pulmonados terrestres, que comprenden la mayoría de los caracoles y babosas terrestres, pertenecen al orden Stylommatophora, en tanto que los dulceacuícolas y marinos pertenecen en su mayoría a los ordenes Basommatophora y Mesogastropoda (Brusca y Brusca, 2005). Sin embargo, existen muchas discrepancias entre los diferentes autores, para ubicar las familias, géneros y/o especies (Moreno *et al.*, 2008).

Recolección, conservación y técnicas de estudio e identificación de gasterópodos terrestres

Los gasterópodos terrestres son animales higrófilos y deben ser buscados en zonas donde haya un alto grado de humedad. Por el día se encuentran bajo piedras, troncos o cartones; pero el mayor número de individuos se observa durante la noche, cuando la humedad relativa es cercana al 100% y la temperatura es de 17°C-20°C (Andrews y López, 1987; Castillejo, 1998; Barrientos, 2003).

Para guardar y transportar las capturas se puede utilizar bolsas de plástico o frascos; para mantener un grado de humedad adecuado dentro del recipiente es aconsejable introducir papel humedecido o un poco de vegetación (Barrientos, 2003).

Los gasterópodos terrestres se pueden preservar en etanol al 70%, pero es necesario sacrificarlos antes. Esto se logra introduciendo los individuos en un recipiente lleno de agua

hasta arriba, tapado de forma que no queden burbujas de aire. Al cabo de 24 horas los ejemplares habrán muerto con los órganos relajados (Castillejo, 1998).

En cuanto a la disección de babosas, es necesario disponer de tijeras quirúrgicas, bisturí, pinzas y alfileres. Luego se procede con una incisión poco profunda por el lado derecho del cuerpo, cortando longitudinalmente por encima del borde del pie. Con ayuda de alfileres se separan las paredes, y en el centro aparecerá la masa visceral. La descripción morfológica no se debe basar exclusivamente en la topografía externa, sino que también es necesario ver cómo es el órgano estimulador, y si tiene o no pliegues en el interior de los distintos conductos (Castillejo, 1998; McDonnell *et al.*, 2009).

Mientras que las técnicas moleculares de ADN a nivel taxonómico, son útiles para distinguir especies, subespecies y otros niveles cuando ello no es factible por técnicas morfológicas. El ADN se puede analizar en varios niveles: polimorfismos ADN nuclear, ADN mitocondrial, secuencias repetidas en serie y secuenciación de ADN (Monge, 2003).

Daños en cultivos causados por moluscos de interés agrícola e importancia para Venezuela

La bibliografía existente sobre especies de moluscos de interés agrícola en el país, así como los daños causados por éstos en algunos cultivos, descripción y evaluación de los mismos es muy escasa por diversas razones; sin embargo, la que más destaca es el muy bajo número de especialistas. Hasta el presente se sospecha de la existencia de 28 especies de moluscos, todos foráneos (Fernández de Valera, 1982; Ojasti, 2001; Fuentes, 2006).

Una de las primeras citas sobre moluscos terrestres en Venezuela es la de Ernst (1876), en donde se señala al género *Vaginulus* Férussac y *Limax* Linnaeus (Fernández de Valera, 1982).

En un trabajo sobre la malacofauna del municipio Baruta (El Hatillo) señalaron a las especies de caracoles *Eudolichotis distorta* (Bruguière) Pilsbry, *Eudolichotis euryomphala*

(Jonas) Pilsbry, *Plekocheilus marmoratus* (Dunker) Baker, *Megalobulimus oblongus* (Müller) Miller, *Biomphalaria glabrata* (Say) Preston y *Pomacea glauca* Linnaeus (Arias, 1952).

Otras especies de moluscos terrestres que se mencionan para Venezuela son *Lymnaea columellaris* Say, *Lymnaea cubensis* Pfeifer y *Aplexa rivalis* Soweby (Martínez y Miranda, 1968).

La especie *Orthalicus maracaibensis* Polsoy, también ha sido señalado en el país. Este caracol produce daños severos en tallos y ramas de plantas de naranja dulce [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] var. Valencia y lima Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka) (Ordosgoitti, 1999).

El caracolito de jardín de la especie *Subulina octona* Bruguière, está ampliamente distribuido en Venezuela y posiblemente sea uno de los caracoles más comunes en cultivos hortícolas y plantas ornamentales (Pérez y López, 2003).

En cuanto a las babosas, destaca el trabajo de Fernández de Valera (1982) en el cual señala que las babosas encontradas en Venezuela, hasta esa fecha pertenecen a dos familias: Arionidae con la especie: *A. subfuscus* y Limacidae con cuatro especies: *D. laeve*, *D. reticulatum*, *L. valentiana* y *M. gagates*.

Las babosas han sido reportadas en Venezuela como plaga de diferentes cultivos principalmente hortalizas; sin embargo, se han observado causando daños en caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), café (*Coffea arabica* L.), maíz (*Zea mays* L.), plantas jóvenes de lechosa (*Carica papaya* L.), Musáceas y plantas ornamentales (Salinas, 1982; Thome, 1993).

La especie *A. subfuscus*, ha sido señalada atacando cultivos de achicoria, berro, col de Bruselas, durazno, espinaca de Nueva Zelanda, remolacha y rábano en la Colonia Tovar, estado Aragua (Fernández de Valera, 1982).

La babosa gris chica, *D. laeve*, también ha sido señalada en la Colonia Tovar atacando principalmente cultivos hortícolas tales como brócoli, coliflor, lechuga y repollo (Fernández de Valera, 1982).

La babosa gris, *D. reticulatum*, es una de las especies más comunes mundialmente; sin embargo, en Venezuela ha sido señalada solamente en los estados Aragua (Colonia Tovar) y Miranda atacando los mismos cultivos que la especie anterior. No obstante, en otras partes del mundo también ha sido señalada ocasionando daños en los cultivos de girasol, soya y maíz (Fernández de Valera, 1982; Clemente *et al.*, 2007).

L. valentiana, es originaria de la península ibérica y ha sido introducida a América, África y Nueva Zelandia. En el país ha sido solamente señalada en los estados Mérida, Táchira y Trujillo causando daños en papa y zanahoria (Fernández de Valera, 1982; Moreno *et al.*, 2008).

M. gagates, también es una babosa originaria de la península ibérica y en Venezuela ha sido señalada en los estados Andinos (Mérida, Táchira y Trujillo) ocasionado daños importantes en ajo, brócoli, coliflor, papa y zanahoria. En Mérida se encontró asociada al hongo *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerheim (Fernández de Valera, 1982; Moreno *et al.*, 2008).

En cuanto a las babosas tropicales de la familia Veronicellidae (sietecueros), Fernández de Valera (1982) reportó a *S. plebeia* Fischer en Aragua, Mérida, Miranda, Monagas y Táchira sobre crisantemo, lechuga, repollo y zanahoria.

En toda Centroamérica los veronicélidos son responsables de daños en frijol y en Colombia tienen una amplia distribución en la zona cafetalera, reportándose como el causante del anillado del tallo de cafeto (Moreno *et al.*, 2008; IICA, 2010).

En Brasil, se ha reportado la especie *S. plebeia* causando daños en 60% de las hojas en las fases iniciales del cultivo de la caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) con pérdidas significativas en la producción (Magalhães y Carvalho, 1988).

Esta familia ha sido escasamente tratada en la literatura malacológica venezolana las citas de sus especies se refieren a las señaladas por Thome (1974). En este sentido, varias especies de verónicelidos han sido reportadas como hospedantes intermediarios de parásitos que afectan la salud humana, así también como plagas de cultivos agrícolas (Maceira, 2003).

La información sobre evaluación y extensión de daños que ocasionan las babosas al alimentarse es escasa por lo que es difícil estimar cuando es que comienzan a convertirse en una plaga (Fuentes, 2006).

Se ha estimado que una babosa por cada metro cuadrado (1 babosa/m²) de superficie cultivada puede dañar el 16% de las plántulas de frijol y reducir los rendimientos en 16% (Andrews y Huezo, 1983).

En girasol, la presencia de 2 a 10 babosas/m² es una cantidad suficiente para realizar la aplicación de metaldehído (Ves Losada, 1999).

En lupino (*Lupinus* spp.), una población de 100 babosas/m² es una densidad considerada sobre el nivel de daño económico para este rubro lo que obliga al agricultor a aplicar molusquicidas al menos dos veces durante el ciclo del cultivo (France *et al.*, 2002).

No obstante, se les ha prestado muy poca atención a las babosas como plagas, debido a que sus daños tienden a ser localizado, son animales impredecibles y difíciles de controlar. En general podemos señalar que las babosas y sietecueros son plagas importantes cuando atacan de forma masiva a los cultivos y esto ocurre generalmente en los periodos de alta humedad cuando alcanzan poblaciones muy altas (Fuentes, 2006).

MATERIALES Y MÉTODOS

Entrevista a los productores de la Colonia Tovar

Para conocer la percepción que tienen los productores sobre diferentes plagas y enfermedades en la Colonia Tovar, se utilizó como instrumento de exploración preliminar una entrevista personalizada. Se realizaron 44 entrevistas y en las mismas se formularon preguntas referentes a los daños ocasionados por diferentes plagas y enfermedades, la evolución del problema en los últimos 5 años, las medidas de control adoptadas y el conocimiento que se tiene de la plaga y/o enfermedad. También la entrevista recoge información acerca de que instituciones han estudiado los diferentes problemas de plagas y enfermedades y si estas han brindado asistencia técnica (Anexo 1).

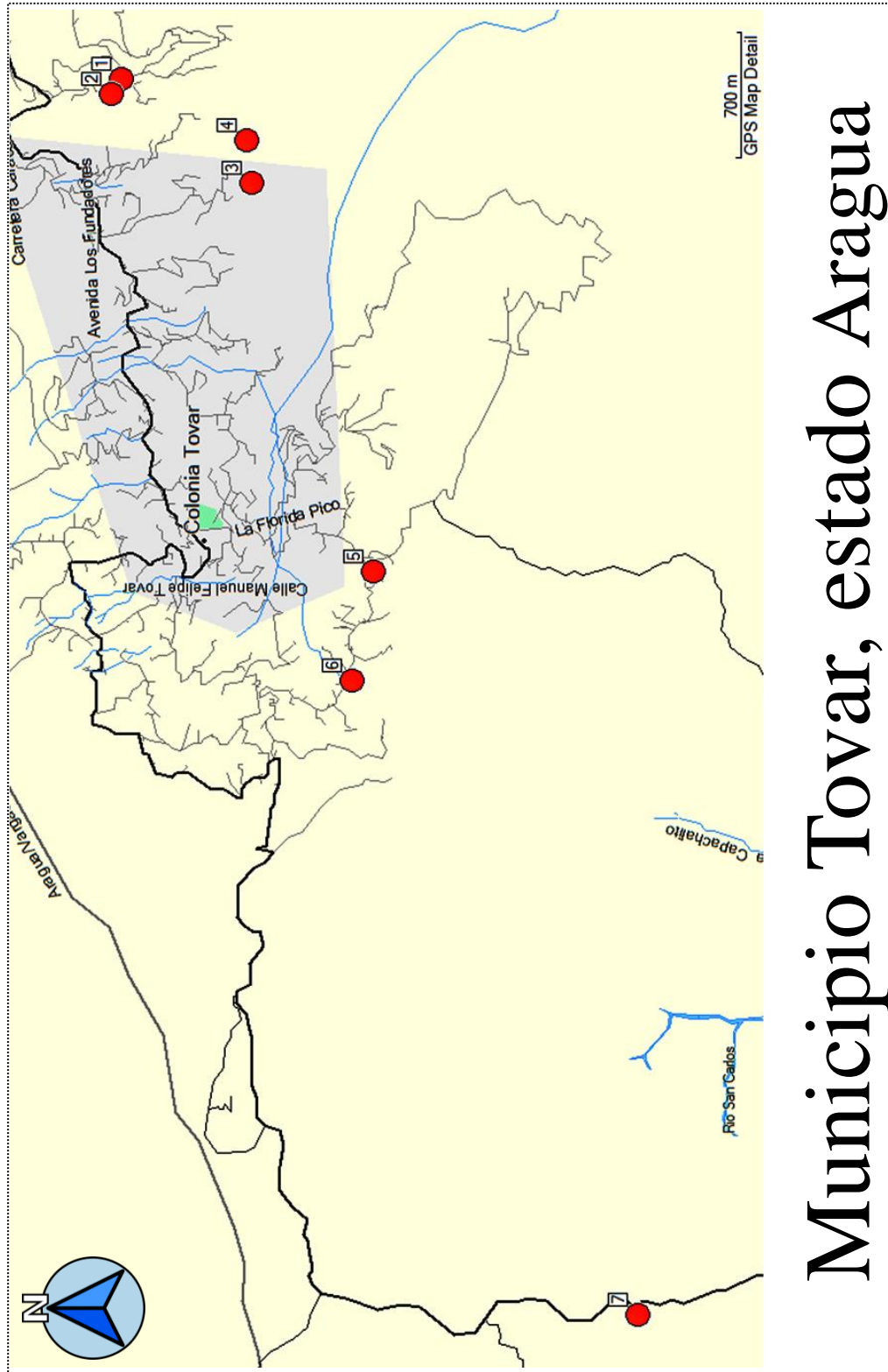
Identificación morfoanatómica de especies de moluscos de interés agrícola

Muestreos y/o inspecciones

Se realizó un reconocimiento taxonómico de la malacofauna de interés agrícola (gasterópodos terrestres) en siete localidades productoras de hortalizas en la Colonia Tovar (Figura 1). La altitud y posición geográfica (latitud y longitud) se precisó mediante un GPS Garmin ETREX-10 (Cuadro 1). En cada una de las localidades se realizaron 9 inspecciones con una periodicidad comprendida entre 4 y 5 semanas. Las inspecciones consistieron en la revisión de las trampas-refugios para gasterópodos terrestres colocadas en el suelo del sitio seleccionado.

Trampas

Para comprobar la funcionabilidad de las trampas se llevó a cabo una prueba piloto en la Estación Experimental Bajo Seco de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central (UCV) entre los meses de noviembre y diciembre del año 2012. Posteriormente, en enero de 2013, en cada uno de los sitios seleccionados en la Colonia Tovar, se colocaron



Municipio Tovar, estado Aragua

Figura 1. Ubicación (sitios) de las trampas-refugios en la Colonia Tovar, estado Aragua.

Cuadro 1. Datos de los productores participantes y ubicación (sitios) de las trampas-refugios en la Colonia Tovar, estado Aragua, Venezuela.

Sitio	Productor(es)	Sector	Latitud	Longitud	Altitud (msnm)	Cultivo(s)
1	Carmen y Pedro Fernández	La Capilla	N 10°24'46,8"	W 067°15'56,4"	1906	Fresa
2	Miguel Almenar	La Capilla	N 10°24'48,7"	W 067°15'59,0"	1924	Fresa y Flores
3	Juanita Zambrano	El Pauji	N 10°24'23,3"	W 067°16'15,4"	1742	Hortalizas
4	Alejandrina Romero	El Pauji	N 10°24'24,3"	W 067°16'07,7"	1731	Hortalizas
5	Zuleima Gutt	Palmarito	N 10°24'01,2"	W 067°17'26,7"	1940	Lechuga
6	Aurora Misle	Cruz Verde	N 10°24'05,1"	W 067°17'46,7"	2004	Fresa
7	Alejandro Straga	La Lagunita	N 10°23'13,6"	W 067°19'43,2"	2046	Fresa

12 trampas-refugios, las cuales se elaboraron manualmente a partir de láminas de anime de 25 mm de espesor. Cada trampa consistió en un cuadrado de este material, de 25 x 25 cm, sujetadas con una cabilla metálica de 1/8" de diámetro y 40 cm de longitud en forma de "L" para evitar posibles desplazamientos por el viento o por los animales. Con este diseño lo que se pretendió fue crear debajo de cada trampa un ambiente fresco, húmedo y adecuado para los gasterópodos terrestres (Córdoba, 2009; McDonnell *et al.*, 2011).

Las trampas se etiquetaron y se colocaron homogéneamente sobre una superficie de 0,75 m² de cada sitio (cercano al área de cultivo) en bloques de 4 x 3 para un total 84 trampas-refugios (Figura 2). Durante la inspección, cada trampa fue revisada participando siempre dos observadores en el examen de las mismas. Se registró el número de individuos/especie, la temperatura del aire (°C), humedad relativa (%HR) y la presencia de huevos de gasterópodos, anotando el número de puestas en cada trampa, considerando como una puesta cualquier huevo aislado o cualquier masa individual de huevos (Córdoba, 2009).

Caracterización morfológica de moluscos de interés agrícola

Los gasterópodos terrestres localizados en la cara inferior de las trampas, o en el suelo bajo ellas fueron caracterizados mediante su aspecto corporal externo. En el caso de las babosas, los caracteres utilizados para la descripción fueron: tamaño (longitud del cuerpo cuando está extendido), coloración del cuerpo, textura del manto, posición del neumostoma (poro respiratorio), textura de los tubérculos, presencia o ausencia de quilla, presencia o ausencia de glándula caudal, coloración del moco y masa corporal (Rowson *et al.*, 2013).

Los caracoles, fueron descrito usando los siguientes caracteres de la concha: forma, consistencia, patrones de color, sutura, verticilos, abertura, peristoma, ombligo y labio (Breure, 1979). Adicionalmente, se midió: la altura, el ancho y la relación ancho/alto. Por último, los animales (babosas y caracoles) se fotografiaron usando una cámara Olympus SZ-10.



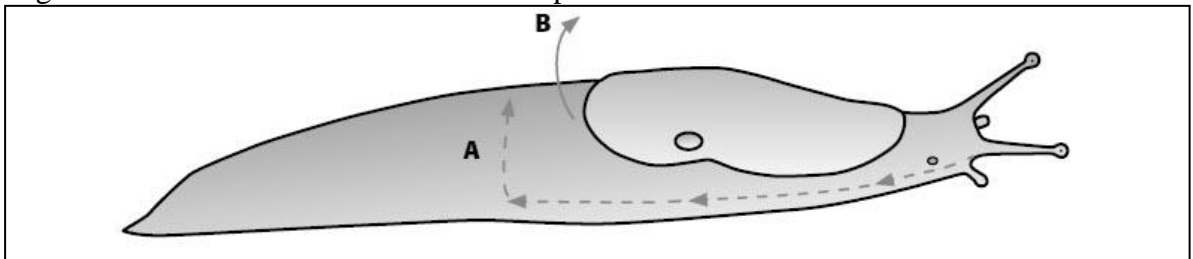
Figura 2. Instalación de trampas-refugios en la Colonia Tovar, estado Aragua.

Dissección anatómica de moluscos de interés agrícola

Para proceder con la dissección, los ejemplares (babosas) fueron sacrificados por inmersión en un recipiente hermético completamente lleno de agua con temperatura cercana a los 4°C una vez muertos se colocaron en etanol al 96% (v/v) para su conservación. Luego fueron transferidos al plato de dissección de un microscopio estereoscópico WILD M8 (aumento 6X) que contenía una solución de etanol al 70% (v/v), se realizó una incisión poco profunda del lado derecho cerca del pneumostoma utilizando para ello un bisturí y una tijera de Mayo recta (tijera quirúrgica) y justo por encima del cuerpo donde el manto del animal se encuentran con el pie se procedió a retirar suavemente el manto exponiendo el contenido interno, adicionalmente, durante esta etapa se aprovechó para extraer, medir (largo x ancho) y caracterizar la limacela (concha interna).

Una vez expuestos los órganos internos se separó la glándula digestiva de la glándula de albumina y de la glándula hermafrodita, posteriormente las estructuras reproductivas (complejo peneano y glándula hermafrodita) se fotografiaron con una cámara Olympus SZ-10 sobre un fondo negro para contrastar y caracterizar (McDonnell *et al.*, 2009; Thomas *et al.*, 2010). En la figura 3, se presenta la dirección del corte (A) para exponer la genitalia de las babosas al levantar (B) el tejido circundante (McDonnell *et al.*, 2009).

Figura 3. Dirección del corte de dissección para las babosas.



Para la descripción del complejo peneal se utilizaron los siguientes caracteres: tamaño, forma y coloración de la glándula hermafrodita, conducto hermafrodita y presencia de apéndices peneanos (Breure, 1979).

Extracción de rádulas y mandíbulas

Para la extracción de las rádulas y las mandíbulas se utilizó la técnica rápida de Mikkelsen (1985) con modificaciones. La solución utilizada para disolver el tejido fue hipoclorito de sodio (NaClO), el tiempo de inmersión del tejido (exposición) fue de 15 min y no se colorearon las cintas radulares como en la técnica original en vista de los buenos resultados obtenidos en pruebas preliminares. De la región de la cabeza y con ayuda de un bisturí se extrajo la masa bucal de las babosas de cada especie y del caracol, luego fueron transferidas a una placa Petri que contenía una solución de NaClO al 3% (v/v) con la finalidad de que el tejido ubicado alrededor de las rádulas y la mandíbulas fueran digeridos. Una vez expuestas, las cintas radulares y las mandíbulas se lavaron con agua destilada. Posteriormente, las rádulas fueron transferidas a un portaobjeto limpio que contenía glicerina, fueron selladas con DPX, caracterizadas y fotografiadas. Las mandíbulas, por el contrario fueron colocadas directamente sobre el plato de disección de un microscopio estereoscópico WILD M8 y se dejaron secar al aire, una vez caracterizadas fueron fotografiadas con una cámara Olympus SZ-10.

Para la descripción del aparato radular se consideró, la disposición de los dientes en la cinta, el tamaño y la forma del diente raquidiano (central), de los dientes laterales y marginales. Mientras que las mandíbulas fueron descritas mediante el número de discos (platos), la forma y el tamaño de los mismos (Breure, 1979).

La identificación de las especies se realizó con base a la caracterización morfoanatómica usando para ello las claves y/o descripciones de Barker y Pottinger, 1983; Alonso *et al.* (1985); Castillejo (1983); Castillejo (1998); Pinto (1999); Vera-Ardila y Linares (2005); McDonnell *et al.* (2009); Thomas *et al.* (2010) y Rowson *et al.* (2013). El material recolectado fue depositado en el Laboratorio de Zoología Agrícola de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela (FAGRO-UCV).

Establecimiento de un protocolo preliminar de extracción de ADN de babosas

Aislamiento del ADN

Para la extracción del ADN genómico se utilizaron, de cada individuo, 150 mg de tejido epitelial diseccionado con bisturí y colocado en un tubo de 1,5 mL. Para comparar la efectividad de la obtención de ADN se procedió a estandarizar la metodología empleando tres (3) protocolos reportados en la literatura: Sambrook *et al.* (1989), Levitan y Grosberg (1993) y Mikhailova y Johannesson (1998). Para cada protocolo se realizaron cinco (5) repeticiones, considerando cada individuo como una repetición. A continuación se describen los pasos seguidos en cada protocolo.

Sambrook *et al.* (1989). Éste método es conocido como fenol-cloroformo. El tejido disectado fue lavado con el tampón de extracción sin proteinasa K (20 mM Tris-HCl pH 8.0, 200 mM EDTA pH 8.0, 1% SDS) y transferido a un tubo nuevo con 500 μ L de tampón de extracción y homogenizado e incubado a 60°C en un baño seco (TropiCooler) durante 3 h. Los tubos se centrifugaron a 6000 rpm por 6 min. El sobrenadante fue transferido a un tubo nuevo con 500 μ L de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (25:24:1), mezclado por inversión durante 6 min y centrifugado a 6000 rpm durante 5 min. El sobrenadante fue transferido a un tubo nuevo con igual volumen de la muestra de cloroformo:alcohol isoamílico (24:1) y mezclado en las mismas condiciones descritas anteriormente. Luego fue repetido el procedimiento de fenol-cloroformo y transferido el sobrenadante a un tubo nuevo con dos volúmenes de la muestra de etanol frío al 95% para precipitar el ADN a 6000 rpm por 5 min. Después de la centrifugación, el ADN fue lavado dos veces con etanol al 70% para remover el exceso de sales. Los tubos fueron dejados toda la noche para secar el ADN. El día siguiente fue resuspendido en agua destilada doble autoclavada. Finalmente los tubos fueron almacenados a -20°C.

Levitan y Grosberg (1993). Al tejido disectado y colocado en el tubo de microcentrifuga se le agregaron 500 μ L de tampón de extracción CTAB (2% CTAB, 1,4 M NaCl, 0,2% 2-Mercaptoetanol, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl pH 8.0 y 0,25 mg/mL solución de proteinasa K). Los tubos fueron incubados a 65°C durante 90 min. Se centrifugaron 18 min a 8000 rpm y se transfirió el sobrenadante a un tubo nuevo. Se adicionaron 500 μ L de cloroformo alcohol isoamílico (24:1), se mezcló por inversión y se centrifugó 18 min a 8000 rpm. Este procedimiento se realizó dos veces. El sobrenadante fue transferido a un tubo nuevo y el ADN fue precipitado agregando 1mL de etanol 95% y se almacenó a -20°C durante 20 min. Luego, los tubos fueron centrifugados 20 min a 8.000 rpm y se descartó el sobrenadante. El ADN fue lavado dos veces con etanol 70%, se decantó el alcohol y se dejó secar el ADN a temperatura ambiente toda la noche y fue resuspendido en 50 μ L de tampón TE 1X (10 mM de Tris-HCl, 1 mM EDTA pH 8.0). Finalmente los tubos fueron almacenados a -20°C.

Mikhailova y Johannesson (1993). La modificación realizada por Mikhailova y Johannesson (1983) consistió en agregarle al tampón de extracción 0,1 mg/mL de proteinasa K, todos los procedimientos en la obtención de ADN son las mismas descritas en el protocolo de Sambrook *et al.* (1989).

Cuantificación del ADN obtenido

Se determinó la cantidad y calidad del ADN obtenido a partir de cada método de extracción en comparación por electroforesis horizontal a 70 V por 45 min (utilizando ADN del fago lambda no digerido como marcador estándar) para su visualización en geles de agarosa al 0,8% teñidos con bromuro de etidio, en tampón TBE 0,5X (250 mM de Tris-HCl, 30 mM de ácido bórico y 42 mM de EDTA). Los geles fueron visualizados bajo luz UV en un transiluminador y se capturaron sus imágenes en un analizador de imágenes BIO-RAD Gel Doc™ XR. Se procedió a realizar la validación de los ADN obtenidos en los tres métodos de extracción, a través de la amplificación con iniciadores aleatorios RAPD y se determinó el protocolo de obtención de calidad y cantidad de ADN para ser empleado con todos los individuos en la identificación molecular (Angulo-Graterol *et al.*, 2013).

Identificación molecular de las babosas mediante RAPD

Amplificación PCR-RAPD

La mezcla de reacción PCR y los ciclos del termociclador utilizados fueron descritos por Williams *et al.* (1990) y modificados por Levitan y Grosberg (1993) para un volumen final de 25 μ L de reacción PCR y consistió en 0,2 U/ μ L Taq, tampón 1X, 2 mM MgCl₂, 0,1 mM de cada uno de los dNTP's, 1,2 μ M del cebador Operón Technologies Inc. y 0,2 ng/ μ L de ADN.

CEBADORES RAPD OPERON TECHNOLOGIES, INC. Y SUS RESPECTIVAS SECUENCIAS	
CEBADOR	SECUENCIA (5'→3')
OPA-02	TGCCGAGCTG
OPA-09	GGGTAACGCC
OPC-02	GTGAGGCGTC

Los cebadores RAPD fueron seleccionados porque en estudios previos del Laboratorio de Genética Molecular del CIBA, suministran una gran cantidad de información polimórfica y la calidad en la visualización de sus perfiles electroforético en geles de agarosa ha sido muy buena (Pardo *et al.*, 2008; Medina *et al.*, 2010; Galindez *et al.*, 2011 y Angulo-Graterol *et al.*, 2013).

La amplificación se realizó en un termociclador PTC-100 BIO-RAD, en las siguientes condiciones: desnaturalización inicial 94°C por 2,5 min, seguida por 44 ciclos de amplificación a 94°C por 1 min, hibridación a 35°C por 1 min y extensión 72°C por 2 min. Se realizó un ciclo final de extensión a 72°C por 2 min.

La separación de los productos de RAPD-PCR se realizó en geles de agarosa 1,5% teñidos con bromuro de etidio y la electroforesis fue durante 3 h y 30 min a 80 V. Los geles fueron visualizados en el transiluminador UV y fotografiados con un analizador de imágenes BIO-RAD Gel Doc™ XR.

Análisis de los datos

Se generó una matriz de presencia ($p = 1$) y ausencia ($a = 0$) por cada banda detectada en las especies estudiadas para cada marcador RAPD, de las observaciones de amplificación de ADN en los geles de agarosa. La matriz obtenida fue analizada con el programa estadístico PAST versión 2.17b de Hammer *et al.* (2001). Con la matriz se realizó un análisis multivariado de conglomerados jerárquicos, generando un árbol de clasificación jerárquica ascendente del análisis de agrupamiento de la distancia promedio no ponderada UPGMA y la distancia de Jaccard. Dicha matriz también fue utilizada para el cálculo del índice de Similaridad de Jaccard y del porcentaje de polimorfismo, para realizar el análisis de agrupamiento (dendrograma).

Estimación de la densidad poblacional de los moluscos

Para estimar la densidad poblacional de moluscos de interés agrícola se utilizó el muestreo por cuadros propuesto por Agudelo *et al.* (2005). Las doce trampas-refugios de cada sitio de muestreo (7 en total), se inspeccionaron con cuidado realizando un conteo exacto de individuos. Posteriormente, los valores intermensuales de abundancia de los sitios muestreados fueron introducidos en el programa EXCEL de Microsoft Corporation (2010) para calcular el número de ejemplares por unidad de área (densidad), el intervalo de confianza al 70% y el error de estimación (%).

Las fórmulas usadas para calcular la densidad poblacional se presentan a continuación (Agudelo *et al.*, 2005; Ayres *et al.*, 2007).

Sea $A = Na$ y m_i el número de elementos en el cuadro i y sea $M = \sum_{i=1}^N m_i$; el número total de elementos en la población con área A .

Sea $\lambda = \frac{M}{A}$, la densidad de elementos o el número de elementos por unidad de área

Estimador de la densidad

$$\text{Parámetro: } \lambda = \frac{M}{A}$$

$$\text{Estimador: } \hat{\lambda} = \frac{\bar{m}}{a} \quad \text{donde} \quad \bar{m} = \frac{\sum_{i=1}^n m_i}{n} \quad \text{es la media de los individuos}$$

Varianza estimada

Donde $\hat{V}(\hat{\lambda}) = \frac{\hat{\lambda}}{an}$ es el estimador de la varianza

Intervalo de confianza para λ de nivel $1 - \alpha$

$$\left[\hat{\lambda} - d, \hat{\lambda} + d \right] \quad \text{donde} \quad d = z_{1-\frac{\alpha}{2}} \sqrt{\hat{V}(\hat{\lambda})} \quad \text{es el error de estimación.}$$

Finalmente, como los datos de abundancia no presentaban una distribución normal e igualdad de varianzas (homocedasticidad), las diferencias estadísticas que pudieron haber existido entre los diferentes sitios inspeccionados, se detectaron mediante una prueba de Kruskal-Wallis usando para ello el programa estadístico PAST versión 2.17b de Hammer *et al.* (2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Entrevista a los productores de la Colonia Tovar

Los resultados obtenidos se representan en gráficos de barras horizontales apiladas y los datos se expresan en valores porcentuales y de frecuencias absolutas.

Pregunta 1. En su opinión, ¿los daños ocasionados por los siguientes agentes biológicos en el municipio representan un problema, un grave problema o son problema?

En la figura 4, se puede apreciar que el 61,4% (27) de los entrevistados consideran a las babosas como un grave problema mientras que el 29,5% (13) señalan, por su parte, que tan solo son un problema y que esta situación depende del cultivo y la época del año (periodo lluvioso). En cuanto a los insectos, el 52,3% (23) de las personas entrevistadas los señalan como un problema, seguido de un 29,5% (13) que los consideran un grave problema mientras que para el 18,2% (8) de las personas al parecer no representan un problema.

Con relación a los ácaros (arañas), el 47,7% (21) de los productores abordados consideran que estos son un problema, especialmente, en fresa y por otro lado un 34,1% (15) manifiestan que más bien son un grave problema.

Las bacterias y hongos tienen una percepción similar entre los entrevistados ya que el 45,5% (20) los consideran un problema. Por último, es importante destacar que para el 72,7% (32) de los entrevistados los caracoles al parecer no constituyen un problema y su dinámica poblacional está condicionada como cualquier organismo a los factores bióticos y abióticos del entorno.

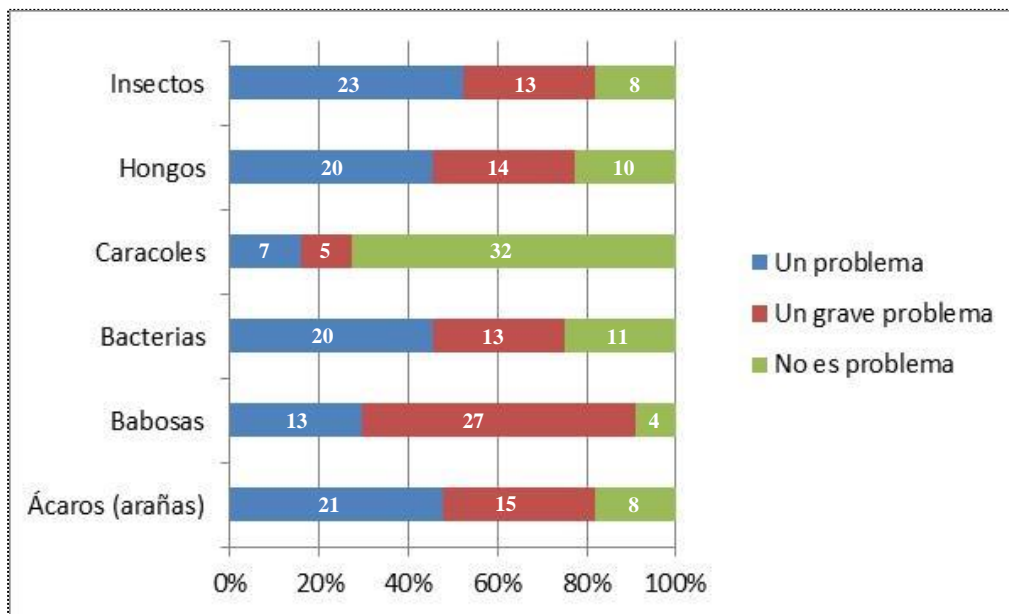


Figura 4. Proporción (%) y frecuencia de respuestas de los entrevistados ante la pregunta: En su opinión, ¿los daños ocasionados por los siguientes agentes biológicos en el municipio representan?

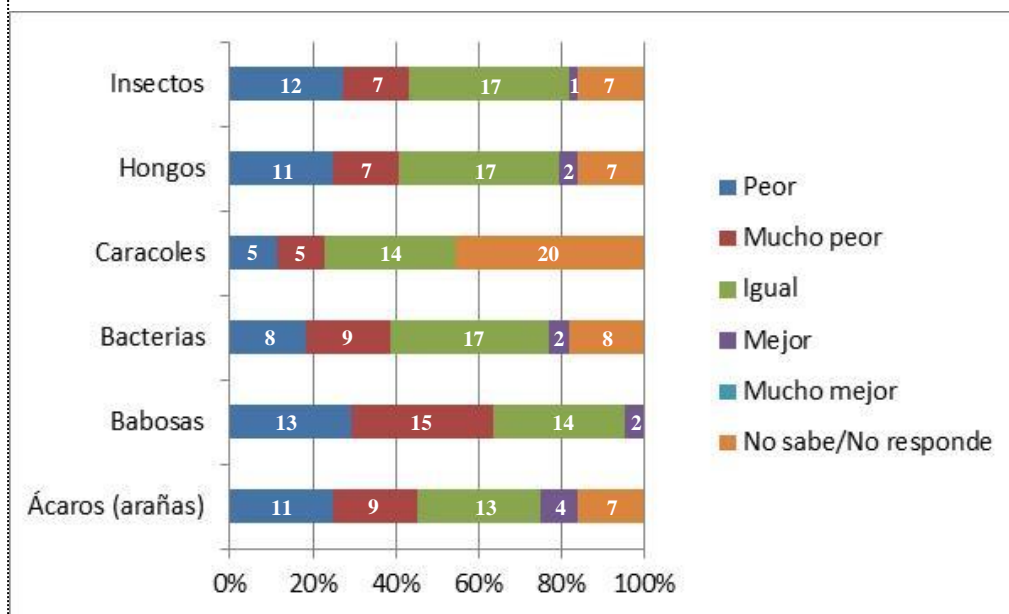


Figura 5. Proporción (%) y frecuencia de respuestas de los entrevistados ante la pregunta: ¿Cómo ha evolucionado el problema en los últimos cinco años?

Pregunta 2. ¿Cómo ha evolucionado el problema en los últimos cinco (5) años: peor, mucho peor, igual mejor, mucho mejor, no sabe/no responde?

La información de la figura 5, revela que el 29,5% (13) de los entrevistados consideran que el problema por babosas en los últimos cinco años es cada vez peor mientras que el 34,1% (15) señala por su parte que este se ha agravado (mucho peor), en conjunto el 63,6% (28) de las personas abordadas tienen una percepción negativa de la evolución del problema de babosas sobre diferentes cultivos, especialmente, brócoli, coliflor y fresa en los últimos años, no obstante, el 31,8% (14) afirmó que el ataque de babosas se ha mantenido igual y solo el 4,5% (2) de los entrevistados considera que este problema ha mejorado.

Con relación a los ácaros (arañas), el 25,0% (11) de las personas entrevistadas manifiestan que el problema ha sido peor y otro 20,5% (9) que el ataque ha sido mucho peor, en este sentido, la percepción negativa que tienen los productores de la evolución del problema de ácaros es cercano al 46% (20).

Para el caso de los insectos, el 27,3% (12) consideran que el problema ha sido peor, mientras, que para el 15,9% (7) ha sido mucho peor, en cambio, un 38,6% (17) señala que este se ha mantenido igual en los últimos cinco años.

Con cuanto a las enfermedades causadas por hongos, para 25,0% (11) de los productores el problema ha sido peor y para un 15,9% (7) ha sido mucho peor, no obstante, para un 38,6% (17) manifiestan que este se ha mantenido igual.

Con relación a las enfermedades causadas por bacterias, los productores al parecer tienen una percepción del problema, similar al de hongos en los últimos cinco años (Figura 5). En el caso de problemas por caracoles en cultivos, el 11,4% (5) de los productores manifestaron que este ha sido peor en los últimos cinco años y un 45,5% (20) no respondió la pregunta.

Pregunta 3. ¿El conocimiento que usted tiene sobre las enfermedades y plagas ocasionadas por los siguientes agentes biológicos: ácaros (arañas), babosas, bacterias, caracoles, hongos e insectos es: bueno, regular, escaso, no sabe/no responde?

La información contenida en la figura 6, revela que el 54,5% (24) de los productores tienen un buen conocimiento sobre los daños, características y métodos de control en babosas plagas, mientras, que el 40,9% (18) manifiestan tener un conocimiento regular y está limitado a solo reconocer los daños. Solo un 2,3% (1) declaró tener un conocimiento escaso y otro 2,3% (1) no respondió la pregunta.

Al preguntársele a los productores el conocimiento que tienen sobre los ácaros (arañas) plagas, el 52,3% (23) respondió que conocen bien las características de los daños (lesiones) y de los métodos de control mientras que el 22,7% (10) de los entrevistados declararon tener un conocimiento regular de los daños. Un 18,2% (8) manifiesta tener un nivel escaso de conocimiento no pudiendo diferenciar los daños (lesiones) entre este con otro de los agentes biológicos consultados.

En cuanto al conocimiento que tienen los productores entrevistados sobre las enfermedades y plagas causadas por hongos, bacterias e insectos, en términos generales un poco menos de la mitad manifiesta reconocer los daños, sus características y los métodos de control (Figura 6).

Para el caso de los caracoles, el 25,0% (11) manifiesta reconocer los daños, sus características y métodos de control y otro 20,5% (9) manifiesta tener un nivel de conocimiento regular. Un 31,8% (14) declara tener un nivel escaso de conocimiento no pudiendo diferenciar los daños (lesiones) entre este contra otro de los agente biológicos consultados.

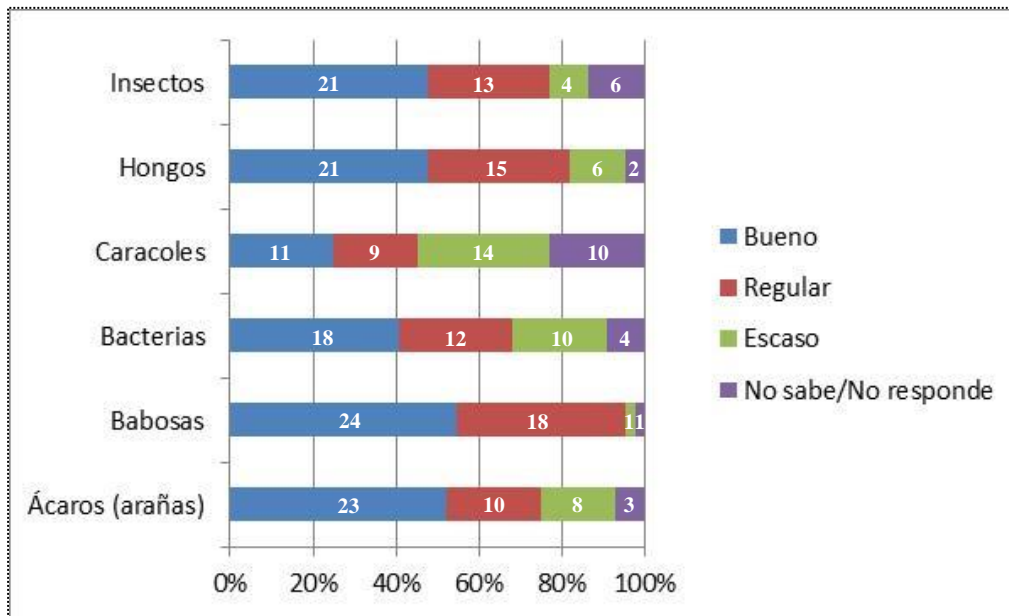


Figura 6. Proporción (%) y frecuencia de respuestas de los entrevistados ante la pregunta: ¿El conocimiento que usted tiene sobre las enfermedades y plagas ocasionadas por los siguientes agentes biológicos es?

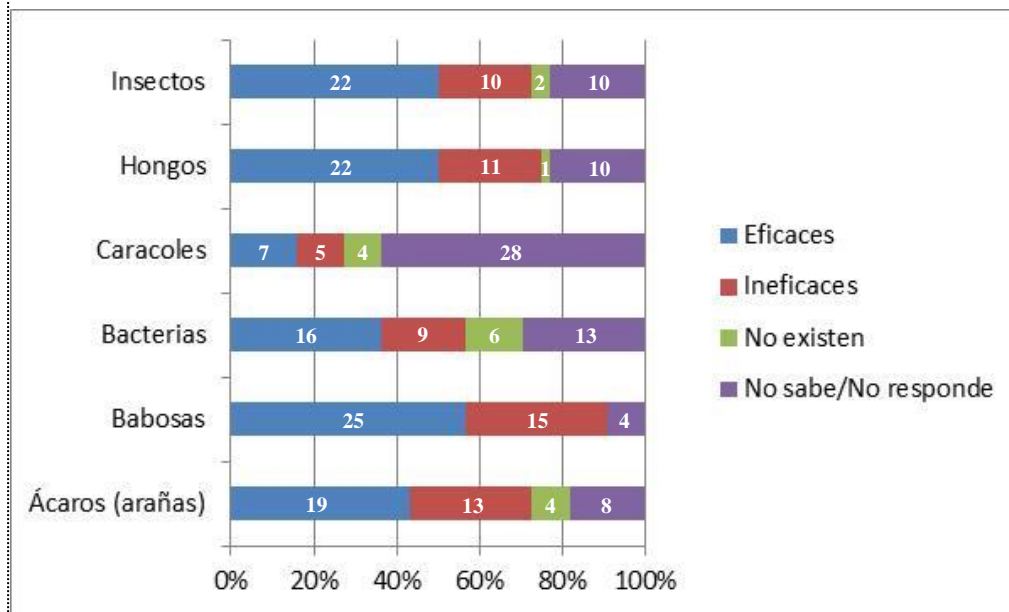


Figura 7. Proporción (%) y frecuencia de respuestas de los entrevistados ante la pregunta: ¿Las medidas de control adoptadas por usted sobre las enfermedades y plagas ocasionadas por los siguientes agentes biológicos han resultado?

Pregunta 4. ¿Las medidas de control adoptadas por usted sobre las enfermedades y plagas por los siguientes agentes biológicos: ácaros (arañas), babosas, bacterias, caracoles, hongos e insectos ¿han resultado: eficaces, ineficaces, no existen, no sabe/no responde?

Con referencia a las babosas, el 56,8% (25) de los productores entrevistados considera que las medidas adoptadas por ellos son eficaces, además, señalan que la principal medida de control es la aplicación de cebos tóxicos a base de metaldehído; sin embargo, también declaran que éstos, últimamente, no se consiguen o se encuentran escasamente en el mercado de los insumos agrícolas. El 34,1% (15) de los productores, considera que la aplicación de los cebos resultan ser ineficaces para el control de babosas y 9,1% (4) de los entrevistados no respondieron la pregunta (Figura 7).

Al preguntársele por las medidas adoptadas para el control de insectos y ácaros (arañas), el 50,0% (22) y el 43,2% (19), respectivamente, señalaron que resultan ser eficaces, siendo la principal medida del control la química, mientras que para el 22,7% (10) y 29,5% (13), respectivamente, resultan ineficaces (Figura 7).

En cuanto a las medidas adoptadas por los productores para el control de bacterias y hongos, el 36,4% (16) y el 50,0% (22), respectivamente, señalaron que resultan eficaces, mientras, que para el 20,5% (9) y 25,0% (11), respectivamente, resultan ineficaces en el control de enfermedades causadas por esos agentes biológicos. En cuanto a los caracoles, es importante destacar que el 63,6% (28) de los productores abordados no respondió la pregunta, pues al parecer este es simplemente considerado como una plaga menor de jardín (Figura 7).

Finalmente, cuando se le preguntó a los productores que instituciones se han enfocado en estudiar y solventar los problemas de plagas y enfermedades y/o cuales le han brindado asistencia técnica y/o de servicios de diagnóstico fitopatológicos, el 100,0% (44) de los entrevistados manifestó que ni la UCV (Facultad de Agronomía), UNEFA (Facultad de

Agronomía), INIA e INSAI han aportado algo para solventar el problema de plagas y enfermedades en los diferentes rubros cultivados en su localidad o sector.

Identificación morfoanatómica de especies de moluscos de interés agrícola

Se identificaron un total de cuatro (4) especies representando a cuatro (4) familias de moluscos asociadas o no con diferentes cultivos presentes en la Colonia Tovar, municipio Tovar, estado Aragua y su zona de influencia, las cuales se describen a continuación.

***Arion subfuscus* Draparnaud, 1805**

Medidas del cuerpo (n=20 adultos): L=40,5±8,4 (25,0-55,0) mm; Peso vivo=0,9±0,5 (0,1-1,8) g. **Estructura radular (n=10):** Dientes centrales=2,7±2,0 (30,3-35,6) µm; Diente laterales=33,7±2,1 (30,3-37,1) µm; Dientes marginales=34,8±2,4 (31,8-39,4) µm. **Sistema genital (n=5):** Conducto hermafrodita (CH)=10,6±1,6 (9,0-13,0) mm; Diámetro de la glándula hermafrodita (GH)=4,2±0,5 (3,5-5,0) mm.

Morfología externa: Babosas de color gris marrón a marrón anaranjado y generalmente con bandas de color marrón oscuro ubicadas lateralmente. Dos (2) pares de tentáculos (el anterior par corto). Ojos en las puntas de los tentáculos posteriores. Manto anterior y grande. Pneumostoma ubicado en la mitad anterior del manto del lado derecho del cuerpo. Los tubérculos son diminutos y alargados y la quilla está ausente. Presencia de glándula caudal. Mucosa del cuerpo blanca, amarillenta y/o anaranjada (Figura 8).

Estructura radular: La rádula está constituida por tres tipos de dientes que se encuentran dispuestos linealmente: los dientes centrales (dc), laterales (dl) y marginales (dm). Dientes centrales y laterales tricúspides. Los dientes centrales con mesocono alargado y dos ectoconos más cortos situados simétricamente a ambos lados del mesocono. Los dientes laterales con ectoconos asimétricos, inicialmente tricúspides. Los dientes marginales aparecen después de 16 a 18 dientes laterales (Figura 9).

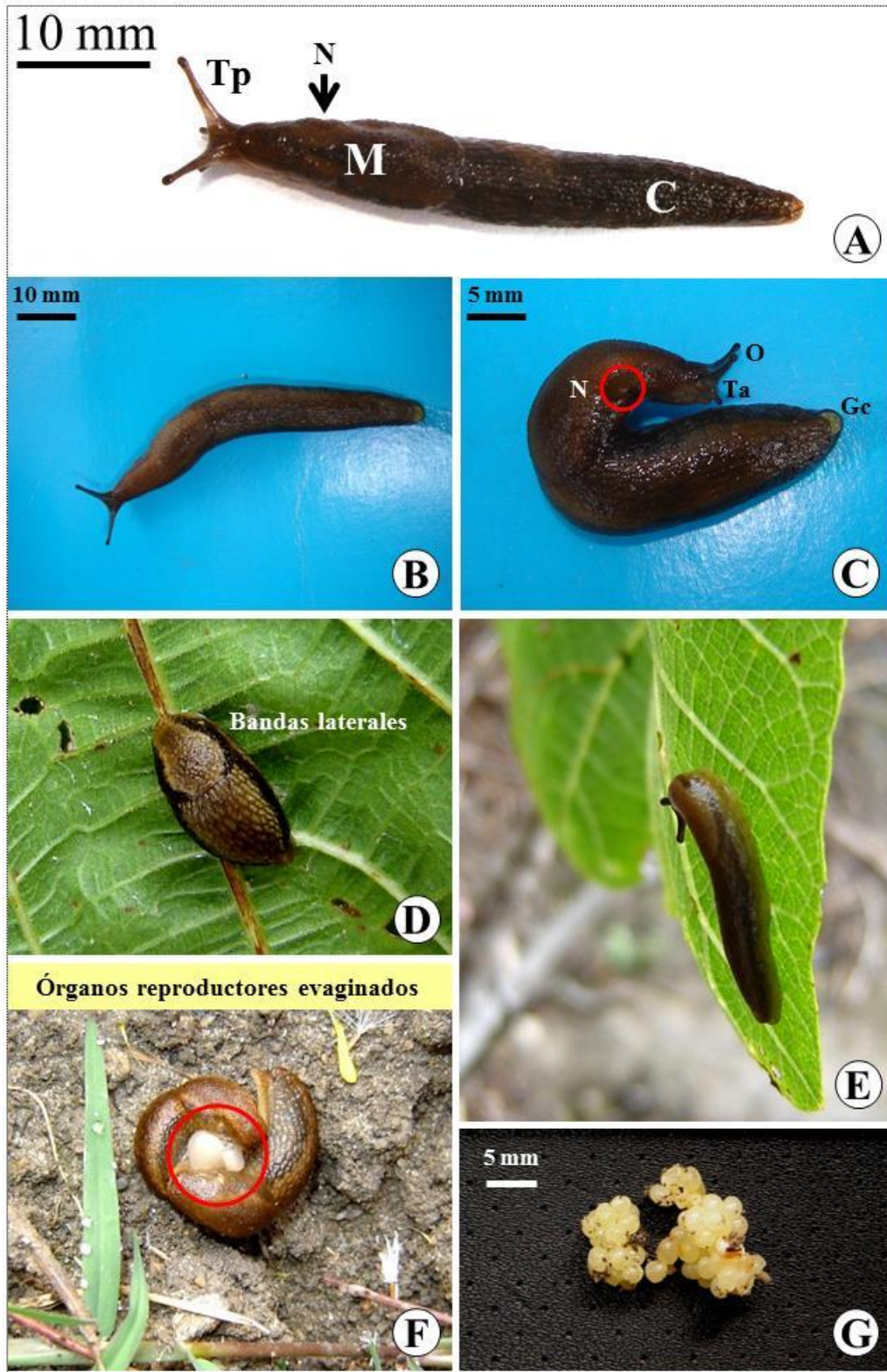


Figura 8. Aspecto morfológico externo de *Arion subfuscus*. A) Tentáculos posteriores (Tp), pneumostoma (N), manto (M) y cola (C). B) Coloración. C) Ojos (O), tentáculos anteriores (Ta) y glándula caudal (Gc). D-E) Bandas laterales. F) Órganos reproductores. G) Huevos.

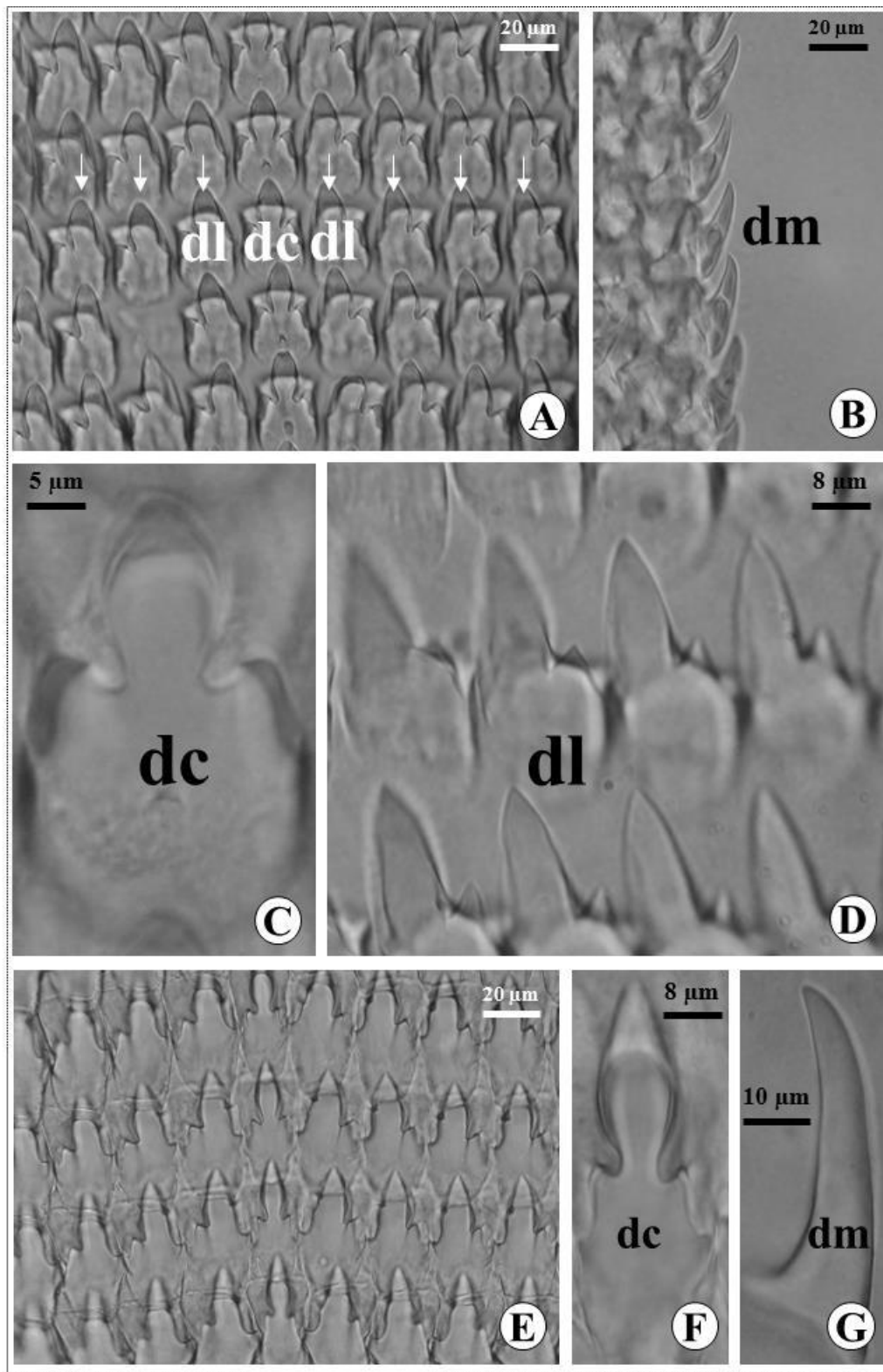


Figura 9. Estructura radular de *Arion subfuscus*. A) Diente central (dc) y primeros dientes laterales (dl). B) Dientes marginales (dm). C) Detalle del diente central (dc). D) Detalle dientes laterales (dl). Estructura radular de *Deroceras reticulatum*. E) Diente central (dc) y primero dientes laterales (dl). F) Detalle del diente central (dc). G) Detalle diente marginal (dm).

Mandíbula: Estructura de color castaño o marrón claro en forma de arco con estriaciones en la superficie de la placa mandibular (ornamentaciones) y ausencia de un lóbulo central (Figura 10).

Descripción de los huevos: Los huevos son esféricos u ovalados de color blanco o amarillo claro, los cuales están dispuestos en una masa que está unida por una secreción pegajosa transparente, el tamaño individual de los huevos oscila entre los 2 a 3 mm de diámetro. El número de huevos que constituye la masa es muy variable (Figura 8).

Sistema genital: La glándula hermafrodita u ovotestis es redondeada o trapezoidal, grande, de color marrón oscuro, y con grandes acinos. El conducto hermafrodita es largo (CH) y algo grueso, sin pigmentación alguna. Atrio genital tan ancho como alto, los órganos copuladores (canal de la espermateca, epifalo y oviducto libre) no se ubican en un único plano. El oviducto libre (OL) muestra un diámetro similar en toda su longitud. Durante la copula los órganos reproductores evaginados forman una masa hialina que rellena por completo el espacio comprendido entre los dos individuos participantes (Figura 11).

Todas las especies descritas se corresponden, por sus características morfológicas, anatómicas y medidas, a poblaciones de las mismas especies descritas en la literatura, lo cual no amerita mayores comentarios (Barker y Pottinger, 1983; Alonso *et al.*, 1985; Castillejo, 1983; Castillejo, 1998; Pinto, 1999; Vera-Ardila y Linares, 2005; McDonnell *et al.*, 2009; Thomas *et al.*, 2010 y Rowson *et al.*, 2013).

La discusión, por lo tanto se centrará en la distribución, algunos aspectos bioecológicos y en la importancia de los moluscos identificados como posibles plagas en hortalizas y otros cultivos.

Hasta el año 2001, se reportaron 29 especies de moluscos introducidas en Venezuela, dentro de las cuales se incluyen 5 babosas: *A. subfuscus*, *D. laeve*, *D. reticulatum*, *L. valentiana* y *M. gagates* y 3 caracoles: *A. fulica*, *H. aspersa* y *H. pomatia*. Todas las



Figura 10. Mandíbulas y conchas. A) Mandíbula de *Arion subfuscus*. B) Mandíbula de *Deroceras reticulatum* con lobulo central (lc). C) Mandíbula de *Lehmannia valentiana*. D) Limacela de *Deroceras reticulatum*. E) Limacela de *Lehmannia valentiana*. F) Conchas de *Helix aspersa* (A=Abertura; B=Borde; E=Espira y S=Sutura).

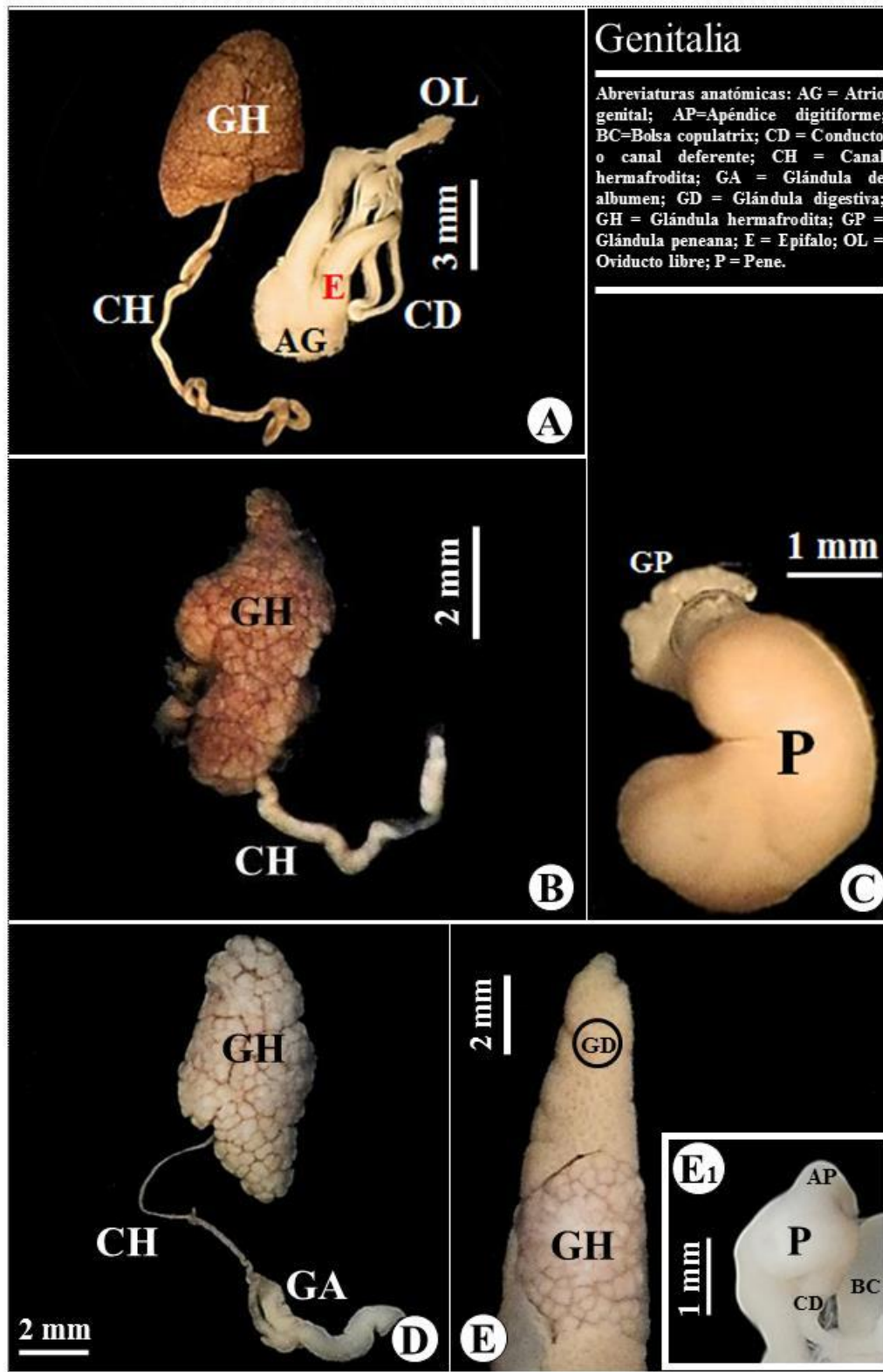


Figura 11. Genitalia de *Arion subfuscus*. A) Glándula hermafrodita y epifalo. Genitalia de *Deroceras reticulatum*. B) Glándula hermafrodita. C) Pene. Genitalia de *Lehmannia valentiana*. D) Glándula hermafrodita. E) Glándula hermafrodita cubierta parcialmente por la glándula digestiva y pene con apéndice digitiforme (E1).

especies anteriormente mencionadas son consideradas potenciales plagas en la agricultura (Fernández de Valera, 1982; Ojasti, 2001; Hausdorf, 2002; Cádiz y Gallardo, 2007).

A. subfuscus, es una babosa nativa de Europa y fue identificada por primera vez en el país en el año 1959, en el estado Aragua, específicamente, en la Colonia Tovar (Arias, 1959). Actualmente, se sugiere que el nombre *A. subfuscus* junto al de *A. fuscus* hacen referencia a un complejo de especies crípticas, es decir, aquellas que son morfológicamente similares, pero diferentes genéticamente (Mc Donnell *et al.*, 2011).

Es una especie polífaga, que se encuentra distribuida en Finlandia, Gran Bretaña y Península Ibérica e introducida en Canadá y otras partes de Norte América, Nueva Zelanda y Venezuela (Thomas *et al.*, 2010).

En el país, también ha sido señalado en el estado Miranda (Arias, 1959; Fernández de Valera, 1982) y Mérida (Salinas, 1982), sin embargo, este último autor no realiza ninguna descripción morfológica de las poblaciones. Es importante destacar, que en este trabajo también se encontró en el sector Bajo Seco en Petaquire estado Vargas atacando brócoli, coliflor, fresa y lechuga.

Es posible que esta especie pudiera haber sido introducida al país por los primeros colonos alemanes y se supone que su distribución actual en Venezuela pudiera ser bastante amplia (Fernández de Valera, 1982).

***Deroceras reticulatum* Müller, 1774**

Medidas (n=25 adultos): L=38,7±3,9 (32,0-47,0) mm; Peso vivo=0,6±0,3 (0,1-1,1) g.

Estructura radular (n=10): Dientes centrales = 46,6±1,5 (45,5-49,2) µm; Diente laterales = 46,9±1,4 (45,4-49,2) µm; Dientes marginales = 54,5±2,5 (51,9-59,6) µm.

Morfología externa: Babosa pequeña, de color crema claro y generalmente con manchas de color marrón oscuro. Dos (2) pares de tentáculos (el anterior par corto). Ojos en las

puntas de los tentáculos posteriores. Manto anterior con patrón de anillos concéntricos centrados a la derecha de la línea media. Pneumostoma ubicado en la mitad posterior del manto del lado derecho del cuerpo. Quilla incompleta y muy corta, solo al final de la cola. Cola abruptamente truncada. Ausencia de glándula caudal. Mucosas del cuerpo abundante, blanco y pegajoso (Figura 12).

Limacela (n=3): Concha interna ubicada debajo del escudo dorsal (giba), cuya dimensiones son de $3,4\pm 0,1$ (3,3-3,5) mm de alto x $2,0\pm 0,1$ (2,0-2,1) mm, color blanco y algo plana ventralmente (Figura 10).

Estructura radular: La rádula es muy similar a la especie anterior, constituida por tres tipos de dientes que se encuentran dispuestos linealmente: los dientes centrales (dc), laterales (dl) y marginales (dm). Dientes centrales y laterales tricúspides. Los dientes centrales con mesocono alargado y dos ectoconos más cortos situados simétricamente a ambos lados del mesocono. Los dientes laterales con ectoconos asimétricos, inicialmente tricúspides. Los dientes marginales aparecen después de 17 a 18 dientes laterales (Figura 9).

Mandíbula (n=5): Estructura de color castaño claro, constituida por una placa mandibular en forma de arco, no ornamentada y con un lóbulo central (lc) característico. Las dimensiones promedio de la mandíbula son $1494,0\pm 163,0$ (1275,0-1713,0) μm de alto x $416,0\pm 18,3$ (385,0-428,0) μm de ancho (Figura 10).

Descripción de los huevos: Similares a las descritas para la especie *A. subfuscus*.

Sistema genital: La glándula hermafrodita u ovotestis es trapezoidal de color marrón claro, muy grande y con acinos alargados. El conducto hermafrodita es corto (CH), grueso y sin pigmentación. Pene subcilíndrico con una fuerte dilatación distal, en el extremo de su parte proximal existe una glándula peneana (Figura 11). Al igual que *A. subfuscus*, durante el apareamiento los órganos reproductores evaginados forman una masa hialina que rellena por completo el espacio comprendido entre los dos individuos participantes (Figura 11).

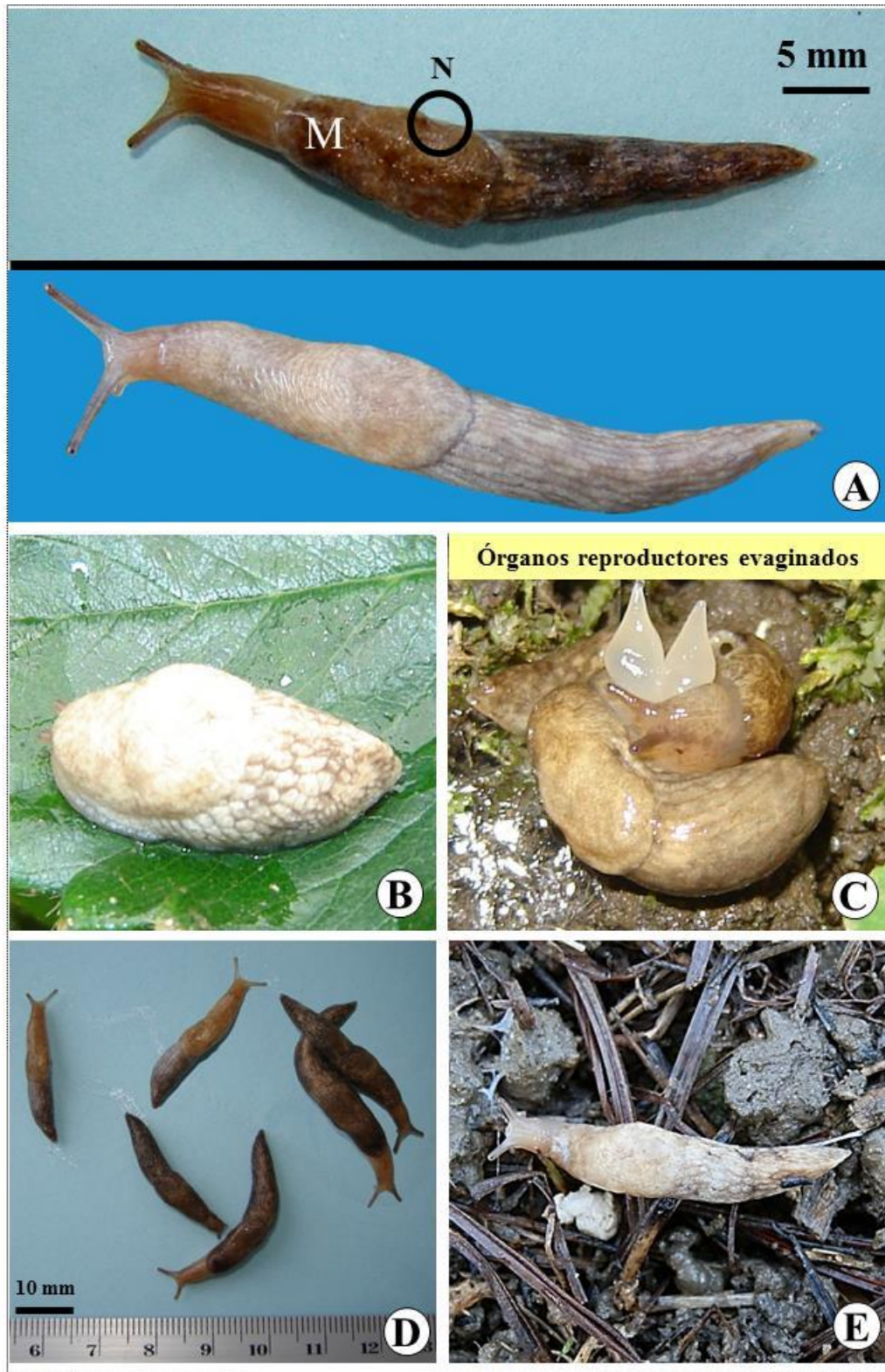


Figura 12. Aspecto morfológico externo de *Deroceras reticulatum*. A) Manto (M) y ubicación del pneumostoma (N). B) Detalle de los retículos del cuerpo. C) Órganos reproductores evaginados. D-E) Variaciones en la coloración.

La especie *D. reticulatum*, conocida como “babosa gris”, también es una babosa de origen europeo y está presente en muchas partes del mundo y en Sur América está ampliamente distribuida. Es una especie que se encuentra asociada a la actividad humana y es señalada como una de las plagas de mayor importancia en cultivos hortícolas y ornamentales de todo el mundo (Mc Donnell *et al.*, 2009).

D. reticulatum es una babosa de actividad nocturna, polífaga y hermafrodita con pocos enemigos naturales y cuya densidad poblacional se incrementa en los primeros meses de la época lluviosa, este molusco puede causar notables pérdidas económicas; hasta 100% en algunos cultivos (France *et al.*, 2002; Kozłowski y Kozłowska, 2004; Santacruz *et al.*, 2011). Los principales daños ocurren en la etapa de siembra de los cultivos, debido a que consumen el endospermo de las semillas, dañan el ápice vegetativo o las primeras hojas y por tanto, provocan una reducción del número inicial de plantas (Hommay, 2002 citado por Clemente *et al.*, 2007).

En Venezuela, la babosa gris ha sido señalada con anterioridad en los estados Aragua y Miranda (Fernández de Valera, 1982) y durante un muestreo previo fue detectada en Petaquire estado Vargas (Perichi, 2012 datos no publicados). Es posible que su distribución actual esté limitada a zonas del país que estén por encima de los 900 msnm, ya que la temperatura óptima de desarrollo y de incubación de los huevos oscila entre los 12 y 25°C (Clemente *et al.*, 2007; Cacarín, 2013).

***Lehmannia valentiana* Férussac, 1822**

Medidas del cuerpo (n=16): L=40,7±8,0 (29,0-60,0) mm; Peso vivo=0,5±0,2 (0,2-0,9) g.

Estructura radular (n=5): Dientes centrales = 58,8±2,4 (57,1-62,1) μm; Diente laterales = 65,9±2,6 (64,0-68,8) μm.

Morfología externa: Babosa pequeña, de color castaño claro con tres bandas oscuras de color marrón, dos laterales y una central ubicada dorsalmente. Dos (2) pares de tentáculos (el anterior par corto). Ojos en las puntas de los tentáculos posteriores. Manto anterior con

patrón de anillos concéntricos centrados a la derecha de la línea media. Pneumostoma ubicado en la mitad posterior del manto del lado derecho del cuerpo. Quilla, solo al final de la cola. Ausencia de glándula caudal (Figura 13).

Limacela (n=5): Concha interna ubicada debajo del escudo dorsal (giba) y cuyas dimensiones en promedio son de $3,4\pm 0,5$ (2,7-3,9) mm de alto x $2,0\pm 0,3$ (1,6-2,2) mm de ancho, la limacela es fina y algo convexa, de color blanco translúcido, con un pequeño halo membranoso del mismo color (Figura 10).

Estructura radular: La rádula es similar a la especie anterior, constituida por tres tipos de dientes que se encuentran dispuestos linealmente: los dientes centrales (dc), laterales (dl) y marginales (dm). Dientes centrales y laterales tricúspides (Figura 14).

Mandíbula (n=2): Estructura de color castaño, marrón claro o amarillento en forma de arco sin ornamentaciones con un pequeño lóbulo membranoso en la región central. Las dimensiones promedio de la mandíbula son $902,0\pm 28,0$ (882,0-922,0) μm de alto x $285,0\pm 70,0$ (235,0-334,0) μm de ancho (Figura 10).

Descripción de los huevos: Similares a las descritas para las especies *A. subfuscus* y *D. reticulatum*.

Sistema genital: La glándula hermafrodita u ovotestis es trapezoidal de color blanco en algunos ejemplares y de color oscuro en otros, muy grande y con acinos grandes o alargados. El conducto hermafrodita es relativamente corto (CH), delgado y carece de pigmentación, el pene presenta un apéndice tubular (glándula peneana digitiforme) y en el extremo del mismo es romo (Figura 11).

La especie *L. valentiana*, es conocida vulgarmente como “babosa de jardín de tres bandas” se encuentra en toda Europa occidental, desde Portugal hasta Suecia. Es originaria de la Península Ibérica y ha sido introducida en África, Norteamérica (USA y Canadá),

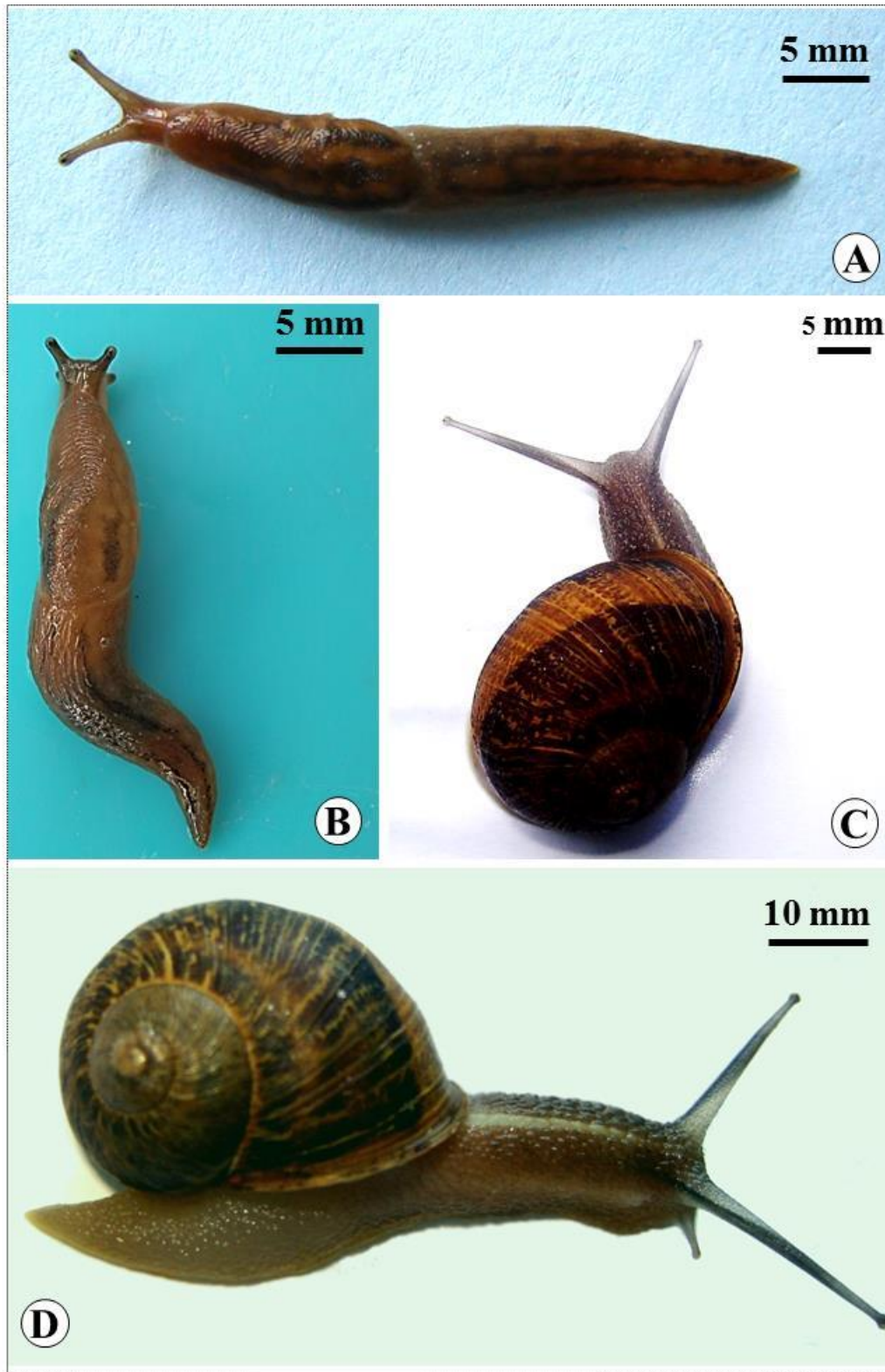


Figura 13. Aspecto morfológico externo de *Lehmannia valentiana*. A) y B) Detalle de las tres bandas de color castaño oscuro. Aspecto morfológico externo de *Helix aspersa*. C) Vista dorsal. D) Vista lateral.

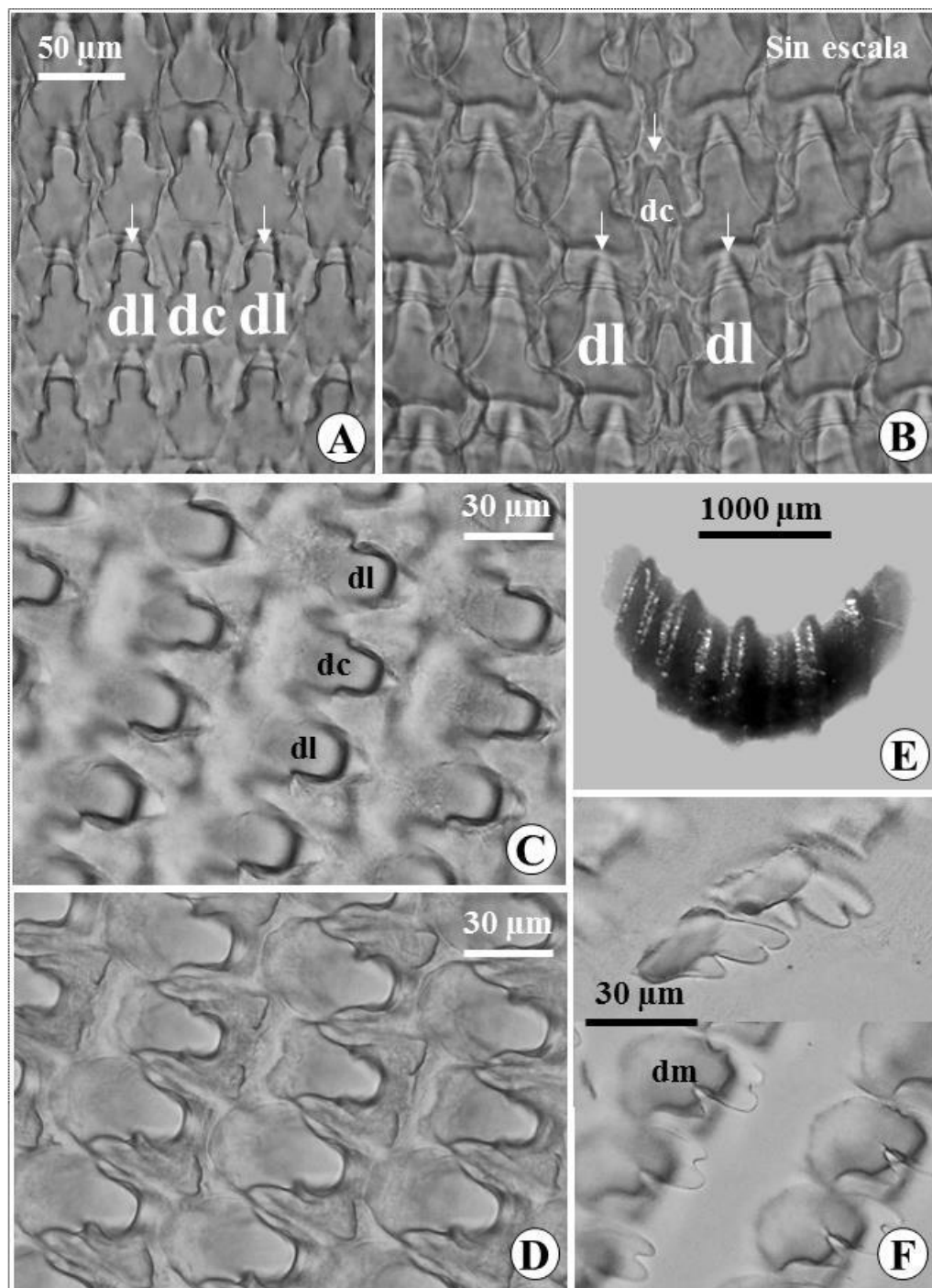


Figura 14. Rádula de *Lehmannia valentiana*. A) Diente central (dc) y dientes laterales (dl). Rádula de *Sarasinula plebeia* (sietecuero). B) Diente central (dc) y dientes laterales (dl). Rádula de *Helix aspersa*. C-D) Diente central (dc) y dientes laterales (dl). E) Mandíbula. F) Dientes marginales (dm).

Suramérica (Chile, Colombia, Perú y Venezuela) y también en Australia, Nueva Zelanda y Serbia ((Fernández de Valera, 1982; Castillejo, 1996; Stojnić *et al.*, 2011).

La babosa de jardín de tres bandas ya había sido señalada en el país en los estados Mérida, Táchira y Trujillo asociada con ajo, alcachofa, brócoli, coliflor, espinaca, papa, repollo y zanahoria (Fernández de Valera, 1982). Esta es una especie que también está asociada a la actividad humana y es muy común en invernaderos y en jardines residenciales (Thomas *et al.*, 2010). En este trabajo se señala por primera vez su presencia para los estados Aragua y Vargas (Perichi, 2012 datos no publicados) asociada con brócoli, coliflor, fresa y lechuga.

***Helix aspersa* Müller, 1774**

Medidas (n= 20 Caracoles): Diámetro de la concha=28,3±2,4 (21,0-32,0) mm; Altura de la concha=20,1±2,7 (16,0-30) mm; Alto de la concha/Diámetro de la concha (A/D)=0,7±0,2 (0,6-1,4); Peso vivo=6,5±1,0 (5,0-8,5) g.

Morfología externa: Concha globosa generalmente más ancha que alta (heliciforme), dextrógira; sólida con estrías longitudinales; color pardo claro-oscuro, con bandas transversales pardo oscuras interrumpidas por flecos o costillas amarillas muy delicadas, superficie de la concha con estrías finas; protoconcha lisa; sutura bien impresa; espiras convexas, 4-5 vueltas, última espira amplia; abertura subcircular, peristoma expandido de color blanco, suave, lustroso; columela amplia y fuerte; rimada a imperforada, ombligo cerrado por una extensión del labio (Figura 10 y 13).

Estructura radular: La rádula está constituida por tres tipos de dientes que se encuentran dispuestos linealmente: los dientes centrales (C), laterales (L) y marginales (M). Dientes centrales. Los dientes centrales con mesocono alargado y dos ectoconos cortos situados simétricamente a ambos lados del mesocono. Dientes laterales aparentemente bicúspides y dientes marginales tricúspides que aparecen después de 27 a 28 dientes laterales (Figura 14).

Mandíbula: Estructura de color marrón oscuro, presencia de siete (7) platos mandibulares y con protuberancias en los márgenes de la mandíbula (Figura 14).

El caracol *H. aspersa*, conocido como “caracol común de jardín” es una especie nativa de la región del Mediterráneo y ha sido introducido en Norteamérica, Suramérica y Suráfrica (Juříčková y Kapounek, 2009). Es considerada como una plaga en muchos de los países en donde ha sido introducida, sin embargo, en su zona de origen es un valioso recurso alimenticio. En Colombia, se introdujo desde Brasil para restaurantes de alta categoría, pero, se dispersó por todo el país y actualmente es catalogada como una especie "invasora", puesto que presenta una buena adaptación bajo ciertas condiciones agroecológicas (Olivares, 2005; Morales *et al.*, 2006).

Establecimiento de un protocolo preliminar de extracción de ADN de babosas

Aislamiento y cuantificación del ADN obtenido

La integridad de los ADN extraídos mediante los tres procedimientos fue verificada en los geles de agarosa. La mayoría de los métodos descritos, permitieron obtener ADN genómico de calidad (Figura 15).

Con en el método de Sambrock *et al.* (1989) se obtuvo ADN sólo en dos de las seis repeticiones, con una concentración entre 50 y 100 ng/ μ L y degradación en los ADN. Los ADN obtenidos mediante el protocolo de Levitan y Grosberg (1993) fueron de mejor calidad y de concentraciones entre 250 y 500 ng/ μ L, puesto que se obtuvo ADN en cinco de las seis repeticiones y en dos de ellas la presencia de ARN. Para el procedimiento descrito por Mikhailova y Johannesson (1998) en todas las repeticiones se observó ADN entre 25 y 600 ng/ μ L, pero en cuatro de ellas la presencia de ARN y degradación del ADN.

El protocolo de Levitan y Grosberg (1993) se diferencia de los otros dos procedimientos en la utilización del CTAB para el tampón de lisis, en lugar de SDS. Además, la utilización de



Figura 15. Visualización de la cantidad y calidad de los ADN extraído a mediante tres protocolos, en gel de agarosa 0,8% teñido con bromuro de etidio, visualizado con luz UV y fotografiado con analizador de imagen.

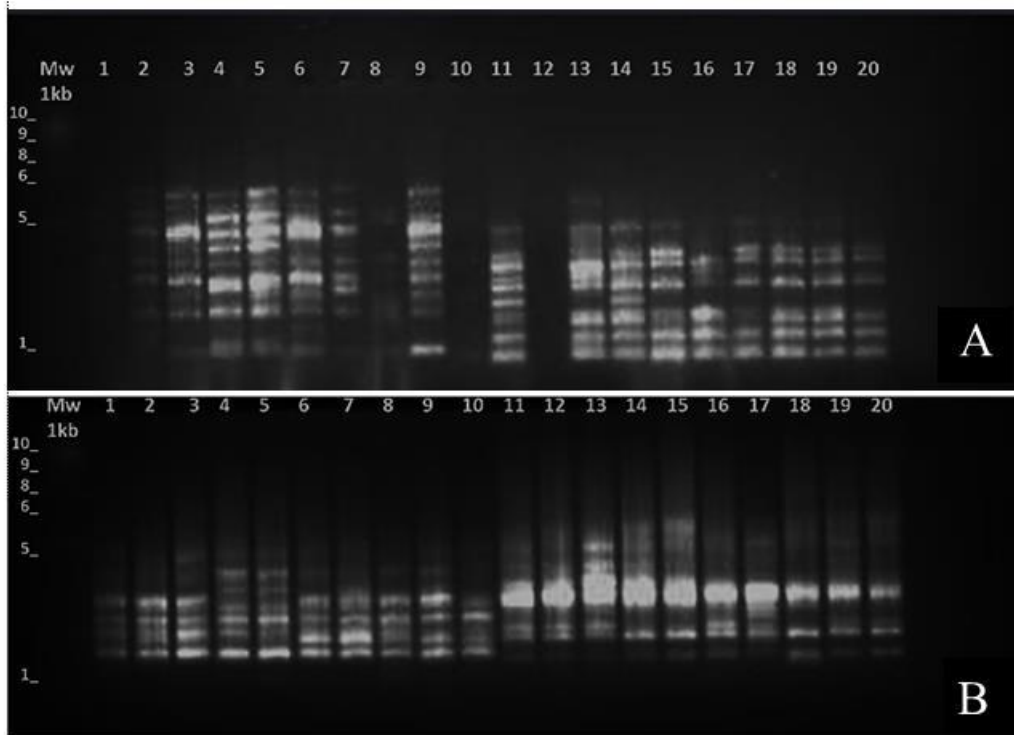


Figura 16. Productos RAPD-PCR observados en geles de agarosa (1,5%) para dos especies de babosas. A) OPA-02 y B) OPA-09. Los lugares (1 al 10) corresponden a *Arion subfuscus* y (11 al 20) *Deroceras reticulatum*.

cloroformo como agente de purificación, en lugar de fenol-cloroformo, para obtener ADN de alto peso molecular, no degradado; mayores valores promedios de concentración del ADN y poca presencia de ARN (33,33%) al compararse con los otros dos procedimientos (Cuadro 2)

Diferentes fueron los resultados obtenidos empleando el protocolo de Sambrock *et al.* (1989), sin proteinasa K, donde en la mayoría de las muestras se observó ADN degradado, pérdida del ADN y concentraciones entre 50 y 100 ng/μL. En este sentido, Mikhailova y Johannesson (1998) reportan las ventajas de emplear la proteinasa K en el tampón de extracción y el fenol cloroformo, para obtener ADN de calidad y concentraciones entre 30 y 129 ng/μL (Cuadro 2).

Los procedimientos Sambrock *et al.* (1989) y Mikhailova y Johannesson (1998) sólo se diferencian en la incorporación de proteinasa K en el tampón de lisis. La utilización de esa proteasa en el tampón de lisis, como actividad específica de facilitar la degradación de todas las proteínas, actuar en los enlaces débiles del polipéptido, hasta que adquieren su estructura primaria y pierdan su funcionalidad. Esto disminuye la degradación del ADN y permitiendo obtener un ADN de alto peso molecular.

En la mayoría de las muestras utilizadas en la metodología de Sambrock *et al.* (1989) se observó ADN de bajo peso molecular, degradación y la presencia de concentración de ARN, a diferencia del tampón de lisis de Mikhailova y Johannesson (1998), los ADN de alto peso molecular y mejor pureza (Cuadro 2).

Los resultados anteriores fueron empleados para decidir el protocolo de extracción para todas las especies de babosa en la identificación y caracterización molecular. La metodología empleada para esta etapa fue la propuesta por Levitan y Grosberg (1993). En los tres individuos de la especie *L. valentiana* no se logró obtener ADN en ninguno de los tres métodos empleados y no fueron incluidos en el análisis de RAPD.

Cuadro 2. Resumen comparativo de las tres metodologías empleadas para la extracción de ADN genómico de las babosas.

Criterio de Comparación	Protocolo de Extracción		
	Sambroek <i>et al.</i> (1989)	Levitan y Grosberg (1993)	Mikhailova y Johannesson (1998)
Tampón de lisis	SDS	CTAB 2%	SDS
Purificación del ADN	Fenol-cloroformo: alcohol isoamílico (25:24:1); cloroformo: alcohol isoamílico (24:1)	Cloroformo:alcohol isoamílico (24:1)	Fenol-cloroformo:alcohol isoamílico (25:24:1); Cloroformo:alcohol isoamílico (24:1)
Concentración promedio del ADN [ng/μL]	25	250	200
Pureza (presencia de ARN) en las muestras	50,00%	33,33%	66,67%

Identificación molecular de las babosas mediante RAPD

Patrones de Bandas RAPD

El análisis de los datos permitió encontrar que de los tres (3) iniciadores RAPD, sólo en dos (2) de ellos se observó amplificación, para el OPA02 y OPA09 (Figura 16). Con la información obtenida de los patrones de bandas en los geles se determinó el porcentaje de polimorfismo para cada marcador molecular. El número de fragmentos de amplificación por cebador osciló entre 9 y 13, para un total de 22 bandas, de las cuales 12 resultaron polimórficas, con un promedio de 6 bandas por iniciador (Cuadro 3).

Es importante destacar que los dos cebadores que amplificaron fueron muy informativos y lograron diferenciar a las especies *A. subfuscus* y *D. reticulatum*. El cebador OPA-02 generó 8 bandas polimórficas y el OPA-09 de las 9 bandas observadas en el gel de agarosa, cuatro de ellas mostraron diferencias entre las dos especies analizadas.

Por otra parte, se observaron bandas únicas (locus) que permitieron distinguir patrones para diferenciar cada especie. La presencia de estas bandas únicas entre las especies estudiadas sugiere una composición genética particular para esas especies. Esas bandas únicas pueden ser una herramienta útil para diferenciar los individuos de acuerdo a su especie (Cuadro 3).

En el análisis de agrupamiento UPGMA con distancia de Jaccard, para el estudio de la variabilidad interespecífica se encontró la formación de 2 grupos discriminantes; 0,42 de similaridad y una correlación cofenética de 0,987. El valor de correlación cofenética explicó un ajuste perfecto de la estructura jerárquica entre las dos especies evaluadas para la similaridad (Figura 17). En este sentido, el primer grupo estuvo constituido por todos los individuos *D. reticulatum* y el segundo grupo por todos los representantes de la especie *A. subfuscus* evidenciándose una separación clara entre las dos especies y la formación de subgrupos pequeños dentro de cada especie.

Cuadro 3. Bandas únicas de los cebadores RAPD utilizados en la Identificación molecular de las especies de babosas.

Cebador/Locus	Peso molecular (pb)	Especie	
		<i>A.subfuscus</i>	<i>D. reticulatum</i>
OPA-02/01	5,59	Presente (100%)	Ausente
OPA-02/05	3,36	Presente (80%)	Ausente
OPA-02/06	3,30	Ausente	Presente (100%)
OPA-02/08	2,55	Presente (100%)	Ausente
OPA-02/09	2,50	Ausente	Presente (100%)
OPA-02/12	1,53	Ausente	Presente (100%)
OPA-09/01	5,59	Ausente	Presente (80%)
OPA-09/04	2,67	Presente (100%)	Ausente
OPA-09/06	2,22	Presente (100%)	Ausente
OPA-09/07	1,93	Ausente	Presente (100%)

Nota: pb x 1000

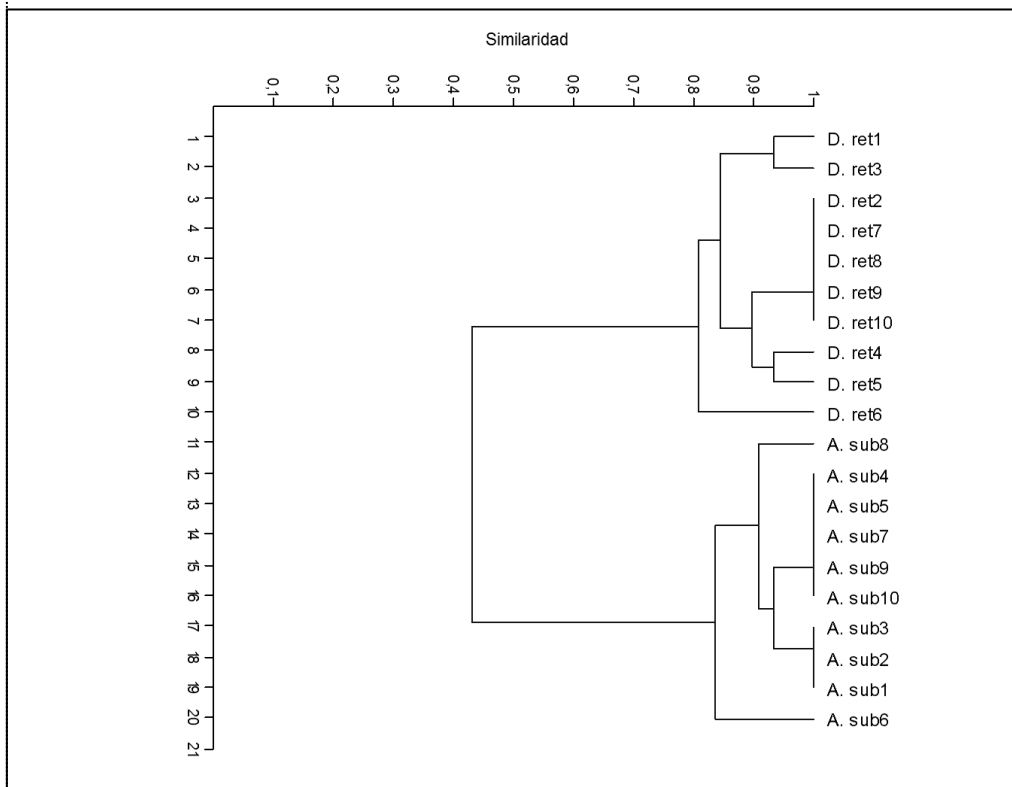


Figura 17. Dendrograma obtenido del análisis de agrupamiento utilizando el método UPGMA, a partir del coeficiente de Jaccard, para las dos especies de babosas.

El grupo 1 estuvo conformado por cuatro subgrupos, los individuos 2, 7, 8, 9 y 10 fueron genéticamente idénticos, es decir una distancia de similaridad igual a 1. Los individuos 4 y 5, y 1 y 3, conformaron otros dos subgrupos, para un coeficiente de similaridad de 0,94. El individuo 6 fue el que se separó de los otros subgrupos para una similaridad de 0,81. En el estudio de la variabilidad intraespecífica de la especie *D. reticulatum* se observó más del 80% de similaridad entre los diez individuos analizados.

El segundo grupo estuvo constituido por todos los representantes de la especie *A. subfuscus*. En el estudio de la variabilidad intraespecífica se evidenció la formación de cuatro subgrupos, el primero de ellos estuvo el individuo 8 para un coeficiente de similaridad de 0,97; en el segundo presentó el mayor número de representantes de la especie, los individuos 4, 5, 7, 9 y 10 y un coeficiente de similaridad igual a 1. El tercer subgrupo fue conformado por los individuos 1, 2 y 3 100% de similaridad y el último grupo el individuo 6; 0,84 de similaridad. Los individuos de los cuatro subgrupos formados en el dendrograma, para la especie *A. subfuscus* presentaron mayor similaridad, si se compara con los subgrupos de la especie *D. reticulatum*.

La técnica de RAPD, ha sido utilizada tradicionalmente para diferenciar molecularmente la babosas plagas más importante en la agricultura tales como *A. distinctus*, *A. fasciatus* y *D. reticulatum* mediante la generación de bandas especies-específicas. También, constituye una poderosa herramienta complementaria junto al estudio de las estructuras reproductivas para separar especies cripticas de babosas, especialmente, las del complejo *Arion* (Soroka y Skujiene, 2011).

Por otra parte, los métodos de biología molecular permiten resolver problemas taxonómicos generados de la diferenciación de las especies de babosas basados caracterizaciones morfológicas y anatómicas (Skujiene y Soroka, 2003).

Estimación de la densidad poblacional de los moluscos

Composición de especies y abundancia relativa

Para el total de las siete localidades, 84 trampas y todo el periodo de estudio se registraron 7819 gasterópodos terrestres de las cuatro especies anteriormente mencionadas. La especie más abundante fue *A. subfuscus* cuyos 3217 individuos representan 41,1% del total de las capturas, y que también fue la especie más abundante en todas las localidades, seguida por *D. reticulatum* con 1579 ejemplares las cuales representan 20,2% del total de las capturas, mientras que *L. valentiana* con 255 individuos representa 3,3% capturado y *H. aspersa* con 145 individuos tan solo representa 1,9% de las capturas y es por tanto la especie menos abundante. Mientras que las babosas inmaduras (juveniles), con 2623 individuos representan 33,5% del total capturado para todo el periodo de estudio. La estructura poblacional de las babosas en su conjunto (Figura 18), estuvo conformada por 34,1% de babosas inmaduras (juveniles), 64,5% de babosas maduras, mientras que el restante 1,4% se corresponde con las posturas (Figura 19).

Por sitios (Cuadro 4), la mayor abundancia de gasterópodos se registró en el sitio 4 (2419 ejemplares; 30,94% de la muestra total), seguida del sitio 6 (1765 ejemplares; 22,57% de la muestra total), sitio 1 (1626 ejemplares; 20,80% de la muestra total), sitio 5 (1553 ejemplares; 19,86% de la muestra total), sitio 3 (347 ejemplares; 4,44% de la muestra total), sitio 2 (56 ejemplares; 0,72% de la muestra total) y sitio 7 (53 ejemplares; 0,68% de la muestra total).

La abundancia de los gasterópodos terrestres identificados presenta diferencias claras entre localidades según la Prueba de Kruskal-Wallis (Cuadro 5). Estas diferencias, también pueden ser explicadas en función de las particularidades de cada sitio inspeccionado (Cuadro 6). El tiempo, la humedad, la temperatura y el cultivo son factores ecológicos determinante en la distribución, abundancia y actividad de las babosas (Fernández de Valera, 1982; Córdoba, 2009).

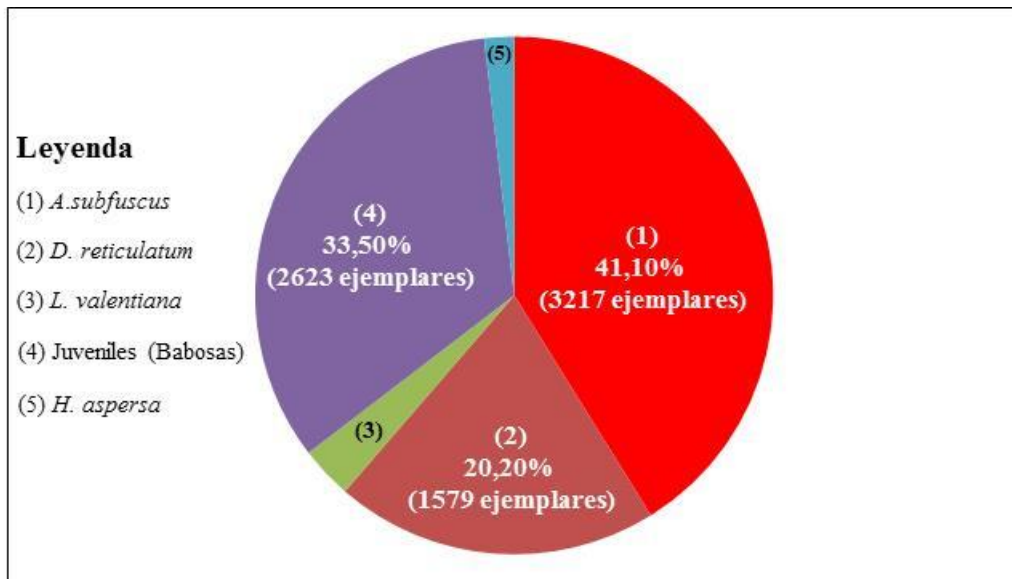


Figura 18. Relación de especies y ejemplares de moluscos (babosas y caracoles) que se registraron en la Colonia Tovar, estado Aragua para todo el periodo de estudio Febrero-Octubre (2013).

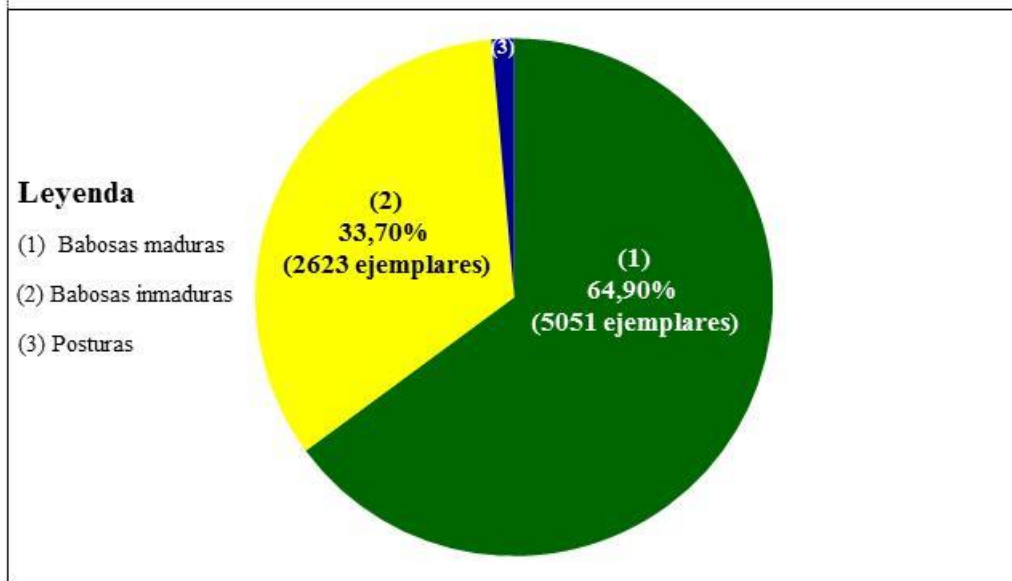


Figura 19. Estructura poblacional de las babosas (moluscos desnudos) registradas en la Colonia Tovar, estado Aragua para todo el periodo de estudio Febrero-Octubre (2013).

Cuadro 4. Especies y ejemplares de moluscos (babosas y caracoles) que se registraron en los diferentes sitios inspeccionados en la Colonia Tovar, estado Aragua para el periodo Febrero-Octubre (2013).

Especie/Sitio	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3	Sitio 4	Sitio 5	Sitio 6	Sitio 7
<i>Arion subfuscus</i>	822	21	54	1310	511	469	30
<i>Deroceras reticulatum</i>	342	9	87	287	308	537	9
<i>Lehmannia valentiana</i>	50	0	27	102	7	69	0
Juveniles (Babosas)	387	26	176	625	720	676	13
<i>Helix aspersa</i>	25	0	3	95	7	14	1
Total de ejemplares	1626	56	347	2419	1553	1765	53
Porcentaje (%)	20,80	0,72	4,44	30,94	19,86	22,57	0,68

Cuadro 5. Diferencias en la abundancia relativa de moluscos (babosas y caracoles) que se registraron en los diferentes sitios inspeccionados en la Colonia Tovar, estado Aragua para el periodo Febrero-Octubre (2013).

Sitios	Media	Sitios					
		1	2	3	4	5	6
1	57,292						
2	13,625	43,667*					
3	28,500	28,792	14,875				
4	68,958	11,667	55,333*	40,458*			
5	55,750	1,542	42,125*	27,250	13,208		
6	60,000	2,708	46,375*	31,500*	8,958	4,250	
7	13,375	43,917*	0,250	15,125	55,583*	42,375*	46,625*

* Valores estadísticamente diferentes ($p < 0,05$) según la prueba de Kruskal-Wallis. Valor crítico de comparación=30,254

Cuadro 6. Descripción de entorno donde fueron ubicadas las trampas-refugios en la Colonia Tovar.

Trampas	Productor(es)	Localización	Descripción de la zona
001-012	Carmen y Pedro Fernández	SITIO 1 (La Capilla)	Refugios expuestos a pleno sol, no hubo cuerpos de agua cercanos, el cultivo (fresa) se encontraba a pocos metros de los refugios y dentro de la zona de riego, alrededor de los mismos se observó las siguientes plantas: <i>Brassica campestris</i> (Rapa), <i>Trifolium repens</i> (Trébol) <i>Verbena</i> sp. y <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de león). Los invertebrados que coexistieron en los refugios tenemos: ciempiés, tijeretas del género <i>Forficula</i> y Cochinilla de humedad (<i>Armadillium</i> sp.). Con actividad antrópica cercana, sin embargo, no hubo residuos de cosecha ni de otro tipo cerca de los refugios.
013-024	Miguel Almenar	SITIO 2 (La Capilla)	Refugios expuestos a pleno sol, no hubo cuerpos de agua cercano, el cultivo (fresa) se encontraba a varios metros de los refugios, pero los dividía una densa cantidad de helechos. Los refugios, estuvieron dentro de la zona de riego. Alrededor de los mismos se observó las siguientes plantas: lirios y <i>Verbena</i> sp. La fauna asociada a los refugios son hormigas y planarias. No hubo actividad antrópica cercana y no hubo residuos de cosecha.
025-036	Juanita Zambrano	SITIO 3 (El Paují)	Refugios expuestos a pleno sol, no hubo cuerpos de agua cercano. El cultivo (calabacín) se encontraba cercano a los refugios. No hubo cuerpos de agua cerca de las trampas, pero, estos se encontraban dentro de la zona de riego. Las plantas cercanas a los refugios fueron: helechos y trébol. Dentro de la fauna asociada con los refugios tenemos: tijeretas y hormigas. No hubo residuos de cosecha.
037-048	Alejandrina Romero	SITIO 4 (EL Paují)	Refugios en sombra, no hay cuerpos de agua cercano. Los refugios se encontraban dentro de la zona de riego. Los cultivos observados fueron: durazno, mora y tomate. Hubo grandes cantidades de restos de cosecha y hubo actividad humana cercana a las trampas.
049-060	Zuleima Gutt	SITIO 5 (Palmarito)	Refugios expuestos a pleno sol, pero, hay una quebrada muy próxima a ellos. El cultivo (lechuga) estuvo cerca de las trampas. Los refugios están dentro de la zona de riego. La productora mantuvo siempre limpio la zona bajo estudio. Los animales que coexistieron dentro los refugios fuero: arañas, hormigas, planarias y tijeretas. Si hubo actividad humana cerca de los refugios. No hubo restos de cosecha.
061-072	Aurora Misle	SITIO 6 (Cruz Verde)	Refugios a pleno sol, no hay cuerpos de agua en las proximidades. El cultivo (fresa) se encontraba muy cerca de las trampas. Hubo actividad humana. Hubo una cantidad considerable de residuos de cosecha. Plantas asociadas: cala, durazno y tomate. Fauna asociada: lombrices terrestres y tijeretas.
073-084	Alejandro Straga	SITIO 7 (La Lagunita)	Refugios ubicados en sombra, el cultivo (fresa) se encuentran retirado de los refugios y no se encontraba dentro de la zona de riego. Fauna asociada: hormigas y tijeretas. No hubo actividad antrópica cercana, cero residuos de cosecha ni de otro tipo cerca de los refugios.

En los meses de marcada precipitación fue donde se registró la mayor abundancia de babosas y caracoles independientemente del sitio inspeccionado (Cuadro 7; Figura 20 y 21).

La depredación y el parasitismo son factores que pueden afectar el tamaño poblacional (Ayre, 1995). En los sitios 1, 4, 5 y 6 frecuentemente se observó la presencia de tijeretas del género *Forficula* (Hexapoda: Dermaptera) y ciempiés (Artropoda: Chilopoda), pero, en este trabajo no se evaluó en modo alguno su incidencia sobre la abundancia y densidad de los moluscos identificados (Figura 22).

Se sabe que la especie de *F. auricularia*, es un insecto generalista y depredador de áfidos, ácaros y otros invertebrados, pero, a veces se puede alimentar de plantas provocando daños de consideración en jardines, huertos y almácigos (Capinera, 2013). Con relación a los ciempiés, estos directamente han sido señalados depredando babosas y caracoles, especialmente, los géneros *Scolopendra* y *Lithobius* (Chevallier, 1992; Thomas, 2010). No obstante, en ningún momento se apreciaron cambios bruscos en el tamaño poblacional de los moluscos registrados que pudieran ser atribuidos a las especies depredadoras anteriormente mencionadas, tampoco se observó especies de vertebrados alimentándose de las babosas y caracoles.

Estimación de la densidad poblacional de los gasterópodos terrestres identificados mediante trampas-refugios

Todas las poblaciones de gasterópodos terrestres (babosas y caracoles) identificados en el presente trabajo, mostraron una amplia variación en la estimación de la densidad poblacional a lo largo de todo el periodo de estudio en los diferentes sitios inspeccionados (Cuadro 8 y 9).

Durante los meses de febrero, marzo y abril (periodo seco), se observó una menor densidad de babosas. Mientras que en los meses de agosto, septiembre y octubre (periodo húmedo) el tamaño poblacional fue marcadamente superior. Este comportamiento bimodal se

Cuadro 7. Datos de precipitación (mm) y temperatura (°C) mínima, media y máxima para la Colonia Tovar, estado Aragua, Venezuela.

Datos/Meses	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC
Precipitación (mm)	40	30	27	78	127	145	138	135	140	144	109	59
Temp. mínima (°C)	8,7	8,7	9,5	11,1	12,0	11,7	11,4	11,4	11,3	11,1	10,7	9,8
Temp. media (°C)	14,1	14,4	15,2	16,1	16,3	15,7	15,4	15,7	15,8	15,7	15,4	14,7
Temp. máxima (°C)	19,5	20,1	20,9	21,0	20,6	19,6	19,4	19,9	20,2	20,2	20,1	19,5

Fuente: <http://www.es.climate-data.org>. Fecha de consulta: 5/12/2013. Valores solamente referenciales.

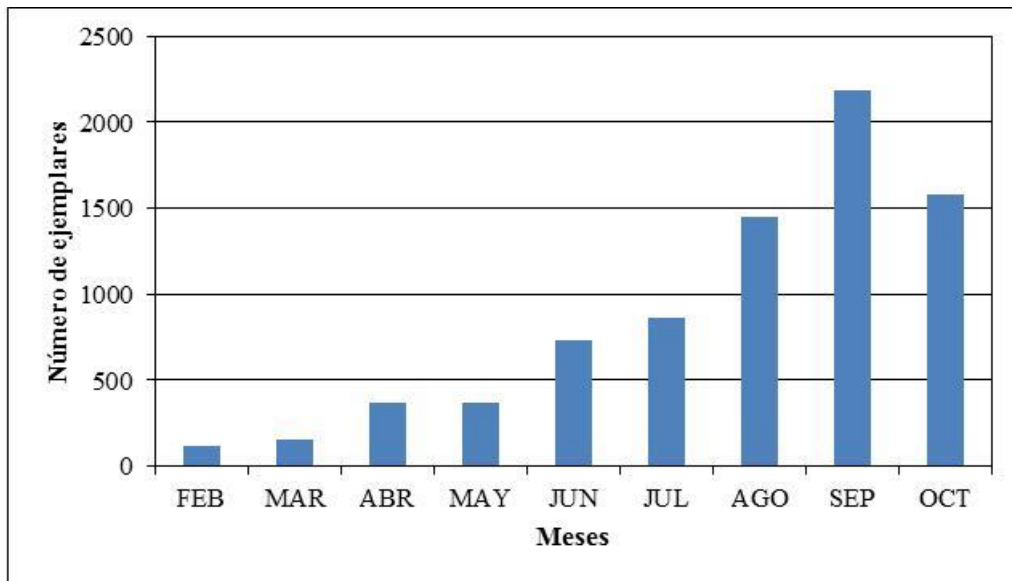


Figura 20. Variación de la abundancia relativa de moluscos (babosas y caracoles) que se registró en todo los sitios y para todo el periodo de estudio Febrero-Octubre (2013).

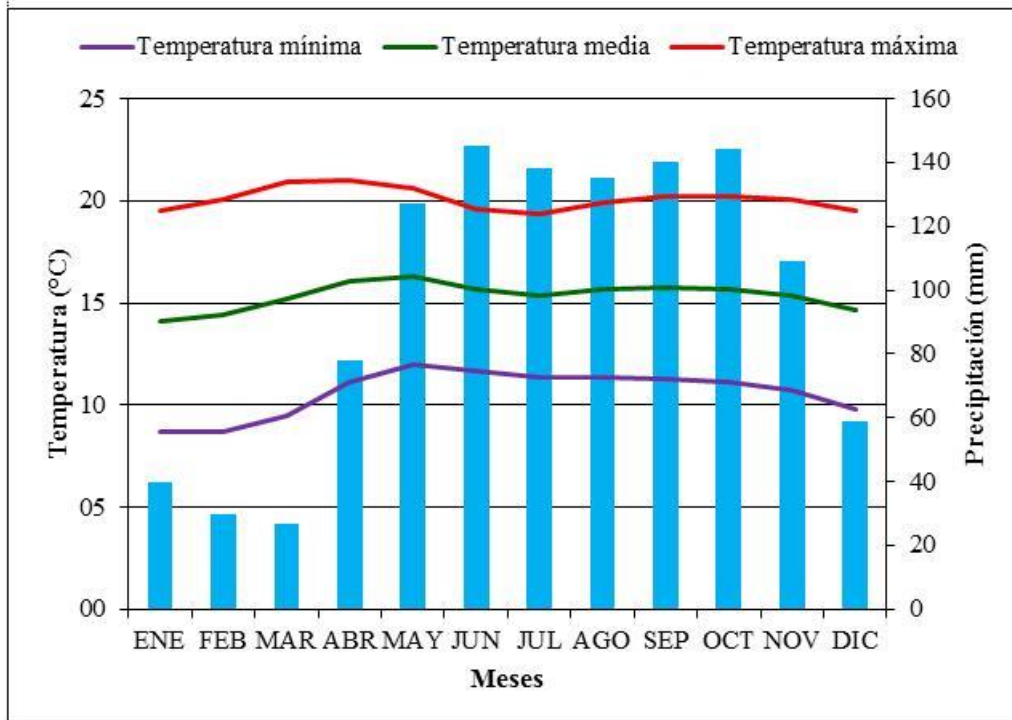


Figura 21. Climograma de la Colonia Tovar, estado Aragua, Venezuela. Fuente: <http://www.es.climate-data.org>. Fecha de consulta: 5/12/2013.

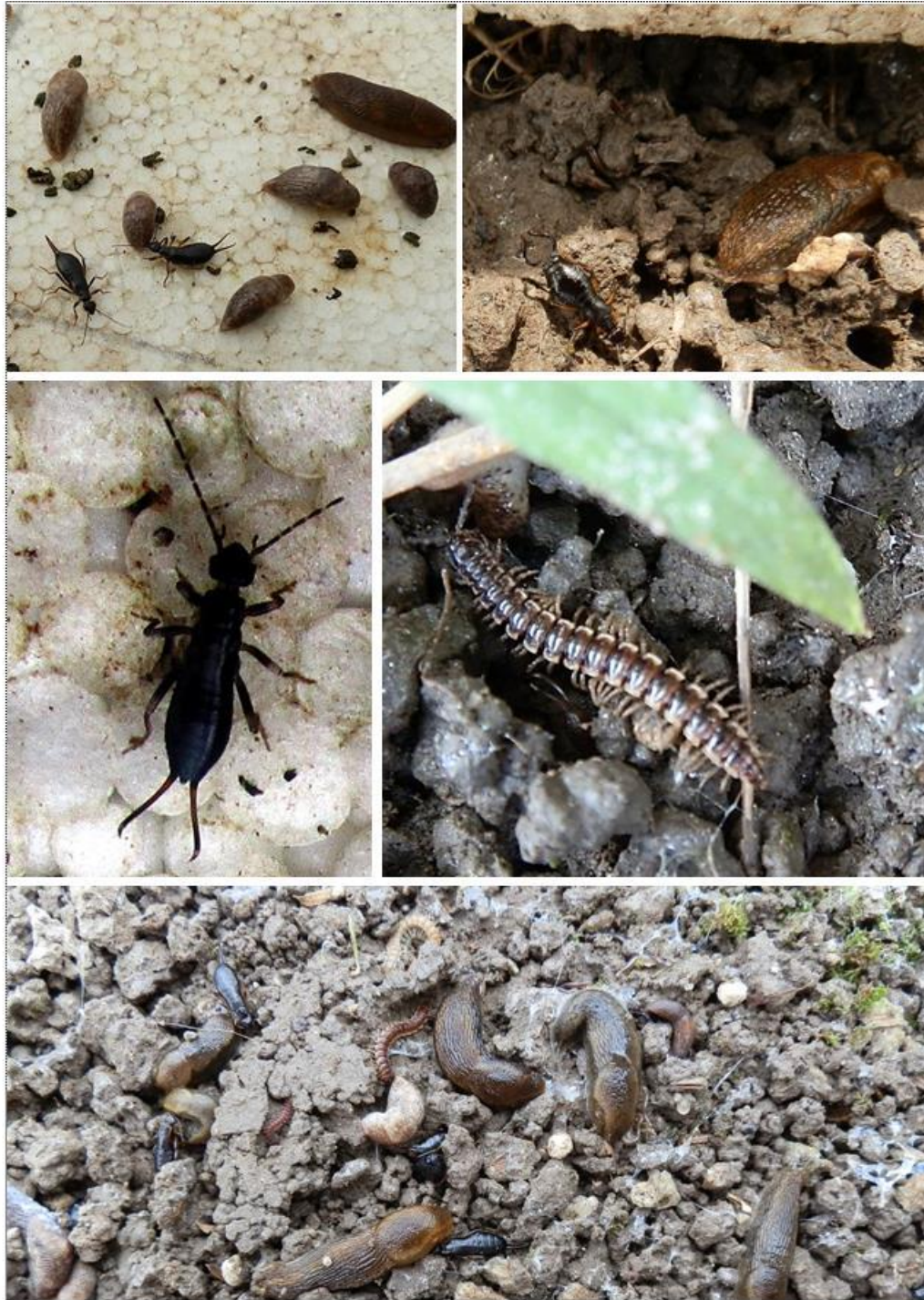


Figura 22. Tijeretas y ciempiés que coexistieron en los refugios junto con las babosas y caracoles, en la Colonia Tovar, estado Aragua, Venezuela.

Cuadro 8. Valores mensuales de densidad estimada de moluscos (babosas y caracoles) a lo largo del periodo de estudio Febrero-Octubre (2013).

Id.	Mes	<i>A. subfuscus</i>	<i>D. reticulatum</i>	<i>L. valentiana</i>	Juveniles(*)	<i>H. aspersa</i>
Sitio 1	FEB	0	0	0	0	0
	MAR	0	0	0	0	0
	ABR	9	11	1	21	0
	MAY	8	11	5	16	0
	JUN	107	45	16	32	11
	JUL	87	25	3	52	3
	AGO	75	71	5	61	9
	SEP	553	193	28	212	3
	OCT	257	100	8	121	8
	Sitio 2	FEB	0	0	0	0
MAR		0	0	0	0	0
ABR		3	4	0	8	0
MAY		15	3	0	0	0
JUN		5	4	0	4	0
JUL		3	1	0	17	0
AGO		0	0	0	0	0
SEP		1	0	0	4	0
OCT		1	0	0	1	0
Sitio 3		FEB	0	0	0	0
	MAR	0	0	0	0	0
	ABR	0	0	0	3	0
	MAY	0	0	0	11	0
	JUN	1	0	0	8	4
	JUL	0	0	0	29	0
	AGO	19	17	8	49	0
	SEP	29	60	21	111	0
	OCT	23	39	7	24	0
	Sitio 4	FEB	7	0	1	27
MAR		8	5	0	32	0
ABR		16	5	4	31	0
MAY		44	5	7	13	0
JUN		75	35	23	55	0
JUL		53	19	23	67	0
AGO		549	135	60	119	1
SEP		512	75	13	227	0
OCT		483	104	5	264	0
Sitio 5		FEB	4	0	4	28
	MAR	13	8	5	40	0
	ABR	19	8	0	52	9
	MAY	24	28	0	95	0
	JUN	111	41	0	159	0
	JUL	147	61	0	219	0
	AGO	128	83	0	117	0
	SEP	164	132	0	119	0
	OCT	72	49	0	132	0
	Sitio 6	FEB	17	9	8	51
MAR		5	7	1	65	0
ABR		51	36	23	161	5
MAY		40	29	8	103	1
JUN		49	84	0	68	0
JUL		83	113	4	108	0
AGO		84	205	23	97	9
SEP		153	143	17	121	1
OCT		143	89	8	127	0
Sitio 7		FEB	0	0	0	0
	MAR	0	1	0	1	0
	ABR	0	1	0	3	0
	MAY	3	0	0	9	0
	JUN	13	1	0	0	0
	JUL	17	1	0	1	0
	AGO	1	0	0	0	1
	SEP	0	5	0	0	0
	OCT	5	1	0	3	0

Nota: (*) Babosas. El valor de densidad poblacional viene expresado en número de ejemplares/m².

Cuadro 9. Intervalos de confianza [IC(70%)] y error de estimación (%) de la densidad de moluscos (babosas y caracoles).

Id.	Especie	<i>A. subfuscus</i>		<i>D. reticulatum</i>		<i>L. valentiana</i>		Juveniles(*)		<i>H. aspersa</i>	
		Mes	IC	%	IC	%	IC	%	IC	%	IC
Sitio 1	FEB	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0
	MAR	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0
	ABR	6 - 13	4	7 - 15	4	0 - 3	1	16 - 27	5	0 - 0	0
	MAY	5 - 11	3	7 - 15	4	3 - 8	3	11 - 21	5	0 - 0	0
	JUN	94 - 119	12	37 - 53	8	11 - 21	5	25 - 39	7	7 - 15	4
	JUL	76 - 98	11	19 - 31	6	1 - 5	2	43 - 61	9	1 - 5	2
	AGO	64 - 85	10	61 - 81	10	3 - 8	3	52 - 71	9	6 - 13	4
	SEP	525 - 581	28	177 - 210	17	22 - 34	6	195 - 229	17	1 - 5	2
OCT	238 - 276	19	88 - 112	12	5 - 11	3	108 - 134	13	5 - 11	3	
Sitio 2	FEB	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0
	MAR	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0
	ABR	1 - 5	2	2 - 6	2	0 - 0	0	5 - 11	3	0 - 0	0
	MAY	10 - 19	5	1 - 5	2	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0
	JUN	3 - 8	3	2 - 6	2	0 - 0	0	2 - 6	2	0 - 0	0
	JUL	1 - 5	2	0 - 3	1	0 - 0	0	12 - 22	5	0 - 0	0
	AGO	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0
	SEP	0 - 3	1	0 - 0	0	0 - 0	0	2 - 6	2	0 - 0	0
OCT	0 - 3	1	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 3	1	0 - 0	0	
Sitio 3	FEB	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0
	MAR	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0
	ABR	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	1 - 5	2	0 - 0	0
	MAY	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	7 - 15	4	0 - 0	0
	JUN	0 - 3	1	0 - 0	0	0 - 0	0	5 - 11	3	2 - 6	2
	JUL	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	23 - 36	6	0 - 0	0
	AGO	14 - 24	5	12 - 22	5	5 - 11	3	41 - 58	8	0 - 0	0
	SEP	23 - 36	6	51 - 69	9	16 - 27	5	98 - 123	13	0 - 0	0
OCT	17 - 28	6	31 - 46	7	4 - 10	3	18 - 30	6	0 - 0	0	
Sitio 4	FEB	4 - 10	3	0 - 0	0	0 - 3	1	21 - 33	6	0 - 3	1
	MAR	5 - 11	3	3 - 8	3	0 - 0	0	25 - 39	7	9 - 18	4
	ABR	11 - 21	5	3 - 8	3	2 - 6	2	24 - 37	7	1 - 5	2
	MAY	36 - 52	8	3 - 8	3	4 - 10	3	9 - 18	4	10 - 19	5
	JUN	64 - 85	10	28 - 42	7	17 - 28	6	46 - 63	9	17 - 28	6
	JUL	45 - 62	9	14 - 24	5	17 - 28	6	57 - 76	10	12 - 22	5
	AGO	521 - 577	28	121 - 148	14	51 - 69	9	106 - 132	13	1 - 5	2
	SEP	485 - 539	27	64 - 85	10	9 - 18	4	209 - 245	18	15 - 25	5
OCT	457 - 509	26	92 - 116	12	3 - 8	3	245 - 283	19	25 - 39	7	
Sitio 5	FEB	2 - 6	2	0 - 0	0	2 - 6	2	22 - 34	6	0 - 0	0
	MAR	9 - 18	4	5 - 11	3	3 - 8	3	32 - 48	8	0 - 0	0
	ABR	14 - 24	5	5 - 11	3	0 - 0	0	43 - 61	9	6 - 13	4
	MAY	18 - 30	6	22 - 34	6	0 - 0	0	83 - 106	12	0 - 0	0
	JUN	98 - 123	13	34 - 49	8	0 - 0	0	144 - 174	15	0 - 0	0
	JUL	132 - 161	14	52 - 71	9	0 - 0	0	201 - 236	18	0 - 0	0
	AGO	115 - 141	13	72 - 93	11	0 - 0	0	104 - 130	13	0 - 0	0
	SEP	149 - 179	15	118 - 146	14	0 - 0	0	106 - 132	13	0 - 0	0
OCT	62 - 82	10	41 - 58	8	0 - 0	0	118 - 146	14	0 - 0	0	
Sitio 6	FEB	12 - 22	5	6 - 13	4	5 - 11	3	42 - 59	8	0 - 3	1
	MAR	3 - 8	3	4 - 10	3	0 - 3	1	56 - 75	10	0 - 0	0
	ABR	42 - 59	8	29 - 43	7	17 - 28	6	146 - 176	15	3 - 8	3
	MAY	32 - 48	8	23 - 36	6	5 - 11	3	91 - 115	12	0 - 3	1
	JUN	41 - 58	8	73 - 95	11	0 - 0	0	58 - 78	10	0 - 0	0
	JUL	72 - 93	11	101 - 126	13	2 - 6	2	96 - 120	12	0 - 0	0
	AGO	73 - 95	11	188 - 222	17	17 - 28	6	86 - 109	12	6 - 13	4
	SEP	139 - 168	15	128 - 157	14	12 - 22	5	108 - 134	13	0 - 3	1
OCT	128 - 157	14	78 - 101	11	5 - 11	3	113 - 140	13	0 - 0	0	
Sitio 7	FEB	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0
	MAR	0 - 0	0	0 - 3	1	0 - 0	0	0 - 3	1	0 - 0	0
	ABR	0 - 0	0	0 - 3	1	0 - 0	0	1 - 5	2	0 - 0	0
	MAY	1 - 5	2	0 - 0	0	0 - 0	0	6 - 13	4	0 - 0	0
	JUN	9 - 18	4	0 - 3	1	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0
	JUL	12 - 22	5	0 - 3	1	0 - 0	0	0 - 3	1	0 - 0	0
	AGO	0 - 3	1	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 3	1
	SEP	0 - 0	0	3 - 8	3	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0
OCT	3 - 8	3	0 - 3	1	0 - 0	0	1 - 5	2	0 - 0	0	

Nota: (*) Babosas. El valor de densidad poblacional viene expresado en número de ejemplares/m².

corresponde con un patrón de periodicidad o estacionalidad en el tamaño poblacional de babosas que han sido introducidas en muchas regiones tropicales del mundo.

Barrada (2003) en España, señaló un patrón de variación temporal en el tamaño de poblaciones de *D. reticulatum* en cuatro fases estacionales: la mayor abundancia de babosas se registra durante el invierno, el tamaño de población desciende a lo largo de la primavera, alcanza sus valores mínimos en el verano y a lo largo del otoño aumenta de forma progresiva.

Por otra parte, menores densidades poblacionales de babosas durante el invierno han sido observadas en muchas partes de Europa, pues al parecer estos animales encuentran dificultades para sobrevivir por debajo de los 0°C (Sionek y Kozlowski, 1999; Barrada, 2003).

Los resultados mostrados en este trabajo parecen indicar que la precipitación sería uno de los factores determinantes en la distribución, abundancia relativa y actividad de las babosas en muchas zonas de cultivo de altura en Venezuela. Pero, se necesitan ulteriores programas de monitoreo que sean muy amplios en el tiempo para dilucidar aspectos del ciclo generacional de estas plagas y su relación con el tamaño y densidad poblacional a lo largo del tiempo en muchas partes del país (Fernández de Valera, 1982).

En el sitio 1, las mayores densidades de población de *A. subfuscus* se registró en los meses de septiembre y octubre con una densidad de 553 y 257 ejemplares/m², respectivamente. Igual comportamiento se observó para *D. reticulatum* con 193 ejemplares/m² en el mes de septiembre y 100 ejemplares/m² en el mes de octubre. No obstante, las mayores densidades de población estimada para *L. valentiana* se observó en el mes de junio con 16 ejemplares/m² y en el mes de septiembre con 28 ejemplares/m². En cuanto a las babosas inmaduras (juveniles), las mayores densidades también se registraron en los meses de septiembre y octubre.

Para el sitio 2, las densidades de *A. subfuscus* oscilaron entre 0 a 15 ejemplares/m² durante todo el periodo de estudio, mientras que las de *D. reticulatum* los tamaños poblacionales oscilaron entre 0 a 4 ejemplares/m². Por su parte, la densidad de babosas inmaduras fluctuó entre 0 y 17 ejemplares/m².

En el sitio 3, las poblaciones de *A. subfuscus*, *D. reticulatum* y *L. valentiana* en los meses de agosto, septiembre y octubre presentaron una densidad poblacional comprendida entre 7 a 60 ejemplares/m². Mientras que las mayores densidades de babosas inmaduras fue observada en el mes de septiembre con 111 ejemplares/m².

Las inspecciones mensuales de las trampas en el sitio 4 durante los meses de febrero, marzo e incluso abril mostraron que las poblaciones de babosas maduras independientemente de la especie estuvieron muy reducidas con densidades que oscilaron entre 0 y 16 ejemplares/m². Mientras que las babosas inmaduras, presentaron densidades poblacionales más o menos constantes hasta el mes de mayo. Las mayores densidades de babosas inmaduras fueron registradas el mes de octubre con 264 ejemplares/m². Es importante señalar, que en el mes de agosto la densidad estimada de *H. aspersa* fue de 1 ejemplar/m².

En el sitio 5, las mayores densidades poblacionales de *A. subfuscus* se registró en los meses de agosto y septiembre con una densidad de 128 y 164 ejemplares/m², respectivamente. Igual comportamiento se observó, para *D. reticulatum* con 83 ejemplares/m² en el mes de agosto y 132 ejemplares/m² para el mes de septiembre. La densidad estimada de *L. valentiana* fue de alrededor de 5 ejemplares/m² entre los meses de febrero y marzo, mientras, que para el resto del periodo la densidad poblacional fue de 0 ejemplar/m².

Para el sitio 6, las poblaciones de babosas maduras en los meses de agosto, septiembre y octubre presentaron una densidad poblacional comprendida entre 17 a 205 ejemplares/m². Mientras que las mayores densidades de babosas inmaduras fue observada en el mes de septiembre con 127 ejemplares/m². Por último, las densidades poblacionales de gasterópodos terrestres del sitio 7 fueron muy similares a los presentados para el sitio 2.

En conjunto, la densidad promedio estimada de *A. subfuscus*, *D. reticulatum*, *L. valentiana*, Juveniles (babosas) y *H. aspersa* para todo el periodo de estudio fue de 68, 33, 5, 55 y 1 ejemplares/m², respectivamente.

Barrada (2003), en España, señaló una densidad media de 25 babosas/m² para diferentes zonas agrícolas de Galicia. En pastizales en Nueva Zelanda, se señala poblaciones medias de la especie de babosa *D. reticulatum* de 150 individuos/m² (Barker, 1991). Valores elevados de babosas de 200 individuos/m², reportaron Byers y Calvin (1994) en maíz y adicionalmente estimaron que los daños oscilaban entre 25 y 50% para este cultivo.

Las estimaciones de densidad de babosas en este trabajo muestran amplias variaciones temporales en el tamaño de la población. Según Barrada (2003), esto parece ser una característica general de todos los trabajos que tratan de determinar el tamaño poblacional de diferentes especies de babosas.

CONCLUSIONES

Se identificaron cuatro especies de moluscos de interés agrícola en la Colonia Tovar, estado Aragua, Venezuela: *A. subfuscus*, *D. reticulatum*, *L. valentiana* (babosas) y *H. aspersa* (caracol).

No se detectaron en las trampas-refugio especies de sietecueros. Todas las especies de moluscos identificadas, se alimentaban en mayor o menor grado de diferentes especies vegetales tanto en plantas cultivadas como no cultivadas.

A. subfuscus y *D. reticulatum* fueron las especies de moluscos más abundantes y las que presentaron la mayor densidad poblacional durante todo el periodo de estudio. *L. valentiana*, se señala por primera vez en la Colonia Tovar, estado Aragua y también fue observada en Petaquire, estado Vargas durante la prueba piloto de las trampas tipo “refugio” para detectar moluscos de interés agrícola.

La aplicabilidad de marcadores moleculares basados en el ADN RAPD representa una herramienta confiable en la determinación de la diversidad genética de los gasterópodos y el estudio de las relaciones existentes entre las especies *A. subfuscus* y *D. reticulatum*.

Los patrones RAPD fueron informativos al generar bandas polimórficas entre las especies, para la caracterización molecular e identificación de babosa permitiendo el establecimiento de un protocolo de caracterización. Los dos cebadores utilizados permitieron diferenciarlas con respecto a su género. Se evidenció poca diversidad genética entre los grupos de individuos de cada especie.

Las densidades poblacionales de las babosas presentadas en el trabajo fueron muy altas si se compara con estimaciones poblacionales realizadas en Europa. La densidad poblacional de *H. aspersa* para todo el periodo de estudio fue muy baja.

RECOMENDACIONES

Realizar reconocimientos más detallados en diferentes regiones del país tanto en plantas cultivadas como no cultivadas.

Estimar la densidad poblacional a través de un programa de monitoreo a largo plazo, temperatura y tiempo óptimo de desarrollo, tasa de fecundidad, número de posturas y periodo de incubación de los huevos para establecer un modelo de predicción para nuestras condiciones.

Detectar potenciales enemigos naturales que eventualmente pudieran ser incorporados en programas de manejo integrado de moluscos plagas.

Determinar la actividad molusquicida de algunos extractos vegetales y estudiar su viabilidad para manejo de moluscos plagas.

Implementar medidas generales de manejo, con el objeto de mantener a las babosas y caracoles en niveles poblacionales que no afecten el umbral económico y practicar el manejo integrado de plagas y enfermedades.

Realizar estudios de factibilidad y de mercado para incorporar al caracol *H. aspersa* a un programa de explotación comercial (helicicultura) con fines de exportación. Este caracol tiene un enorme potencial ya que puede ser incorporado en programas de explotación comercial (cría) por el valor alimenticio y económico de su carne, el cual es reconocido internacionalmente.

Educar a los productores sobre la importancia que tiene la limpieza de sus siembras con el fin de eliminar sitios favorables de refugios para moluscos plagas, especialmente, para las babosas identificadas en este trabajo.

LITERATURA CITADA

Agudelo, W., De La Hoz, C., Torrenegra, F., Vergara, D. y Ariza, B. 2005. Métodos estadísticos para la estimación de poblaciones de Crocodílidos en estado silvestre en tres zonas del embalse Guájaro, departamento del Atlántico, Colombia. *Revista Dugandia* 1:67-73.

Alonso, M., Ibáñez, M. y Bech, M. 1985. Claves de identificación de las babosas (pulmonados desnudos) de Cataluña. *Misceláneas Zoológicas* 9:91-107.

Andrews, K. y Huevo, A. 1983. Relación entre la densidad poblacional de la babosa *Vaginulus plebeius* y el daño en frijol común (*Phaseolus vulgaris*). *Turrialba* 33:165-168.

Andrews, K. y López, J. 1987. Comportamiento nocturno de la babosa. *Ceiba* 28:193-199.

Angulo-Graterol, L., Pérez-Almeida, I., Osorio, G., Ramis, C., Bedoya, A., Molina, S. e Infante, D. 2013. Estudio de la diversidad genética de nueve especies de *Cattleya* usando RAPD e ISTR. *Bioagro* 25:23-30.

Arias, S. 1952. Algunos moluscos de la región Baruta-El Hatillo. *Memorias de la Sociedad de Ciencias Naturales La Salle* 7:45-65.

Arias, S. 1959. *Arion subfuscus* (Draparnaud) (Pulmonata, Stylommatophora: Aulacopoda), un molusco palearctico adaptado a Venezuela. *Memorias de la Sociedad de Ciencias Naturales La Salle* 52:23-36.

Ayre, K. 1995. Evaluation of Carabids as predators of slugs in arable land. Thesis Doctor. Newcastle University, UK. 203 pp.

Ayres, M., Ayres, M.J., Lima, D., Santos, A. e Lima, L. 2007. *BioEstat. Aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Biomédicas*. Belém, Brasil. (Programa estadístico).

Barker, G. and Pottinger, R. 1983. Three slugs of the Altiplano, Peru (Mollusca: Stylommatophora). *Revista Peruana de Entomología* 26:67-73.

Barker, G.M. 1991. Biology of slugs (Agriolimacidae and Arionidae: Mollusca) in New Zealand hill country pastures. *Oecologia* 85:581-595.

Barnes, R. 1968. *Zoología de los invertebrados*. 2^{da} edición. Editorial Interamericana, S.A. de C.V. DF, México. 826 pp.

Barrada, M. 2003. Desarrollo de un modelo de predicción de actividad de la babosa *Deroceras reticulatum* (Müller, 1774) aplicable al control de plagas en zonas agrícolas de Galicia. Tesis doctoral. Universidad Santiago de Compostela, Galicia, España. 343 pp.

Barrientos, Z. 2003. Aspectos básicos sobre la clasificación, recolección, toma de datos y conservación de los moluscos. *Revista de Biología Tropical* 51:13-30.

Breure, A. 1979. Notes on Bulimulidae (Gastropoda: Euthyneura). On some collections from Colombia. *Archiv fuer Molluskenkunde* 107:257-270.

Brusca, R. y Brusca, G. 2005. *Invertebrados*. 2^{da} Edición. McGraw-Hill/Interamericana de España, S.A.U. Madrid, España. 1005 pp.

Byers, R. and Calvin, D. 1994. Economic Injury Levels to Field Corn from Slug (Stylommatophora: Agriolimacidae) Feeding. *Journal of Economic Entomology* 87:1345-1350.

Cacarán, M. 2013. Prospección de especies vegetales con principios biocidas para el control de babosas (*Deroceras* sp.) en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.). Santa Cruz, Galápagos. Tesis de grado. Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas. Quito, Ecuador. 100 pp.

Cadenas, A. 2002. Estudio de la relación entre los sistemas de producción agrícola y las condiciones de salud de la población rural del municipio Tovar, estado Aragua. Tesis de grado. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía. Maracay, Venezuela. 61 pp.

Cádiz, F. y Gallardo, C. 2007. *Arion intermedius* (Gastropoda: Stylommatophora) first record of this introduced slug in Chile, with notes its anatomy and natural history. Revista Chilena de Historia Natural 80:99-108.

Campos, J. y Calvo, A. 2006. Moluscos introducidos en Uruguay. Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay 9:75-78.

Capinera, J. 2013. European Earwig *Forficula auricularia* Linnaeus (Insecta: Dermaptera: Forficulidae). University of Florida. IFAS Extension. Florida, USA. 5 pp.

Castillejo, J. 1983. Los pulmonados desnudos de Galicia. III. Estudio del género *Deroceras* Rafinesque, 1820 (Agriolimacidae, Gastropoda, Pulmonata). Iberus 3:1-13.

Castillejo, J. 1996. Las babosas como plaga en la agricultura. Claves de Identificación y mapas de distribución. Revista de la Real Academia Gallega de Ciencias 15: 93-142.

Castillejo, J. 1998. Guía de las babosas Ibéricas. Real Academia Gallega de Ciencias. Santiago de Compostela, España. 154 pp.

Chevallier, H. 1992. L'élevage des Escargots. Production et Preparation du Petitgris. Editions du Point Vétérinaire. Maisons-Alfort. Francia. 144 pp.

Clemente, N., Faberi, A., López, A., Manetti, P. y Álvarez, H. 2007. Biología de *Deroceras reticulatum* y *D. laeve*, moluscos de cultivos en siembra directa. INTA, Argentina. RIA 36:129-142.

Córdoba, M. 2009. Predicción de plagas de gasterópodos terrestres en Galicia. Tesis doctoral. Universidad Santiago de Compostela, Galicia, España. 462 pp.

Fernández de Valera, J. 1982. Contribución al conocimiento de las babosas y sietecueros (Mollusca: Gastropoda) que causan daños a la agricultura en Venezuela. Revista de la Facultad de Agronomía (Maracay) 7:353-386.

France, A., Gerding, M., Céspedes, C. y Cortez, M. 2002. Control de babosas (*Deroceras reticulatum* Müller) con *Phasmarhabditis hermaphrodita* Schneider (Nematoda: Rhabditidae) en suelos con sistema de cero labranza. Agricultura Técnica (Chile) 62:181-190.

Fuentes, L. 2006. Moluscos de Importancia Agrícola. Revista Digital CENIAP HOY N° 11 Mayo-Agosto, 2006. Maracay, Aragua, Venezuela. Fecha de consulta: 05/04/2012. En línea. URL: www.ceniap.gob.ve/ceniaphoy/articulos/n11/arti/fuentes_1.htm.

Galíndez, R., Ramis, C. y Angulo, L. 2011. Exploración inicial de la diversidad genética del cerdo criollo venezolano usando RAPD. Revista de la Facultad de Agronomía (Maracay) 37: 55-63.

Hammer, Ø., Harper, D. and Ryan, P. 2001. Past: Paleontological statistics software package for education and data analysis. Paleontologia Electronica 4:1-9 (Programa estadístico).

Hausdorf, B. 2002. Introduced land snails and slugs in Colombia. Journal of Molluscan Studies 68:127-131.

Hickman, C., Roberts, L. y Parson, A. Principios integrales de Zoología. 1998. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, España. 921 pp.

IICA, 2010. Guía de identificación y manejo integrado: Plagas del frijol en Centroamérica. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), Proyecto Red SICTA, Cooperación Suiza en América Central. Managua, Nicaragua. 48 pp.

Kozłowski, J. and Kozłowska, M. 2004. Food preferences of *Deroceras reticulatum*, *Arion lusitanicus* and *Arion rufus* for various medicinal herbs and oilseed rape. *Journal of Plant Protection Research* 44:239-250.

Juříčková, L. and Kapounek, F. 2009. *Helix (Cornu) aspersa* (O.F. Müller, 1774) (Gastropoda: Helicidae) in the Czech Republic. *Malacologica Bohemoslovaca* 8:53-55.

Levitan, D. and Grosberg, R. 1993. The analysis of paternity and maternity in the marine hydrozoan *Hydractinia symbiolongicarpus* using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Molecular Ecology* 2:315-326.

Maceira, D. 2003. Las especies de la familia Veronocellidae (Mollusca: Soleolifera) en Cuba. *Revista de Biología Tropical* 51:453-461.

Magalhães, B. e Carvalho, S. 1988. Insetos associados à cultura. *In: Zimmermann, M., Rocha, M. e Yamada, T. (Eds.) Cultura do feijoeiro: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba, Potafos. pp. 573-589.*

Martínez, R. y Miranda, R. 1968. Aspectos de la reproducción en moluscos pulmonados del área metropolitana de Caracas. *En: Estudio de Caracas. Ecología vegetal (Fauna). Vol. II. Universidad Central de Venezuela (UCV). Caracas, Venezuela. pp. 123-165.*

Martínez, R. y Martínez, E. 1997. Nota acerca de la *Achatina (Lissachatina) fulica* (Bowdich, 1822), peligroso caracol africano (Pulmonata-Achatinidae) introducido en Venezuela. *Acta biologica venezuelica* 17:37-40.

Mc Donnell, R., Paine, T. and Gormally, M. 2009. Slugs: A guide to the invasive and native fauna of California. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, USA. 21 pp.

Mc Donnell, R., Rugman-Jones, P., Backeljau, T., Breugelmans, K., Jordaens, K., Stouthamer, R., Paine, T. and Gormally, M. 2011. Molecular identification of the exotic slug *Arion subfuscus* sensu stricto (Gastropoda: Pulmonata) in California, with comments on the source location of introduced populations. *Biological Invasions* 13:61-66.

Medina, A., Ramis, C., Rodríguez, D. y Vega, A. 2010. Variabilidad genética del germoplasma de algunas especies de los géneros *Carica* y *Vasconcellea* (Caricaceae) con el uso de marcadores RAPD. *Revista de la Facultad de Agronomía (Maracay)* 36: 116-124.

Mikkelsen, P. 1985. A rapid method for slide mounting of minute radulae with a bibliography of radula mounting techniques. *The Nautilus* 99:62-65.

Mikhailova, N. and Johannesson, K. 1998. A comparison of different protocols for RAPD analysis of *Littorina*. *Hydrobiologia* 378:33-42.

Monge, J. 2003. Técnicas básicas para el estudio de los moluscos. *Revista de Biología Tropical* 51:5-12.

Morales, S., Vivas, N., Quiñonez, A. y Mera, E. 2006. Validación de un sistema productivo con *Helix aspersa*, bajo las condiciones agroecológicas del altiplano de Popayán. *Facultad de Ciencias Agropecuarias* 4:21-26.

Moreno, J., Gaviria, B., Navarro, R., Durán, B., Vargas, A., Aguirre, P. y Quiroz, C. 2008. Babosas en cultivos del valle de San Nicolás (Cercano Oriente Antioqueño). Universidad Católica de Oriente, Colombia. 40 pp.

Norman, F., Pérez, J. y López, R. 2010. Alertas de enfermedades emergentes. Boletín Enfermedades Emergentes 7:1-7.

Olivares, C. 2005. Caracterización de algunos aspectos biológicos básicos del caracol de tierra *Helix aspersa* (Mollusca: Gastropoda: Stylommatophora) en la IV región de Chile. I. Parámetros reproductivos. Biociências 13:177-192.

Ojasti, J. 2001. Estudio sobre el estado actual de las especies exóticas. Comunidad Andina (CAN) y Banco Interamericano de Desarrollo (BID). Caracas, Venezuela. pp. 57-59.

Ordosgoitti, A. 1999. Caracoles plagas de cítricas en Yumare, estado Yaracuy. Agronomía Tropical 49:517-525.

Pardo, A., Michelangeli, C., Ramis, C., Mogollón, N. y Silva C. 2008. Evaluación de la estabilidad genética mediante marcadores RAPD, en brotes de *Billberia rosea* Hortus Ex Beer, conservados *in vitro*. Bioagro 20:97-104.

Pérez, A. y López, A. 2003. Listado de la malacofauna continental (Mollusca: Gasteropoda) del pacífico de Nicaragua. Revista de Biología Tropical 51:405-451.

Pinto, M. 1999. Conchas dos Caramujos Terrestres do Brasil. Technical Books. 57 pp.

Rowson, B., Turner, J., Anderson, R. and Symondson, B. 2013. Slugs of Britain and Ireland. National Museum of Wales, UK. pp. 18-37.

Sambrook, J., Fritsch, E. and Maniatis, T. 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1659 pp.

Salinas, P. 1982. Babosas, *Arion subfuscus* (Mollusca: Arioniidae), en los Andes venezolanos y su control. En: Salinas, P. J. (Ed.). Zoología Neotropical. Mérida. Venezuela. Tomo 2. pp. 1219-1230.

Santacruz, A., Toro, M. and Salazar, C. 2011. Slugs control methods (*Deroceras* sp Müller) in lettuce and broccoli crops. *Agronomía Colombiana* 29:241-247.

Sionek, R. and Kozłowski, J. 1999. Species composition and abundance dynamics of slugs (Gastropoda Terrestria Nuda) in urban conditions. *Folia Malacologica* 7:115-122.

Skujiene, G. and Soroka, M. 2003. A comparison of different DNA extraction methods for slugs (Mollusc, Pulmonata). *Ekologija* 12-16.

Soroka, M. and Skujiene, G. 2011. Species identification of slugs of genus *Arion* Férrusac, 1819 (Mollusca, Pulmonata) on the basis of genetics. *Ekologija* 57:70-80.

Stojnić, B., Vukša, M., Jokić, G. and Črkrić, M. 2011. First record of introduced Valencia slug, *Lehmannia valentiana* (Férussac, 1822), in Serbia. *Pesticides and Phytomedicine* 26:213-220.

Thomas, A. 2010. Impact of dietary diversification on invasive slugs and biological control with notes on slug species of Kentucky. Thesis Master. University of Kentucky. 140 pp.

Thomas, A., Mc Donnell, R., Paine, T. and Harwood, J. 2010. A field guide to the Slugs of Kentucky. Department of Entomology, University of Kentucky. Lexington, USA. 34 pp.

Thome, J. 1974. Contribuição a taxonomia dos Veronicellidae americanos, com revisão do gênero *Phyllocaulis* Colosi, 1922 (Mollusca: Gastropoda). Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências. Porto Alegre, Brasil. 115 pp.

Thome, J. 1993. Estado actual da dos Veronicellidae (Mollusca: Gastropoda) americanos comentarios sobre sua importância econômica ambiental e na saúde. *Biociências* 1:61-75.

Vera-Ardila, M. 2008. Lista de los géneros de moluscos terrestres de Colombia (Mollusca: Gastropoda: Prosobranchia: Mesogastropoda y Plumonata: Stylommatophora). *Biota Colombiana* 9:39-62.

Vera-Ardila, M. y Linares, E. 2005. Gastrópodos de la región subxerofítica de la Herrera, Mosquera, Cundinamarca, Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de la Ciencias* 29:439-456.

Ves Losada, J. 1999. Manejo integrado de plagas en la implantación del cultivo de girasol bajo sistemas de siembra directa. La Pampa, Argentina. Mimeografiado. 11 pp.

Williams, J., Kubelik, A., Livak, K., Rafalski, J. and Tingey, S. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18:6531-6535.