

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

TÍTULO DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

EFECTO *IN VITRO* DEL EXTRACTO DE *CLINOPODIUM*
TOMENTOSUM* PARA EL CONTROL DE *EOTETRANYCHUS
***LEWISI* Y *OLIGONYCHUS COFFEAEE* (ACARI:**
TETRANYCHIDAE)

DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN COMO REQUISITO PARA OBTENER
EL GRADO DE INGENIERO AGRÓNOMO

AUTOR:

Cristian Javier Ortíz Ortíz

TUTOR:

Dr. Carlos Vásquez

CEVALLOS

2020

EFFECTO *IN VITRO* DEL EXTRACTO DE *Clinopodium tomentosum* PARA EL CONTROL DE *Eotetranychus lewisi* y *Oligonychus coffeae* (ACARI: TETRANYCHIDAE)

REVISADO POR:



Firmado electrónicamente por:
**CARLOS LUIS
VASQUEZ
FREYTEZ**

.....
**Ing. Carlos Luis Vásquez, Ph D.
TUTOR**

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN:



Firmado electrónicamente por:
**MARCO OSWALDO
PEREZ SALINAS**

07 de octubre de 2020

Ing. Mg. Marco Pérez

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

07 de octubre de 2020

Ing. Mg. Jorge Dobronski

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN



Firmado electrónicamente por:
MICHEL LEIVA MORA

07 de octubre de 2020

**Dr. Michel Leiva
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN**

AUTORIA DE LA INVESTIGACIÓN

El suscrito, CRISTIAN JAVIER ORTÍZ ORTÍZ, portador de cédula de ciudadanía número: 1804478582, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: “**EFECTO *IN VITRO* DEL EXTRACTO DE *Clinopodium tomentosum* PARA EL CONTROL DE *Eotetranychus lewisi* y *Oligonychus coffeae* (ACARI: TETRANYCHIDAE)**” es original, auténtico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.



CRISTIAN JAVIER ORTÍZ ORTÍZ

DERECHO DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “**EFECTO *IN VITRO* DEL EXTRACTO DE *Clinopodium tomentosum* PARA EL CONTROL DE *Eotetranychus lewisi* y *Oligonychus coffeae* (ACARI: TETRANYCHIDAE)**” como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniero Agrónomo, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él.



CRISTIAN JAVIER ORTÍZ ORTÍZ

DEDICATORIA

Primero quiero agradecer a Dios por haberme dado la inteligencia, la fortaleza y el valor para poder cumplir este difícil objetivo que con el pasar de los días se puso más difícil, pero no imposible de lograr y que hoy con mucha emoción y nostalgia ha llegado a su fin.

A mi padre Javier Ortiz, mis hermanos Mauricio y Gabriel Ortiz y de manera muy especial a un angelito mi madre Ximena Ortiz que fueron los pilares fundamentales para llegar a donde estoy, ya que ellos cada día con palabras de aliento me motivaban a seguir en este largo, difícil pero hermoso camino, madre seque desde donde estas me cuidas y te sientes muy orgullosa de mi porque estoy cumpliendo lo que un día te prometí.

A mis amigos, compañeros, docentes y a esa personita especial en mi vida que gracias a sus bromas consejos regaños me levantaban el ánimo cuando sentía que el mundo se derrumbaba y que no podía seguir en la lucha.

A toda mi familia que de una u otra manera han sabido apoyarme, guiarme e incentivar me para llegar a ser un profesional lleno de éxito y humildad.

Asimismo, a todas esas personas que me enseñaron que soy capaz de levantarme, después de una caída mas no me permitieron ser parte de las derrotas.

AGRADECIMIENTO

A Dios por regalarme la vida y permitirme llegar a la parte final de este proceso difícil pero no imposible

A mis padres, mis hermanos que supieron confiar en mi porque sabían que un día lo lograría

A mis abuelitos, tíos, primos, amigos, mi novia que después de pasar el dolor más grande para un ser humano me apoyaron incondicionalmente, me incentivaron a seguir en la formación de mi vida profesional.

A la Universidad Técnica de Ambato en especial a la Facultad de Ciencias Agropecuarias que años atrás me abrió las puertas para llegar a ser uno más de los miles de profesionales que cada día ha entregado a la República del Ecuador.

A todos los docentes de manera especial a mi tutor Dr. PhD Carlos Vásquez que han sabido compartirnos todas sus enseñanzas y por la paciencia que día a día han mostrado para poder formarnos como unos colegas de alto nivel y que sin su apoyo no hubiese podido llegar al final de esta investigación.

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I	1
MARCO TEÓRCIO.....	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1. Antecedentes investigativos	2
1.2. Objetivos	5
Objetivo general.....	5
Objetivos específicos	5
1.3. Categorías fundamentales	6
1.3.1. Ácaros tetraníquidos como plagas agrícolas	6
1.3.2. <i>Clinopodium tomentosum</i>	7
1.3.3. Extractos vegetales como acaricidas	7
CAPÍTULO II.....	9
METODOLOGÍA	9
2.1. Ubicación	9
2.2. Factores en estudio:.....	9
2.2.1. Colecta y mantenimiento de los ácaros	9
2.2.2. Obtención de los extractos vegetales	10
2.2.3. Efecto de las diferentes dosis del extracto de hoja de <i>C. tomentosum</i> sobre la mortalidad y tasa de oviposición de hembras de <i>O. coffeae</i> y <i>E. lewisi</i>	12
2.3. Diseño experimental	13
CAPÍTULO III.....	14
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
3.1. Tasa de mortalidad de <i>Oligonychus coffeae</i> y <i>Eotetranychus lewisi</i> por la aplicación de extractos de <i>Clynopodium tomentosum</i>	14
3.2. Tasa de oviposición en hembras de <i>Oligonychus coffeae</i> y <i>Eotetranychus lewisi</i> por la aplicación de extractos de <i>Clynopodium tomentosum</i>	19
3.3. Longevidad de <i>Oligonychus coffeae</i> y <i>Eotetranychus lewisi</i> por la aplicación de extractos de <i>Clynopodium tomentosum</i>	22
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	25
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variación de la oviposición en hembras de <i>Oligonychus coffeae</i> y <i>Eotetranychus lewisi</i> sometidas a diferentes concentraciones del extracto etanólico de <i>Clynopodium tomentosum</i>	19
Tabla 2. Variación de la longevidad en hembras de <i>Oligonychus coffeae</i> y <i>Eotetranychus lewisi</i> sometidas a diferentes concentraciones del extracto etanólico de <i>Clynopodium tomentosum</i>	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proceso de preparación de arenas de cría (A-B), huevos y adultos de <i>E. lewisi</i> (C) y <i>O. coffeae</i> (D).....	10
Figura 2. Colecta de plantas de <i>Clinopodium tomentosum</i> en el Cerro Teligote, Pelileo	11
Figura 3. Proceso de obtención del extracto etanólico de <i>C. tomentosum</i>	12
Figura 4. Tasa de mortalidad de <i>Oligonychus coffeae</i> por efecto de la aplicación de diferentes dosis del extracto etanólico de <i>C. tomentosum</i>	15
Figura 5. Tasa de mortalidad de <i>Eotetranychus lewisi</i> por efecto de la aplicación de diferentes dosis del extracto etanólico de <i>C. tomentosum</i>	16
Figura 6. Curvas de regresión lineal ajustadas para mostrar la relación entre la concentración del extracto de <i>C. tomentosum</i> y la mortalidad total en <i>Oligonychus coffeae</i> (A) y <i>Eotetranychus lewisi</i> (B).....	17
Figura 7. Curvas de regresión lineal ajustadas para mostrar la relación entre la concentración del extracto de <i>C. tomentosum</i> y la tasa de oviposición en hembras de <i>Oligonychus coffeae</i> (A) y <i>Eotetranychus lewisi</i> (B).....	20
Figura 8. Curvas de regresión lineal ajustadas para mostrar la relación entre la concentración del extracto de <i>C. tomentosum</i> y la longevidad hembras en <i>Oligonychus coffeae</i> (A) y <i>Eotetranychus lewisi</i> (B).....	23

RESUMEN

La familia Tetranychidae incluye más de 1300 especies, dentro de las cuales más de 100 tienen importancia económica debido a las pérdidas económicas que ocasiona. *Oligonychus coffeae* y *Eotetranychus lewisi* fueron registrados en Ecuador recientemente asociados a plantas de importancia forestal y a diferentes cultivos agrícolas, respectivamente. Dada la importancia de las especies de Tetranychidae en el presente estudio se evaluó el efecto *in vitro* del extracto de *Clinopodium tomentosum* para el control de *Eotetranychus lewisi* y *Oligonychus coffeae* (Acari: Tetranychidae). El efecto de diferentes concentraciones (0, 1, 2, 4, 8 y 16%) del extracto etanólico de *C. tomentosum* sobre la mortalidad, tasa de oviposición y longevidad de las hembras de estas especies de ácaros fue evaluado usando la técnica de contacto residual en unidades de cría. Las evaluaciones sobre la mortalidad fueron hechas 24, 48 y 72 h después de la aplicación, mientras que la oviposición y longevidad fueron determinadas hasta la muerte por efecto subletal. Se observó incremento de la tasa de mortalidad en hembras de *O. coffeae* y *E. lewisi* a medida que aumentó la concentración de la concentración del extracto de *C. tomentosum*. En *O. coffeae*, la mayor mortalidad en fue alcanzada con las concentraciones de 8 y 16%, con las cuales se alcanzó el 50% de mortalidad, mientras que en *E. lewisi*, la tasa de mortalidad alcanzó 60%. Tanto en hembras de *O. coffeae* como de *E. lewisi* la tasa de oviposición fue disminuyendo a medida que aumentó la concentración del extracto, principalmente a partir de la concentración del 4%, la cual provocó disminución del 38,6 % con relación al tratamiento testigo, mientras que con las dosis de 8 y 16%, la oviposición se redujo hasta en 55,6 y 65,8%, respectivamente. Así mismo, se observó una relación negativa entre la longevidad y la dosis, es decir, a medida que aumentó la dosis del extracto, se mostró una disminución de la longevidad en ambas especies de ácaros, siendo más notoria con las dosis mayores (4-16%) para el caso de *O. coffeae*, mientras con *E. lewisi* la reducción se observó con concentraciones mayores al 2%. Con base en los resultados obtenidos, el uso del extracto etanólico de *C. tomentosum* podría ser incluidos en programas de manejo de poblaciones de *Oligonychus coffeae* y *Eotetranychus lewisi*.

Palabras clave: Tetraniquidos, manejo de plagas, extractos vegetales, sustentabilidad

ABSTRACT

The Tetranychidae family contains more than 1,300 species, including more than 100 economically important species due to the economic losses. *Oligonychus coffeae* and *Eotetranychus lewisi* were recently registered in Ecuador associated with forest species and different agricultural crops, respectively. Given the importance of the Tetranychidae species in the present study, the *in vitro* effect of the *Clinopodium tomentosum* extract was evaluated for the control of *Eotetranychus lewisi* and *Oligonychus coffeae* (Acari: Tetranychidae). The effect of different concentrations (0, 1, 2, 4, 8 and 16%) of the ethanolic extract of *C. tomentosum* on the mortality, oviposition rate and longevity of the females of these mite species was evaluated using the residual contact technique. in rearing units. Mortality evaluations were made 24, 48 and 72 h after application, while oviposition and longevity were determined until female death by sublethal effect. An increase in the mortality rate in females of *O. coffeae* and *E. lewisi* was observed as the concentration of the extract of *C. tomentosum* increased. In *O. coffeae*, the highest mortality in was reached with concentrations of 8 and 16%, with which 50% mortality was reached, while in *E. lewisi*, the mortality rate reached 60%. Both in *O. coffeae* and *E. lewisi* females, the oviposition rate decreased as the extract concentration increased, mainly from the 4% concentration, which caused a 38.6% decrease in relation to the treatment. control, while with the doses of 8 and 16%, oviposition was reduced by up to 55.6 and 65.8%, respectively. Likewise, a negative relationship between longevity and dose was observed, that is, as the dose of the extract increased, a decrease in longevity was shown in both species of mites, being more noticeable with higher doses (4- 16%) for the case of *O. coffeae*, while with *E. lewisi* the reduction was observed with concentrations greater than 2%. Based on the results obtained, the use of the ethanolic extract of *C. tomentosum* could be included in population management programs for *Oligonychus coffeae* and *Eotetranychus lewisi*.

Keywords: Tetranychids, pest management, plant extracts, sustainability

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRCIO

INTRODUCCIÓN

La familia Tetranychidae Donnadieu incluye más de 1250 especies conocidas comúnmente como ácaros araña (**Migeon y Dorkeld, 2019**) y muchas de las cuales son consideradas de importancia agrícola debido al daño ocasionado en diferentes cultivos (Fashing et al., 2016).

Dentro de Tetranychidae se incluyen 71 géneros de los cuales *Oligonychus* Berlese es considerado el más grande dado que contiene 207 especies con amplia distribución a nivel mundial, (**Khanjani et al., 2018**). En las regiones tropicales y subtropicales *Oligonychus coffeae* (Nietner) es considerada plaga severa en varios cultivos, incluyendo mango, te, café, algodón y puede alimentarse de más de 133 especies de plantas (**Jeppson et al. 1975; Gotoh y Nagata 2001; CABI, 2013**). El daño por la alimentación de *O. coffeae* es causado por larvas, ninfas y adultos, que se alimentan en la superficie adaxial de hojas maduras, las cuales se tornan marón rojizo (**Das 1959; Roy et al., 2014**). En plantas de té, el daño por *O. coffeae* se ha traducido en una reducción del rendimiento entre 6-20% en el noreste de India y de 0,6 al 5% en Sri Lanka (**Roy et al., 2014**).

Con relación al género *Eotetranychus* se han descrito unas 175 especies a nivel mundial, incluyendo *Eotetranychus lewisi* (McGregor). Esta es una especie polífaga, reportada en 71 especies de plantas hospederas (**Migeon y Dorkeld, 2019**). Esta especie ha sido reportada principalmente en la región neártica, donde se alimenta tanto de especies de plantas silvestres como cultivadas (Vacante, 2016), también ha sido registrada en el neotrópico, incluyendo Bolivia, Chile, Colombia, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Panamá, Perú (**Bolland et al., 1998; Migeon y Dorkeld, 2019**) y recientemente en la zona andina del Ecuador (**Vásquez et al. 2017**). *Eotetranychus lewisi* es plaga de importancia en poinsetias (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch), durazno (*Prunus persica* L.) (**Pérez-Santiago et al., 2007**), cítricos, fresas y frambuesas (**Howell y Daugovish, 2013**). En la mayoría de las plantas, *E. lewisi* se alimenta en la superficie abaxial de las hojas, cercano a las venas principales. En los cítricos, los ácaros se alimentan principalmente de la fruta causando

punteado de la corteza, las infestaciones pesadas producen plateado en los limones y plateado o rojizo en las naranjas, mientras que poinsetias las hojas ligeramente infestadas muestran punteaduras blancas y en papaya, causa clorosis y distorsión de las hojas jóvenes, parecidas a las causadas por enfermedades virales (EPPO, 2006).

Dada la importancia de estas especies plaga, la implementación de las tácticas de control implica el uso de acaricidas como la principal estrategia de manejo de las poblaciones de *O. coffeae*, destacando una serie de productos químicos pertenecientes a diferentes grupos químicos tales como Hexythiazox, Fenazaquin, Spiromesifen, Fenpyroximate, Propargite, Fenpropathrin, Chlorfenapyr y Abamectina (Mamun et al., 2016). Sin embargo, aparte de los químicos sintéticos, los productos de origen botánicos están siendo incluidos dentro de los programas de manejo integrado de plagas debido a que son ambientalmente seguros, menos peligrosos, económicos y fácilmente disponibles (Kachhawa y Kumawat, 2018). Recientemente, los extractos de clerodendrum, lectina de ajo, y dos especies de Meliaceae (*Melia azadirach* y *Azadirachta indica*) han mostrado ser eficientes para el control de ácaros tetraníquidos (Meliaceae) (Roobakkumar et al., 2010; Roy et al., 2008; Roy et al., 2011). Con relación a *E. lewisi* no existe información disponible sobre estrategias de control químico y/o uso de pesticidas botánicos. En tal sentido, dada la importancia de ambas especies de Tetraníquidos, en el presente estudio se pretende evaluar el efecto de *Clinopodium tomentosum* para el control de *O. coffeae* y *E. lewisi* en condiciones *in vitro* de manera de ofrecer alternativas sustentables a los agricultores de la zona.

1.1. Antecedentes investigativos

Hasta la fecha no existen estudios que evalúen el potencial del uso de los extractos de *Clinopodium tomentosum* para el control de ácaros, sin embargo, existe un número restringido sobre otro tipo de plagas.

En ese sentido, Urquizo (2017) evaluó el efecto del aceite esencial de shanshi (*Coriaria thymifolia*) [Coriariaceae], sinvergüenza (*Euphorbia helioscopia*) [Euphorbiaceae] y tiglán (*Clinopodium tomentosum*) [Lamiaceae] para el control del gusano blanco de la papa (*Pemnomotrypes vorax* Hustache) observando que los mejores resultados fueron observados a las 24 horas con el tiglán a dosis al 2% donde se obtuvo

hasta un 100% de mortalidad, mientras las concentraciones menores (0,5 y 1%) provocaron mortalidad total después de las 48 horas.

Varios estudios sobre otras especies de *Clinopodium* han mostrado su efecto tóxico sobre hongos, bacterias e insectos.

Debbabi et al. (2020) evaluaron la toxicidad y la repelencia de los aceites esenciales de *Clinopodium nepeta nepeta* y *Clinopodium nepeta glandulosum* contra dos especies de coleoptera, *Tribolium confusum* y *Sitophilus zeamais*, las cuales son plaga en productos almacenados. Los aceites esenciales de ambas subespecies mostraron tener altos niveles de repelencia contra ambas especies de insectos (> 80%, después de 2 h) y además mostró ser altamente tóxico contra *S. zeamais* alcanzando una mortalidad del 97,5% al 100% después de 24 h de exposición.

Rojas-Olivos et al. (2018) estudiaron el efecto de diferentes concentraciones (50, 100, 200, 400 y 800 mg/L) del aceite esencial de *Clinopodium macrostemum* sobre el crecimiento y desarrollo de larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus*. El aceite esencial inhibió el crecimiento y desarrollo de las larvas de mosquito en un 32% (índice de crecimiento relativo = 0,68) cuando se aplicó a una concentración de 50 mg/L y hasta un 47% (índice de crecimiento relativo = 0,53) a una concentración de 800 mg/L, demostrando el efecto larvicida del aceite esencial de *C. macrostemum* sobre *C. quinquefasciatus*, que se puede atribuir a los compuestos oxigenados obtenidos por el método de extracción.

Šučur et al. (2017) demostraron que los extractos acuosos de algunas especies de Lamiaceae con altos contenidos de ácido cafeico muestran efecto tóxico contra la mosca blanca bajo condiciones de cultivos protegidos. Así, al evaluar el extracto acuoso de *Clinopodium menthifolium* para el control de *Trialeurodes vaporariorum* observaron una baja tasa de mortalidad a las 24 y 48 h después de la aplicación, pero esta alcanzó el 50% después de 96 h de exposición.

Li et al. (2015) evaluaron el efecto del aceite esencial destilado en agua de las partes aéreas de *Clinopodium chinense* (Lamiaceae) colectados durante la etapa de floración contra una plaga de granos almacenados [*Liposcelis bostrychophila* Badonnel (Psocoptera: Liposcelididae)]. Estos autores demostraron que el aceite esencial mostró

alta capacidad fumigante contra *L. bostrychophila* con un valor de concentración letal al 50% (CL₅₀) de 423,39 µg/L, mientras que los constituyentes aislados, acetato de bornilo y piperitona, tuvieron valores de CL₅₀ de 351,69 y 311,12 µg/L contra esta plaga, respectivamente. Este aceite también mostró toxicidad por contacto contra *L. bostrychophila* con un valor de LC₅₀ de 215,25 µg/cm², mientras que el acetato de bornilo, el cariofileno y la piperitona mostraron toxicidad aguda con valores de LC₅₀ de 321,42; 275,00 y 139,74 µg/cm², respectivamente, indicando que el aceite esencial y sus constituyentes aislados tienen alta capacidad insecticida para el control de insectos en granos almacenados.

Adicionalmente a su acción como insecticida, en Ecuador se evaluó el potencial bactericida del aceite esencial de hojas y flores de *Clinopodium nubigenum* (Kunth.) Kuntze (Lamiaceae) recolectado en la provincia de Pichincha-Ecuador y se determinó que *C. nubigenum* mostró tener potencial medicinal contra *Staphylococcus aureus* (2,5% v/v), *Streptococcus pyogenes* (0,6% v/v), *Streptococcus pneumoniae* (0,6% v/v) y *Streptococcus mutans* (0,6% v/v), lo que sugirió que esta pudiera ser usado como una alternativa natural en la lucha contra las bacterias que generan resistencia a otros antibióticos (Noriega et al., 2018).

1.2. Objetivos

Objetivo general

Evaluar el efecto *in vitro* del extracto de *Clinopodium tomentosum* para el control de *Eotetranychus lewisi* y *Oligonychus coffeae* (Acari: Tetranychidae)

Objetivos específicos

- Determinar la tasa de mortalidad de *Eotetranychus lewisi* y *Oligonychus coffeae* por la aplicación de diferentes dosis del extracto etanólico de *C. tomentosum*.
- Calcular la tasa de oviposición en hembras de *Eotetranychus lewisi* y *Oligonychus coffeae* por la aplicación de diferentes dosis del extracto etanólico de *C. tomentosum*.
- Determinar la longevidad en hembras de *Eotetranychus lewisi* y *Oligonychus coffeae* por la aplicación de diferentes dosis del extracto etanólico de *C. tomentosum*.

1.3. Categorías fundamentales

1.3.1. Ácaros tetraníquidos como plagas agrícolas

Los ácaros tetraníquidos, también conocidos como arañitas, arañuelas, arañas rojas, pertenecen a la familia Tetranychidae, en la cual se incluyen más de 1300 especies de fitófagos que varían entre 200 y 900 μm y que pueden constituirse en plagas agrícolas, de hecho, más de 100 especies son consideradas plagas (**Migeon et al., 2011**).

Oligonychus coffeae Nietner (Acari: Tetranychidae), es una plaga importante del té (*Camellia sinensis*) en la mayoría de los países productores de té, pero también ha sido señalada como plaga en más de 133 cultivos en regiones tropicales y subtropicales, incluyendo *Cinnamomum camphora* (alcanfor), *Citrus* spp. (cítricos), *Coffea arabica* (café), *Elaeis guineensis* (palma africana), *Gossypium* sp. (algodón), *Mangifera indica* (mango), *Manihot esculenta* (yuca) y *Vitis vinifera* (uva), entre otros (**Roy et al. 2014**). Esta especie de ácaro puede alimentarse en plantas de importancia forestal tales como especies del género *Alnus* (Betulaceae), incluyendo *Alnus acuminata* Kunth (aliso), la cual se encuentra distribuida en la región andina en América del Sur (**Sati et al., 2011**).

Oligonychus coffeae es considerado una plaga económica en té debido a que puede provocar la reducción del contenido de clorofila entre un 47 y 61% y consecuentemente es responsable de las pérdidas que se ubican entre 6 y 20% (**Jayakrishnan y Ramani, 2015; Rahman et al., 2013**).

Por otra parte, *Eotetranychus lewisi* es un ácaro polífago que ha sido reportado alimentándose sobre las hojas de 75 especies de plantas y está ampliamente distribuido en diferentes zonas, incluyendo la región Neotropical donde es encontrado en Bolivia, Chile, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Guadalupe, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Panamá y Perú (**Migeon et al., 2011; Bolland et al., 1998**). En los cítricos, se considera de menor importancia, pero presenta un riesgo para las flores de pascua de invernadero y otras plantas ornamentales de invernadero, además también es plaga importante en plantas de durazno (**Pérez-Santiago et al., 2007; EPPO, 2006**).

1.3.2. *Clinopodium tomentosum*

El género *Clinopodium* (Lamiaceae) contiene especies de plantas con flores, que ocurren de manera natural en el sur y sureste de Europa, América del Norte y en América Latina se encuentra distribuida entre 3000 y 4000 m sobre el nivel del mar. *Clinopodium tomentosum* (Kunth) Govaerts posee pequeñas flores de color amarillo, que alcanzan una altura de 30-80 cm, y en Ecuador se la conoce comúnmente como 'Santa María', "Tiglán" donde la población local utiliza las partes aéreas de la planta para preparar infusiones por su efecto relajante y como agente antiinflamatorio (Saltos et al., 2014).

Algunas especies de *Clinopodium* han sido usados como cataplasma para aliviar los dolores de la ciática, otros adjudican efectos psíquicos, usándose para tratar la histeria, melancolía y llevar alegría al corazón, también se usa para fortalecer el estómago y ayudar con los gases y los cólicos, en la ictericia, ya que es un limpiador del hígado y el bazo (Castilho et al., 2007).

Sus potencialidades como insecticida están siendo recientemente reconocidos tal como lo evidencian las investigaciones para el control de *Tribolium confusum* y *Sitophilus zeamais* con aceites esenciales de *Clinopodium nepeta nepeta* y *Clinopodium nepeta glandulosum* Debbabi et al. (2020), larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus* con *Clinopodium macrostemum* Rojas-Olivos et al. (2018), la mosca blanca, *Trialeurodes vaporariorum* con *Clinopodium menthifolium* Šučur et al. (2017), entre otros estudios.

1.3.3. Extractos vegetales como acaricidas

Aparte del uso como alternativas medicinales, muchas plantas han demostrado tener un potencial de uso en el manejo sustentable de poblaciones de insectos y ácaros debido a que estas producen metabolitos secundarios como respuesta frente a condiciones de estrés biótico y abiótico (Arceo-Medina et al., 2016).

Así un amplio número de investigaciones han sido conducidos para demostrar el efecto de estos metabolitos secundarios de diferentes especies de plantas sobre varias especies de artrópodos. Estos compuestos químicos pueden actuar de diferentes maneras sobre los insectos y ácaros plaga, incluyendo la inhibición de la alimentación

o la síntesis de quitina, disminución del crecimiento, desarrollo y la reproducción, o pueden afectar el comportamiento (**Rosado-Aguilar et al., 2017**).

Dado que el ácaro de dos manchas, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) es una de las principales plaga de importancia a nivel mundial, la mayoría de los estudios han sido dirigido a esta especie, dejando otras especies que también pueden causar un impacto económico en diferentes cultivos.

Así, especies de diferentes familias botánicas han sido evaluadas en la eficacia de los extractos contra ácaros. *Andrographis paniculata* (Acanthaceae), *Achyranthes aspera* (Amaranthaceae), *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae), *Annona squamosa* (Annonaceae) *Centella asiatica* (Apiaceae), *Allamanda cathartica* y *Catharanthus roseus* (Apocynaceae), *Artemisia pallens*, *Tagetes tenuifolia* y *Tridax procumbens* (Asteraceae), *Jatropha curcas* y *Ricinus communis* (Euphorbiaceae), *Cassia alata*, *C. fistula*, *Delonix regia*, *Gliricidia sepium*, *Leucaena leucocephala*, *Senna auriculata*, *Sesbania grandiflora* y *Tephrosia purpurea* (Fabaceae) (**Premalatha et al., 2018**).

Los extractos de *Allium sativum* L. (Amaryllidaceae), *Rhododendron luteum* S. (Ericaceae), *Helichrysum arenarium* L. (Asteraceae), *Veratrum album* L. (Liliaceae) y *Tanacetum parthenium* L. (Asteraceae)] demostraron causar altas tasas de mortalidad, además de tener un efecto sobre la fecundidad incluso con bajas concentraciones (**Erdogan et al., 2012**).

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Ubicación

El estudio fue conducido en laboratorio de Entomología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Campus Querochaca de la Universidad Técnica de Ambato ubicada en el cantón Cevallos de la provincia de Tungurahua.

2.2. Factores en estudio:

Se evaluó el efecto de diferentes dosis del extracto etanólico de *C. tomentosum* sobre la tasa de mortalidad, tasa de oviposición y longevidad de las hembras de *O. coffeae* y *E. lewisi* bajo condiciones in vitro.

2.2.1. Colecta y mantenimiento de los ácaros

Los ensayos fueron iniciados con poblaciones de *O. coffeae* colectados sobre plantas de *Alnus acuminata* y *E. lewisi* de plantas de *Euphorbia pulcherrima* que crecen de manera natural en la Estación Experimental de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (FCAGP-UTA), Cantón Cevallos. Las muestras de hoja con síntomas de ataques por tetraníquidos fueron colocadas en bolsas plásticas de cierre hermético, internamente recubiertas con papel absorbente y llevadas al laboratorio de Entomología.

Una vez confirmada la especie, fue obtenida una cohorte de edad homogénea, para lo cual los ácaros traídos de campo fueron transferidos a unidades de cría, que consistieron en una placa Petri conteniendo una almohadilla circular de poliuretano de 1 cm de espesor (Helle y Overmeer, 1985). En cada unidad de cría fueron colocados discos de hoja rodeados con una banda de algodón humedecida (0,5 cm de ancho) para evitar el escape de los ácaros y mantener la turgencia de la hoja. Sobre cada unidad de cría fueron transferidas hembras y machos de *O. coffeae* y *E. lewisi* provenientes del campo para promover la oviposición (Fig. 1). Una vez obtenidos un numero de huevos adecuado, tanto las hembras como machos fueron descartados. Diariamente, las unidades de cría fueron observadas hasta la obtención del estado adulto de edad

conocida, con los cuales se iniciaron los ensayos de efectividad de los extractos etanólicos.

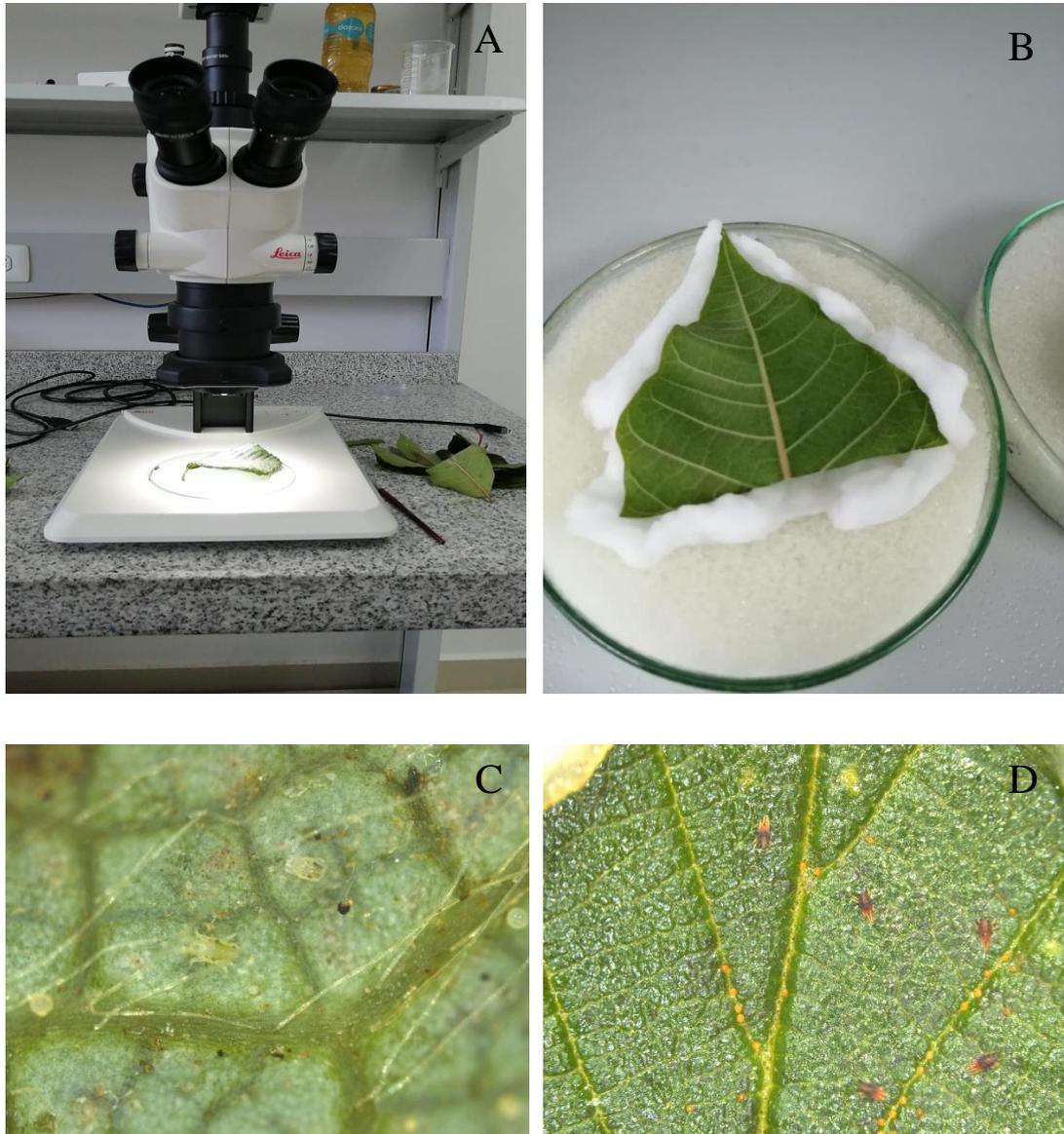


Figura 1. Proceso de preparación de arenas de cría (A-B), huevos y adultos de *E. lewisi* (C) y *O. coffeae* (D)

2.2.2. Obtención de los extractos vegetales

Las hojas de *C. tomentosum* fueron colectadas en el Cerro Teligote, del cantón Pelileo (Fig. 2) y llevadas al laboratorio de la Facultad de Ciencias y Tecnologías de Alimentos y Bioquímica. Una vez en el laboratorio las muestras vegetales fueron

secadas a estufa (40 °C durante 24 h), molidas en un molino eléctrico de cuchillas y mezclados con etanol 96% (en proporción 1:5 p/v). Ambas mezclas fueron mantenidas en maceración y filtradas. El disolvente remanente de la solución filtrada fue eliminado en un roto evaporador a 70°C. A partir de los extractos etanólicos crudos obtenidos fueron preparadas diluciones a concentraciones de 1, 2, 4, 8 y 16% (Fig. 3).



Figura 2. Colecta de plantas de *Clinopodium tomentosum* en el Cerro Teligote, Pelileo



Figura 3. Proceso de obtención del extracto etanólico de *C. tomentosum*

2.2.3. Efecto de las diferentes dosis del extracto de hoja de *C. tomentosum* sobre la mortalidad y tasa de oviposición de hembras de *O. coffeae* y *E. lewisi*

La actividad acaricida del extracto de hoja de *C. tomentosum* fue evaluada mediante la técnica de contacto residual usando hembras de *O. coffeae* y *E. lewisi* de 48 h de edad provenientes de la cría general (Ribeiro et al., 2014). Los discos de hoja fueron sumergidos durante 20 s en cada una de las concentraciones del extracto y

posteriormente colocados en papel toalla. Después los discos de hoja fueron colocados sobre unidades de cría. Sobre cada arena fueron colocadas 10 hembras de la cría general. Los tratamientos fueron repetidos 5 veces y el bioensayo repetido 3 veces para convalidar los datos. Se usó agua como tratamiento testigo.

La mortalidad de las hembras expuestas a los residuos de los extractos fue evaluada cada 24 horas durante 3 días consecutivos. Las hembras fueron consideradas muertas cuando no mostraron ninguna reacción al toque con un pincel superfino (000).

Con relación al efecto de las dosis de los extractos sobre la oviposición y fecundidad fue evaluado siguiendo la misma metodología del ensayo de toxicidad aguda. Se contabilizó el número de huevos colocados sobre los discos de hoja tratados con las diferentes concentraciones de los extractos cada 24 horas durante 3 días. La fecundidad fue determinada como la suma del número de huevos puestos por una hembra durante el período de evaluación. Cada tratamiento fue replicado 5 veces.

2.3. Diseño experimental

El ensayo fue conducido en un diseño completamente al azar. Las variables mortalidad (efecto tóxico), oviposición y fecundidad (efecto sub-letal) fueron sometidas a análisis de varianza (ANOVA) y aquellas variables que mostraron diferencias significativas fueron sometidas a prueba de medias según Tukey usando el programa estadístico Statistix versión 10.

Para el cumplimiento de los supuestos de normalidad, homocedasticidad y aditividad, los datos de mortalidad a las 24, 48 y 72 horas después de la aplicación fueron transformados por $y = \sqrt{(x + 0,5)}$.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Tasa de mortalidad de *Oligonychus coffeae* y *Eotetranychus lewisi* por la aplicación de extractos de *Clynopodium tomentosum*

Se detectó efecto de la concentración del extracto etanólico de *C. tomentosum* sobre la tasa de mortalidad en hembras de *O. coffeae* y *E. lewisi* (Figs. 4 y 5). Con relación a la mortalidad en hembras de *O. coffeae* se observó un incremento de la tasa de mortalidad a medida que aumentó la concentración aplicada del extracto desde las 24 h después de hecha la aplicación. La mayor mortalidad fue alcanzada con las mayores concentraciones del extracto (8 y 16%), con las cuales se alcanzó el 50% de mortalidad, seguida de la concentración de 4% que produjo 30% de mortalidad. Las concentraciones menores (1 y 2%) no mostraron diferencias con relación al tratamiento control (Fig. 4a). A las 48 h después de la aplicación, solo el tratamiento donde se aplicó extracto al 16% resultó ser significativamente superior y a las 72 no se evidenció diferencias entre los tratamientos (Fig. 4b-c). Estos resultados sugieren que el la mayor actividad del extracto es evidenciada durante las primeras horas de aplicación, la cual se va perdiendo después de las 48 h.

Cuando se analiza la mortalidad total causada después de finalizado el ensayo, se verifica que los mejores tratamientos estuvieron representados por las concentraciones 8 y 16%, puesto que provocaron 97,5 y 100% de mortalidad, sin embargo, con las concentraciones más bajas se verificaron tasas de mortalidad por encima del 50%.

Un comportamiento similar fue observado con relación a las hembras de *E. lewisi*, puesto que a las 24 h la tasa de mortalidad alcanzó 60% con las concentraciones de 8 y 16%, mientras que las dosis bajas (1 y 2%) solo provocaron un 30% de mortalidad (Fig. 5a). A las 48 h, con las concentraciones de 4, 8 y 16% se obtuvieron entre 27 y 35% de mortalidad, lo cual contabilizó entre 97,5 y 100% al final del ensayo, mientras que la concentración del 1% mostró un resultado similar al tratamiento testigo (Fig. 5b).

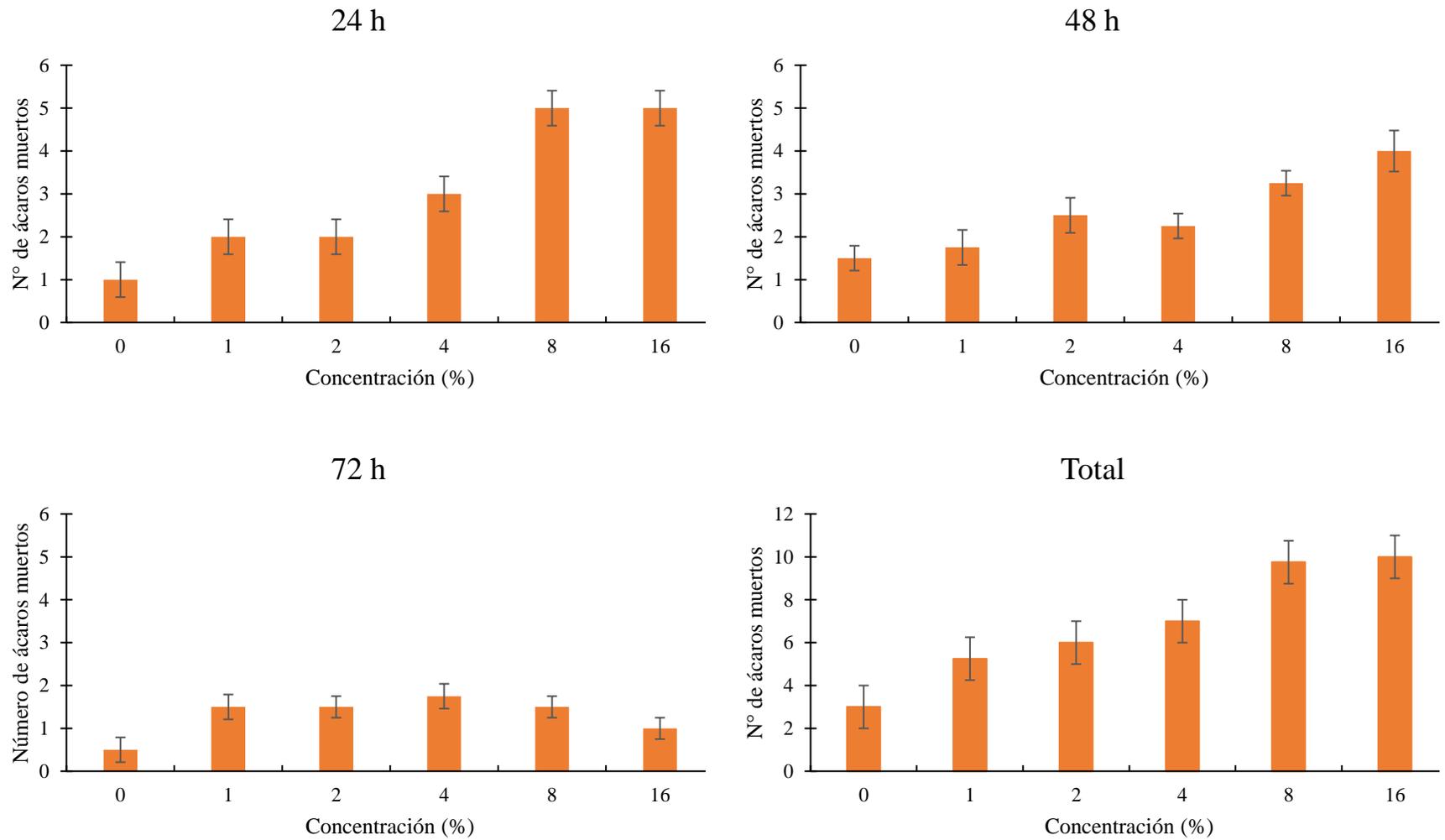


Figura 4. Tasa de mortalidad de *Oligonychus coffeae* por efecto de la aplicación de diferentes dosis del extracto etanólico de *C. tomentosum*

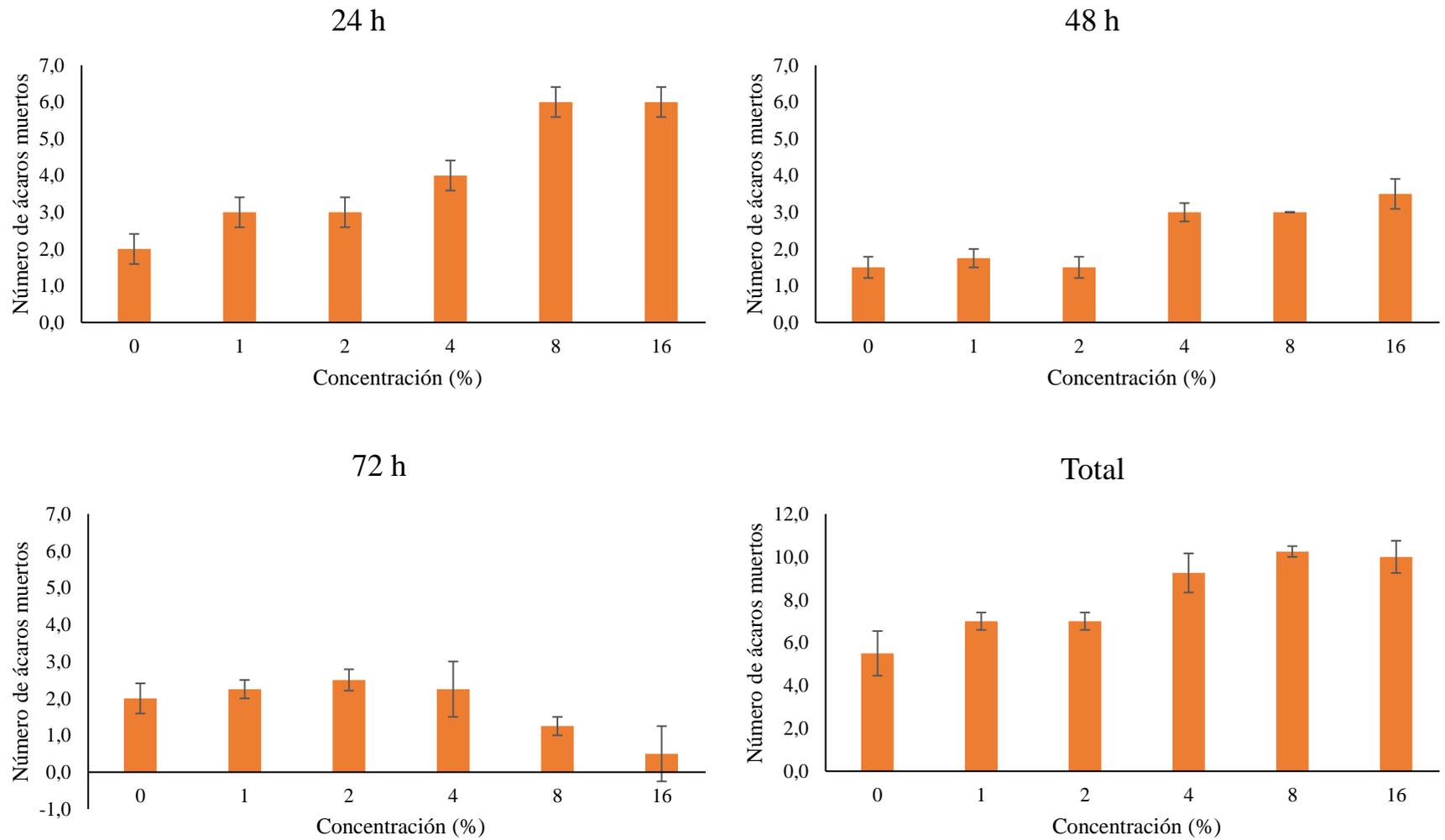


Figura 5. Tasa de mortalidad de *Eotetranychus lewisi* por efecto de la aplicación de diferentes dosis del extracto etanólico de *C. tomentosum*

Tanto la mortalidad en *O. coffeae* como en *E. lewisi* mostró una relación significativa positiva con la concentración del extracto de *C. tomentosum* (Fig. 6), lo cual permitió obtener los modelos predictivos que resultaron ser $y = 4,9457 + 0,381x$ para el caso de la mortalidad esperada en *O. coffeae* y $y = 3,25 + 1,2857x$ para el caso de *E. lewisi*.

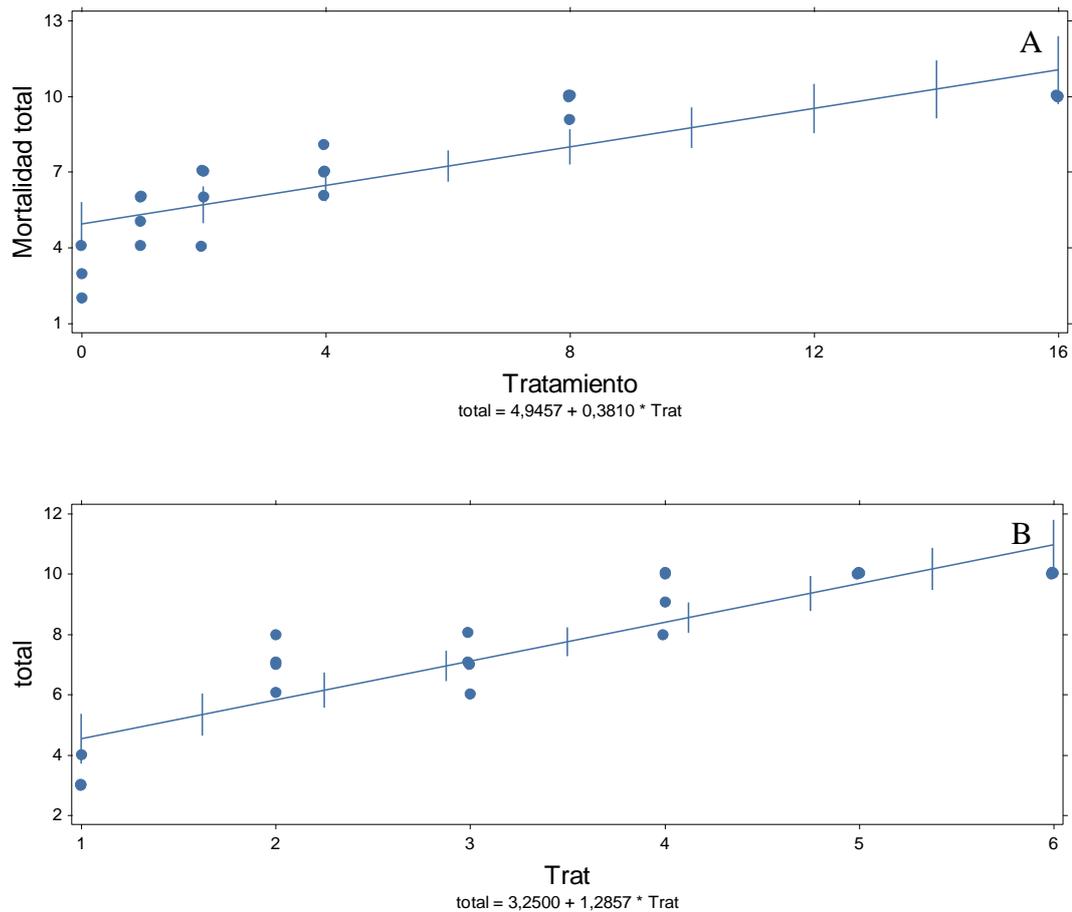


Figura 6. Curvas de regresión lineal ajustadas para mostrar la relación entre la concentración del extracto de *C. tomentosum* y la mortalidad total en *Oligonychus coffeae* (A) y *Eotetranychus lewisi* (B)

Pocos estudios han sido realizados para probar el efecto insecticida de los extractos de esta especie de planta. En tal sentido, **Urquiza (2017)** obtuvo resultados similares al observar hasta un 100% de mortalidad con las aplicaciones tópicas de extractos de *C. tomentosum* al 2% sobre el gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*) 24 horas después de hecha la aplicación, mientras que las dosis menores mostraron su efecto a las 48 h.

La investigación fitoquímica de extractos de hojas de *Clinopodium tomentosum* demostraron la presencia de un compuesto fenólico nuevo denominado ácido 2-O-benzoil-3-O-cinnamoil tartárico, junto con once compuestos conocidos (Saltos et al., 2014). Aunque no existe información disponible sobre *C. tomentosum*, algunas investigaciones han sido realizadas sobre especies del género *Clinopodium*, las cuales pueden servir como referencias. Así, **Morocho et al. (2018)** realizaron la caracterización fitoquímica mediante cromatografía de gases acoplada a espectroscopia de masas (GC-MS) de los metabolitos fijos y volátiles de *Clinopodium taxifolium* (Kunth) Govaerts (Lamiaceae) encontrando que sus aceites esenciales presentan seis compuestos conocidos: carvacrol, escualano, uvaol, eritrodiol, ácido ursólico y salvigenina.

Posiblemente esta constitución química en plantas de *Clinopodium* pudieran explicar el efecto acaricida observado en esta investigación, sin embargo, esto requiere ser verificado en estudios futuros.

3.2. Tasa de oviposición en hembras de *Oligonychus coffeae* y *Eotetranychus lewisi* por la aplicación de extractos de *Clynopodium tomentosum*

La tasa de oviposición de las hembras también mostró diferencias por la aplicación de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *C. tomentosum* (Tabla 1). Tanto en hembras de *O. coffeae* como de *E. lewisi* la tasa de oviposición fue disminuyendo a medida que aumentó la concentración del extracto, principalmente a partir de la concentración del 4%, la cual provocó disminución del 38,6 % con relación al tratamiento testigo, mientras que con las dosis de 8 y 16%, la oviposición se redujo hasta en 55,6 y 65,8%, respectivamente.

Cuando se analizó el efecto sobre las hembras de *E. lewisi*, una reducción significativa de la oviposición fue observada cuando las hembras fueron tratadas con extracto al 4, 8 y 16% alcanzando valores de 67,0; 73,9 y 72,2%, respectivamente. Con las dosis de 1 y 2%, la reducción alcanzó niveles de 30% (Tabla 1).

Tabla 1. Variación de la oviposición en hembras de *Oligonychus coffeae* y *Eotetranychus lewisi* sometidas a diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Clynopodium tomentosum*

	<i>Oligonychus coffeae</i>	<i>Eotetranychus lewisi</i>
Testigo	28,50 ± 2,646 a (25,0 – 31,0)	22,0 ± 2,160 a (18,0 – 25,0)
1 %	29,50 ± 3,416 a (25,0 – 31,0)	16,0 ± 0,817 a (17,0 – 22,0)
2 %	27,5 ± 2,082 a (35,0 – 30,0)	15,0 ± 2,160 a (15,0 – 21,0)
4 %	17,50 ± 2,082 b (15,0 – 20,0)	7,25 ± 0,957 b (8,0 – 12,0)
8 %	12,75 ± 2,217 bc (10,0 – 15,0)	5,75 ± 0,957 b (5,0 – 8,0)
16 %	9,75 ± 1,708 c (8,0 – 12,)	6,00 ± 1,142 b (3,0 – 8,0)

Valores en una columna seguidos de letras diferentes mostraron diferencias significativas según Tukey (p< 0,01).

Tanto la tasa de oviposición de *O. coffeae* como de *E. lewisi* mostró una relación negativa significativa con la concentración del extracto de *C. tomentosum* (Fig. 7), lo cual permitió obtener los modelos predictivos que resultaron ser $y = 27,657 + 1,3046x$ para el caso de la mortalidad esperada en *O. coffeae* y $y = 18,914 + 1,0076x$ para el caso de *E. lewisi*.

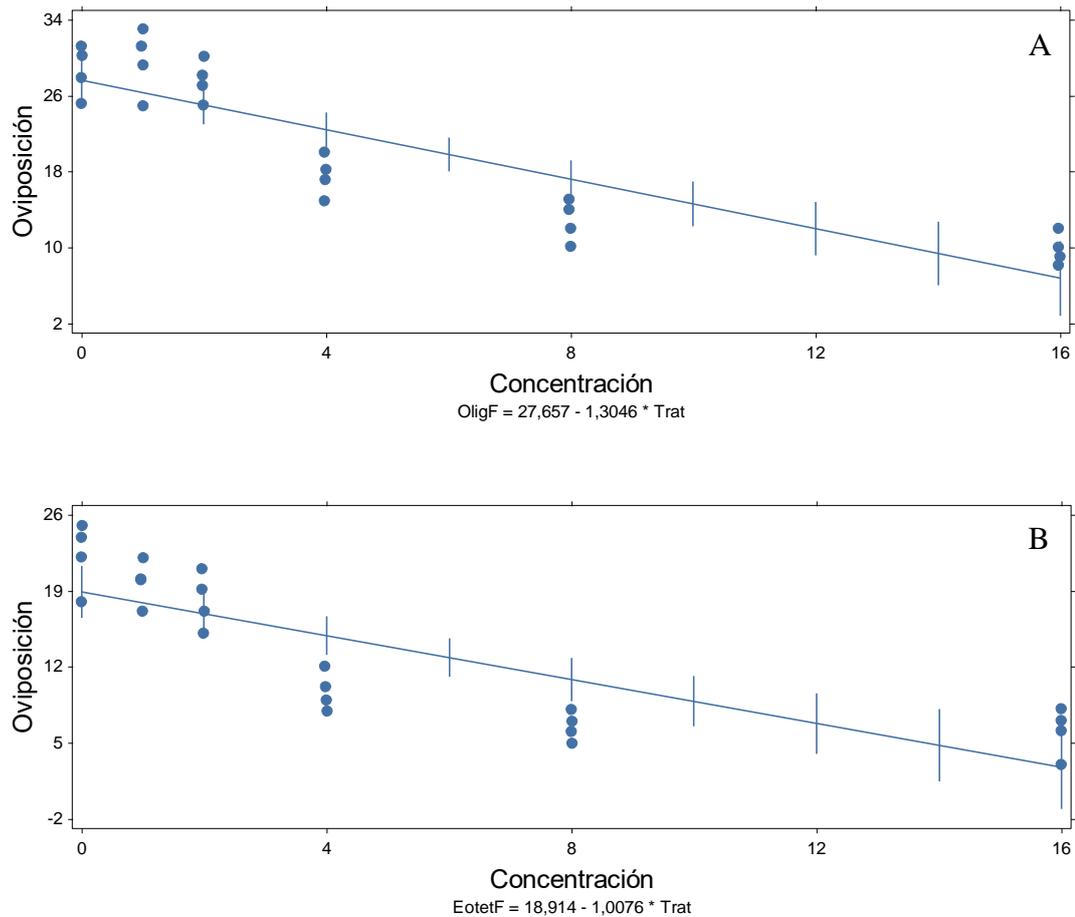


Figura 7. Curvas de regresión lineal ajustadas para mostrar la relación entre la concentración del extracto de *C. tomentosum* y la tasa de oviposición en hembras de *Oligonychus coffeae* (A) y *Eotetranychus lewisi* (B)

La fecundidad observada en hembras de *O. coffeae* cuando es criada a 20 °C bajo condiciones normales sobre hojas de té es alta, variando desde 95,3 hasta 105,2 huevos durante su tiempo de vida. En este estudio se encontró que cuando es criado sin ningún tipo de aplicación su fecundidad máxima es de 28,5 huevos, la cual fue drásticamente disminuida en hembras sometidas a las mayores concentraciones del extracto etanólico de *C. tomentosum*.

De manera similar, la fecundidad de *E. lewisi* criadas en hojas de poinsetia varía de 21 a 52 huevos, dependiendo de las condiciones ambientales (EFSA, 2014). En nuestro estudio, el máximo número de huevos observado fue de 22 huevos en promedio, lo cual fue también afectado por el uso del extracto.

3.3. Longevidad de *Oligonychus coffeae* y *Eotetranychus lewisi* por la aplicación de extractos de *Clynopodium tomentosum*

De manera similar, la longevidad de las hembras de *Oligonychus coffeae* y *Eotetranychus lewisi* fue afectada por la aplicación de las diferentes dosis del extracto de *C. tomentosum* (Tabla 2). En general se observó una relación negativa entre la longevidad y la dosis, es decir, a medida que aumentó la dosis del extracto, se mostró una disminución de la longevidad en ambas especies de ácaros, siendo más notoria con las dosis mayores (4-16%) para el caso de *O. coffeae*, mientras con *E. lewisi* la reducción se observó a partir del uso de concentraciones mayores al 2%.

Tanto la tasa de oviposición de *O. coffeae* como de *E. lewisi* mostró una relación negativa significativa con la concentración del extracto de *C. tomentosum* (Fig. 7), lo cual permitió obtener los modelos predictivos que resultaron ser $y = 16,429 + 0,8571x$ para el caso de la mortalidad esperada en *O. coffeae* y $y = 24,6 + 0,88903x$ para el caso de *E. lewisi* (Fig. 8).

Tabla 2. Variación de la longevidad en hembras de *Oligonychus coffeae* y *Eotetranychus lewisi* sometidas a diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Clynopodium tomentosum*

	<i>Oligonychus coffeae</i>	<i>Eotetranychus lewisi</i>
Testigo	22,0 ± 2,160 a (20,0 – 25,0)	32,3 ± 2,217 a (30,0 – 35,0)
1 %	16,0 ± 0,817 b (15,0 – 17,0)	27,0 ± 1,826 a (25,0 – 29,0)
2 %	15,0 ± 2,160 b (12,0 – 17,0)	17,5 ± 2,082 b (15,0 – 20,0)
4 %	7,3 ± 0,957 c (6,0 – 8,0)	14,3 ± 1,708 b (12,0 – 16,0)
8 %	5,8 ± 0,957 c (5,0 – 7,0) c	15,5 ± 2,082 b (13,0 – 18,0)
16 %	6,0 ± 1,414 (4,0 – 7,0)	13,5 ± 1,291 b (12,0 – 15,0)

Valores en una columna seguidos de letras diferentes mostraron diferencias significativas según Tukey (p< 0,01)

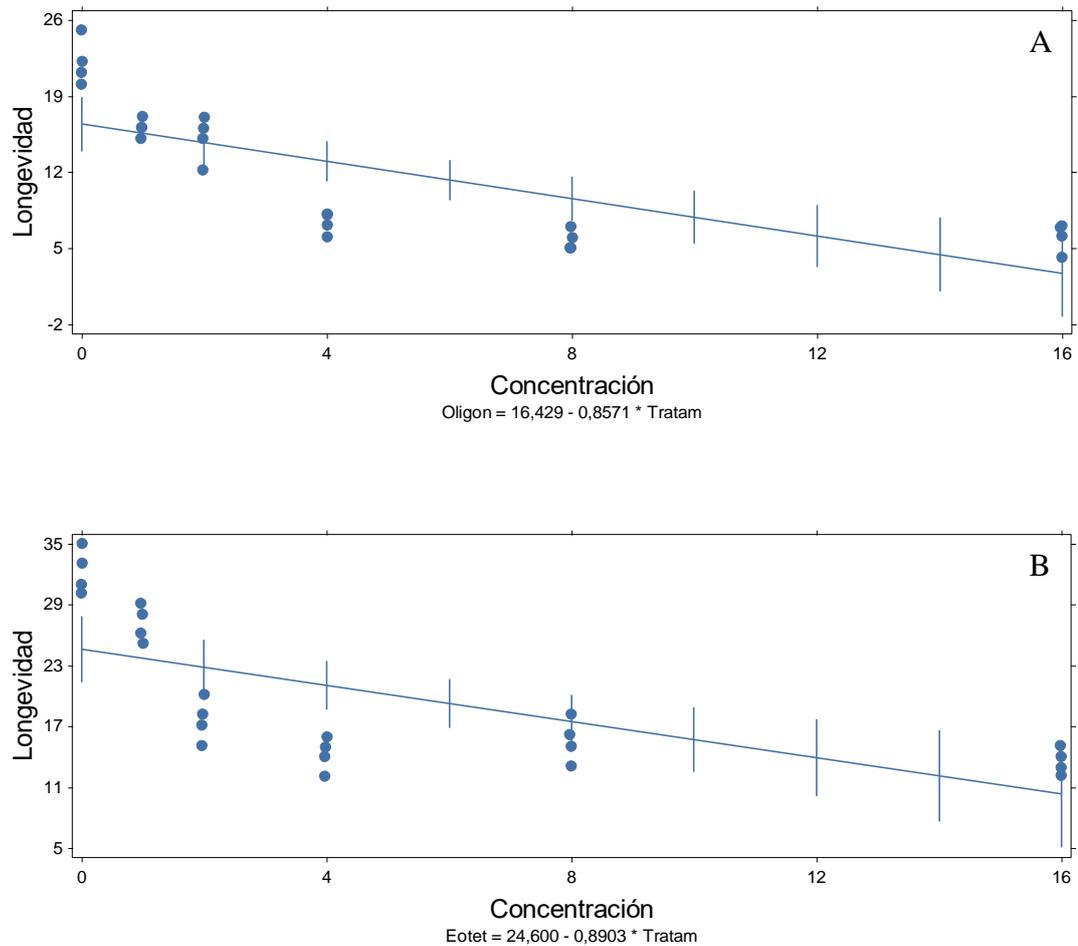


Figura 8. Curvas de regresión lineal ajustadas para mostrar la relación entre la concentración del extracto de *C. tomentosum* y la longevidad hembras en *Oligonychus coffeae* (A) y *Eotetranychus lewisi* (B)

En general, bajo condiciones normales la longevidad de *O. coffeae* ha sido reportada entre 24,7 y 28,3 días (Das et al., 2012) y 28,7 días (Podder et al., 2014) cuando es criado en hojas de diferentes clones de té (*Camellia sinensis*) a 20 °C.

Con relación a los parámetros biológicos de *E. lewisi* existen pocos estudios. Kaur y Zalom (2017) reportaron que esta especie vivía en promedio 14,1 días cuando fue criado en hojas de fresa a 20 °C, sin embargo, se presume que su tiempo de vida sea mayor en hojas de ponsettia (*Euphorbia pulcherrima*) puesto que este es su hospedero natural.

Tomando en cuenta estos valores referenciales, es posible deducir que la aplicación del extracto de *C. tomentosum* provocó una reducción significativa de este parámetro en ambas especies de ácaro.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La tasa de mortalidad en hembras de *Oligonychus coffeae* y *Eotetranychus lewisi* fue significativamente afectada por la aplicación del extracto de *Clinopodium tomentosum* y esta respuesta fue más evidente a medida que se incrementó la concentración del extracto.

La tasa de oviposición de las hembras de *Oligonychus coffeae* y *Eotetranychus lewisi* mostró variaciones significativas por el uso de las diferentes dosis del extracto etanólico de *C. tomentosum*, incluso con las concentraciones menores.

De manera similar, la longevidad o tiempo de vida de las hembras de *Oligonychus coffeae* y *Eotetranychus lewisi* también fue afectado por la aplicación del extracto etanólico de *C. tomentosum* en sus diferentes concentraciones.

Con base en los resultados obtenidos, el uso del extracto etanólico de *C. tomentosum* mostró tener efecto sobre los parámetros biológicos de las hembras de *Oligonychus coffeae* y *Eotetranychus lewisi*, por lo cual su inclusión como estrategia para el manejo de las poblaciones de estas especies de ácaros plaga podría ser considerado dentro de un programa de manejo integrado. Con ello, podría disminuir el uso de productos químicos de manera de evitar daños al ambiente y reducción de costos relacionados con gastos de control.

Se recomienda continuar estudios donde se use el extracto de *C. tomentosum* bajo condiciones de campo con el fin de validar los resultados obtenidos en el presente estudio. Además, en vista de los resultados promisorios obtenidos se sugiere evaluar otras concentraciones y la relación de costos para su producción y aplicación de manera de hacer más eficiente el control de estas especies plaga.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arceo-Medina, G.N., Rosado-Aguilar, J.A., Rodríguez-Vivas, R.I., Borges-Argaez, R. (2016). Synergistic and antagonistic action of fatty acids, sulphides and stilbene against acaricide resistant *Rhipicephalus microplus* ticks. *Vet. Parasitol.* 228, 121-125.
- Bolland, HR; Gutierrez, J; Flechtmann, CHW. 1998. World catalogue of the spider mite family (Acari: Tetranychidae). Leiden, The Netherlands, Koninklijke Brill NV. 392 p.
- CABI. 2013. *Oligonychus coffeae*. Database on quarantine pests. Prepared by CABI and EPPO for the EU. Disponible en: <http://www.cabi.org/cpc> (Acceso septiembre de 2019).
- Castilho, P., Liu, K., Rodrigues, A.I., Feio, S., Tomi, F. y Casanova, J. (2007). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Clinopodium ascendens* (Jordan) Sampaio from Madeira. *Flavour and Fragrance Journal*, 22: 139–144.
- Das, GM. 1959. Bionomics of the tea red spider, *Oligonychus coffeae* (Nietner). *Bulletin of Entomological Research*, 50: 265-274.
- Das, P., Saikia, S., Kalita, S., Kanta Hazarika, L. y Kumar Dutta, S. (2012). Effect of temperature on biology of red spider mite (*Oligonychus coffeae*) on three different TV clones. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 82 (3): 255-259.
- Debbabi, H., El Mokni, R., Chaieb, I., Nardoni, S., Maggi, F. Caprioli, G. y Hammami, S. (2020). Chemical composition, antifungal and insecticidal activities of the essential oils from tunisian *Clinopodium nepeta* subsp. *nepeta* and *Clinopodium nepeta* subsp. *glandulosum*. *Molecules*, 25, 2137; doi:10.3390/molecules25092137.
- EFSA (European Food Safety Authority) (2014). Scientific Opinion on the pest categorisation of *Eotetranychus lewisi* EFSA Panel on Plant Health (PLH). *EFSA Journal*, 12(7): 1-35.

- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) (2006).
Diagnostics: *Eotetranychus lewisi*. Bulletin OEPP/EPPO, 36: 161-163.
- Erdogan, P., Yildirim, A. y Sever, B. (2012). Investigations on the effects of five different plant extracts on the two-spotted mite *Tetranychus urticae* Koch (Arachnida: Tetranychidae). Psyche: 1-5. doi:10.1155/2012/125284.
- Fashing, NJ; Ueckermann, EA; Fashing, PJ; Nguyen N; Back, AM; Allison, LA. 2016. *Bryobia abyssiniae* (Prostigmata: Tetranychidae), a new species from the highlands of Ethiopia. International Journal of Acarology.
- Gotoh, T; Nagata, T. 2001. Development and reproduction of *Oligonychus coffeae* (Acari: Tetranychidae) on tea. International Journal of Acarology 27: 293-298.
- Helle, W., Overmeer W.P.J. 1985. Rearing techniques. In: Helle W. and Sabelis M.W. (eds.) Spider mites: their biology, natural enemies and control. Elsevier, The Netherlands. pp 331-385.
- Howell, AD; Daugovish, O. 2013. Biological control of *Eotetranychus lewisi* and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) on strawberry by four phytoseiids (Acari: Phytoseiidae). Journal of Economic Entomology 106: 80-85.
- Jayakrishnan, T. V. y Ramani, N. (2015). Reduction of major photosynthetic pigments induced by *Oligonychus coffeae* (Nietner) (Acari: Tetranychidae) infesting *Camellia sinensis* (L) O. Kuntze. International Journal of Recent Scientific Research, 6: 3947-3950.
- Jeppson, L; Keifer, H., Baker, E. 1975. Mites Injurious to Economic Plants. University of California Press, Berkeley, USA. 614 pp.
- Kachhawa, D; Kumawat, K. 2018. *Oligonychus coffeae*, red spider mite of tea: a review. Journal of Entomology and Zoology Studies, 6(3): 519-524.
- Khanjani, M; Khanjani, M; Seeman, OD. 2018. The spider mites of the genus *Oligonychus* Berlese (Acari: Tetranychidae) from Iran. Systematic and Applied Acarology 23(2): 223-287.

- Li, H.Y., Liu, C.X., Chen, X.B., Liu, Q.Z. y Liu, Z.L. (2015). Chemical composition and insecticidal activities of the essential oil of *Clinopodium chinense* (Benth.) Kuntze aerial parts against *Liposcelis bostrychophila* Badonnel. *Journal of Food Protection*, 78 (10); 1870-1874.
- Mamun, MSA; Hoque, MM; Ahmed, M; Akandha, MYH; Paul K. 2016. Evaluation of some potential miticides against Red Spider Mite infesting tea in Bangladesh. *Tea Journal of Bangladesh*, 45: 52-64.
- Migeon, A., Nougier, E. y Dorkeld, F. (2011). Spider Mites Web: a comprehensive database for the Tetranychidae. *Trends in Acarology*: 557-560
- Migeon, A; Dorkeld F. 2019. Spider Mites Web: a comprehensive database for the Tetranychidae. Disponible en: <http://www.montpellier.inra.fr/CBGP/spmweb> (Consultado el 22 de septiembre de 2019).
- Morocho, V., Valle, A., García, J., Gilardoni, G., Cartuche, L. y Suárez, A.I. (2018). α -Glucosidase Inhibition and Antibacterial Activity of Secondary Metabolites from the Ecuadorian Species *Clinopodium taxifolium* (Kunth) Govaerts. *Molecules*, 23, 146; doi:10.3390/molecules23010146.
- Noriega, P.F., Mosquera, T.A., Osorio, E.A., Guerra, P. y Fonseca, A. (2018). *Clinopodium nubigenum* (Kunth) Kuntze essential oil: Chemical composition, antioxidant activity, and antimicrobial test against respiratory pathogens. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 10(9): 149-157.
- Pérez-Santiago, G., Otero-Colina, G., González-Hernández, V.A., Ramírez-Guzmán, M.E., González-Hernández, H. y López-Jiménez, A. (2007). The population level of *Eotetranychus lewisi* and the concentration of carbohydrates in peach trees. *Experimental and Applied Acarology*, 43(4):255-263.
- Pérez-Santiago, G; Otero-Colina, G; González, V; Ramírez, M; González, H; López, A. 2007. The population level of *Eotetranychus lewisi* and the concentration of carbohydrates in peach trees. *Experimental and Applied Acarology* 43: 255-263.

- Podder, S., Biswas, H., Saha, G.K. y Gupta, S.K. (2014). Life cycle of *Oligonychus coffeae* (Acari: Tetranychidae) on tea leaves in Darjeeling, West Bengal, India. *Animal Biology*, 64: 395-400.
- Premalatha, K., Nelson, S.J., Vishnupriya, R., Balakrishnan, S. y Santhana Krishnan, V.P. (2018). Acaricidal activity of plant extracts on two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(1): 1622-1625.
- Rahman, V. J., Babu, A., Roobakkumar, A. y Perumalsamy, K. (2013). Life table and predation of *Neoseiulus longispinosus* (Acari: Phytoseiidae) on *Oligonychus coffeae* (Acari: Tetranychidae) infesting tea. *Experimental and Applied Acarology*, 60: 229-240.
- Ribeiro, L.P., Mota, L.H.C., D'Alessandro, C.P., Vendramim, J.D., Delalibera Jr, I. 2014. In vitro compatibility of an acetogenin-based bioinsecticide with three species of entomopathogenic fungi. *Florida Entomologist*. 97:1395-1403.
- Rojas-Olivos, A., Solano-Gómez, R., Granados-Echegoyen, C., Santiago-Santiago, L.A., García-Dávila, J., Pérez-Pacheco, R., y Lagunez-Rivera, L. (2018). Larvicidal effect of *Clinopodium macrostemum* essential oil extracted by microwave-assisted hydrodistillation against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Revista de la Sociedad Brasileña de Medicina Tropical*, 51(3):291-296.
- Roobakkumar, A; Subramaniam, MSR; Babu, A; Muraleedharan, N. 2010. Bioefficacy of certain plant extracts against the red spider mite, *Oligonychus coffeae*, Nietner (Acari: Tetranychidae) infesting tea. *International Journal of Acarology*, 36(3):255-258.
- Rosado-Aguilar, J.A., Arjona-Cambranes, A., Torres-Acosta, J.F.J., Rodríguez-Vivas, R.I., Bolio-Gonzalez, M.E., Ortega-Pacheco, A., Alzina-Lopez, A., Gutiérrez-Ruiz, E.J., Gutierrez-Blanco, E. y Aguilar-Caballero, A.J. (2017). Plant products and secondary metabolites with acaricide activity against ticks. *Veterinary Parasitology*, 238: 66-76.

- Roy, A; Chakraborti, D; Das, S. 2008. Effectiveness of garlic lectin on red spider mite of tea. *Journal of Plant Interaction*, 3(3):157-162.
- Roy, R; Muraleedharan, N; Mukhopadhyay, A. 2014. The red spider mite, *Oligonychus coffeae* (Acari: Tetranychidae): its status, biology, ecology and management in tea plantations. *Experimental and Applied Acarology*, 63(4):431-63.
- Roy, S., Muraleedharan, N. y Mukhopadhyay, A. (2014). The red spider mite, *Oligonychus coffeae* (Acari: Tetranychidae): its status, biology, ecology, and management in tea plantations. *Experimental and Applied Acarology*, 63(4):431-463.
- Roy, S; Gurusubramanian, G; Nachimuthu, SK. 2011. Anti-mite activity of *Polygonum hydropiper* L. (Polygonaceae) extracts against tea red spider mite, *Oligonychus coffeae* Nietner (Tetranychidae: Acari). *International Journal of Acarology*, 37(6):561-566.
- Saltos, M.B.V., Puente, B.F.N., Malafrontec, N. y Braca, A. (2014). Phenolic Compounds from *Clinopodium tomentosum* (Kunth) Govaerts (Lamiaceae). *J. Braz. Chem. Soc.*, 25(11): 2121-2124.
- Sati, S. C., Sati, N., y Sati, O. P. (2011). Bioactive constituents and medicinal importance of genus *Alnus*. *Pharmacognosy Reviews*, 5: 174-183.
- Šučur, J., Popović, A., Petrović, M., Bursić, V., Anačkov, G., Prvulović, D. y Malenčić, D. (2017). Chemical composition of *Clinopodium menthifolium* aqueous extract and its influence on antioxidant system in black nightshade (*Solanum nigrum*) and pepper (*Capsicum annuum*) seedlings and mortality rate of whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) adults. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 31(2), 211-222.
- Urquizo, W. (2017). Efecto del aceite esencial de shanshi (*Coriaria thymifolia*), tiglán (*Clinopodium tomentosum*) y sinvergüenza (*Euphorbia helioscopia* L), sobre el gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax* Hustache). Tesis de

Vacante, V. 2016. The handbook of mites of economic plants: identification, bioecology and control. Wallingford, Reino Unido, CABI. 890 p.

Vásquez, C; Dávila, M; Telenchana, N; Mangui, J; Navas, D. 2017. Primer reporte de *Eotetranychus lewisi* en la región andina del Ecuador en *Arracacia xanthorrhiza* (zanahoria blanca) y *Tropaeolum tuberosum* (mashua). Revista Mexicana de Biodiversidad 88: 992-994.

Anexos

I. Análisis de datos de mortalidad de *Oligonychus coffeae* y *Eotetranychus lewisi*

a. Análisis de varianza

Statistix 10,0
22/8/2020; 11:38:18

Completely Randomized AOV for dial

Source	DF	SS	MS	F	P
Trat	5	51,8261	10,3652	14,68	0,0000
Error	17	12,0000	0,7059		
Total	22	63,8261			

Grand Mean 3,0870 CV 27,22

Homogeneity of Variances			F	P
Levene's Test		0,04	0,9987	
O'Brien's Test		0,06	0,9975	
Brown and Forsythe Test		0,04	0,9987	

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Trat	5,0	10,51	0,0028
Error	7,6		

Component of variance for between groups 2,52460
Effective cell size 3,8

Trat	N	Mean	SE
0	3	1,0000	0,4851
1	4	2,0000	0,4201
2	4	2,0000	0,4201
4	4	3,0000	0,4201
8	4	5,0000	0,4201
16	4	5,0000	0,4201

Completely Randomized AOV for dia2

Source	DF	SS	MS	F	P
Trat	5	17,7355	3,54710	5,06	0,0051
Error	17	11,9167	0,70098		
Total	22	29,6522			

Grand Mean 2,5652 CV 32,64

Homogeneity of Variances			F	P
Levene's Test		1,74	0,1795	
O'Brien's Test		1,09	0,4022	
Brown and Forsythe Test		1,26	0,3256	

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Trat	5,0	6,51	0,0117
Error	7,7		

Component of variance for between groups 0,74387
 Effective cell size 3,8

Trat	N	Mean	SE
0	3	1,3333	0,4834
1	4	1,7500	0,4186
2	4	2,5000	0,4186
4	4	2,2500	0,4186
8	4	3,2500	0,4186
16	4	4,0000	0,4186

Completely Randomized AOV for dia3

Source	DF	SS	MS	F	P
Trat	5	2,80072	0,56014	2,16	0,1078
Error	17	4,41667	0,25980		
Total	22	7,21739			

Grand Mean 1,3478 CV 37,82

Homogeneity of Variances			F	P
Levene's Test		2,48	0,0734	
O'Brien's Test		1,33	0,2972	
Brown and Forsythe Test		1,92	0,1434	

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Trat	5,0	M	M
Error	M		

Component of variance for between groups 0,07850
 Effective cell size 3,8

Trat	N	Mean	SE
0	3	0,6667	0,2943
1	4	1,5000	0,2549
2	4	1,5000	0,2549
4	4	1,7500	0,2549
8	4	1,5000	0,2549
16	4	1,0000	0,2549

Completely Randomized AOV for total

Source	DF	SS	MS	F	P
Trat	5	130,500	26,1000	32,87	0,0000
Error	17	13,500	0,7941		
Total	22	144,000			

Grand Mean 7,0000 CV 12,73

Homogeneity of Variances			F	P
Levene's Test		1,54	0,2311	
O'Brien's Test		0,95	0,4745	
Brown and Forsythe Test		1,42	0,2676	

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Trat	5,0	M	M
Error	M		

Component of variance for between groups 6,61404
 Effective cell size 3,8

Trat	N	Mean	SE
0	3	3,000	0,5145
1	4	5,250	0,4456
2	4	6,000	0,4456
4	4	7,000	0,4456
8	4	9,750	0,4456
16	4	10,000	0,4456

a.1. Análisis de varianza para los datos transformados

Completely Randomized AOV for dialsq

Source	DF	SS	MS	F	P
Trat	5	3,95365	0,79073	11,84	0,0000
Error	17	1,13577	0,06681		
Total	22	5,08942			

Grand Mean 1,8346 CV 14,09

Homogeneity of Variances	F	P
Levene's Test	1,51	0,2380
O'Brien's Test	0,95	0,4765
Brown and Forsythe Test	0,50	0,7733

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Trat	5,0	9,40	0,0042
Error	7,5		

Component of variance for between groups 0,18921
 Effective cell size 3,8

Trat	N	Mean	SE
0	3	1,1710	0,1492
1	4	1,5645	0,1292
2	4	1,5645	0,1292
4	4	1,8610	0,1292
8	4	2,3403	0,1292
16	4	2,3403	0,1292

Completely Randomized AOV for dia2sq

Source	DF	SS	MS	F	P
Trat	5	1,46761	0,29352	4,67	0,0073
Error	17	1,06881	0,06287		
Total	22	2,53642			

Grand Mean 1,7190 CV 14,59

Homogeneity of Variances	F	P
Levene's Test	1,71	0,1858
O'Brien's Test	1,06	0,4143
Brown and Forsythe Test	1,18	0,3581

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Trat	5,0	6,34	0,0132
Error	7,5		
Component of variance for between groups			0,06028
Effective cell size			3,8

Trat	N	Mean	SE
0	3	1,3435	0,1448
1	4	1,4920	0,1254
2	4	1,6995	0,1254
4	4	1,6369	0,1254
8	4	1,9335	0,1254
16	4	2,1147	0,1254

Completely Randomized AOV for dia3sq

Source	DF	SS	MS	F	P
Trat	5	0,44156	0,08831	2,29	0,0915
Error	17	0,65495	0,03853		
Total	22	1,09651			

Grand Mean 1,3417 CV 14,63

Homogeneity of Variances			F	P
Levene's Test		2,59	0,0644	
O'Brien's Test		1,35	0,2915	
Brown and Forsythe Test		1,34	0,2967	

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Trat	5,0	M	M
Error	M		
Component of variance for between groups			0,01301
Effective cell size			3,8

Trat	N	Mean	SE
0	3	1,0522	0,1133
1	4	1,4029	0,0981
2	4	1,4029	0,0981
4	4	1,4920	0,0981
8	4	1,4029	0,0981
16	4	1,2247	0,0981

b. Prueba de medias de Mortalidad

Statistix 10,0
22/8/2020; 11:26:30

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of dial by Trat

Trat	Mean	Homogeneous Groups
8	5,0000	A
16	5,0000	A
4	3,0000	AB
1	2,0000	B
2	2,0000	B

0 1,0000 B

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 0,5941 TO 0,6417

Critical Q Value 5,659 Critical

Value for Comparison 2,3772 TO 2,5677

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of dia2 by Trat

Trat	Mean	Homogeneous Groups
------	------	--------------------

16	4,0000	A
8	3,2500	AB
2	2,5000	AB
4	2,2500	AB
1	1,7500	AB
0	1,3333	B

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 0,5920 TO 0,6395

Critical Q Value 5,659 Critical

Value for Comparison 2,3690 TO 2,5588

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of dia3 by Trat

Trat	Mean	Homogeneous Groups
------	------	--------------------

4	1,7500	A
1	1,5000	A
2	1,5000	A
8	1,5000	A
16	1,0000	A
0	0,6667	A

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 0,3604 TO 0,3893

Critical Q Value 5,659 Critical

Value for Comparison 1,4422 TO 1,5578

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of total by Trat

Trat	Mean	Homogeneous Groups
------	------	--------------------

16	10,000	A
8	9,7500	A
4	7,0000	B
2	6,0000	B
1	5,2500	BC
0	3,0000	C

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 0,6301 TO 0,6806

Critical Q Value 5,659 Critical

Value for Comparison 2,5214 TO 2,7235

There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of dialsq by Trat

Trat	Mean	Homogeneous Groups
8	2,3403	A
16	2,3403	A
4	1,8610	AB
1	1,5645	B
2	1,5645	B
0	1,1710	B

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 0,1828 TO 0,1974

Critical Q Value 5,659 Critical Value for Comparison 0,7313 TO 0,7899

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of dia2sq by Trat

Trat	Mean	Homogeneous Groups
16	2,1147	A
8	1,9335	AB
2	1,6995	AB
4	1,6369	AB
1	1,4920	AB
0	1,3435	B

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 0,1773 TO 0,1915

Critical Q Value 5,659 Critical Value for Comparison 0,7095 TO 0,7663

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of dia3sq by Trat

Trat	Mean	Homogeneous Groups
4	1,4920	A
1	1,4029	A
8	1,4029	A
2	1,4029	A
16	1,2247	A
0	1,0522	A

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 0,1388 TO 0,1499

Critical Q Value 5,659 Critical Value for Comparison 0,5554 TO 0,5999

There are no significant pairwise differences among the means.

c. Resumen de estadísticos

Statistix 10,0
22/8/2020; 12:24:55

Análisis de mortalid...;

Breakdown for dial

Variable	Level	Mean	SD
Trat	0	1,0000	1,0000

Trat 1	2,0000	0,8165	
Trat 2	2,0000	0,8165	
Trat 4	3,0000	0,8165	
Trat 8	5,0000	0,8165	
Trat 16	5,0000	0,8165	
Overall		3,0870	1,7033

Cases Included 23 Missing Cases 1

Breakdown for dia2

Variable	Level	Mean	SD
Trat 0	1,3333	0,5774	
Trat 1	1,7500	0,5000	
Trat 2	2,5000	1,2910	
Trat 4	2,2500	0,9574	
Trat 8	3,2500	0,5000	
Trat 16	4,0000	0,8165	
Overall		2,5652	1,1610

Cases Included 23 Missing Cases 1

Breakdown for dia3

Variable	Level	Mean	SD
Trat 0	0,6667	0,5774	
Trat 1	1,5000	0,5774	
Trat 2	1,5000	0,5774	
Trat 4	1,7500	0,5000	
Trat 8	1,5000	0,5774	
Trat 16	1,0000	0,0000	
Overall		1,3478	0,5728

Cases Included 23 Missing Cases 1

Breakdown for total

Variable	Level	Mean	SD
Trat 0	3,0000	1,0000	
Trat 1	5,2500	0,9574	
Trat 2	6,0000	1,4142	
Trat 4	7,0000	0,8165	
Trat 8	9,7500	0,5000	
Trat 16	10,000	0,0000	
Overall		7,0000	2,5584

Cases Included 23 Missing Cases 1

Breakdown for dialsq

Variable	Level	Mean	SD
Trat 0	1,1710	0,4395	
Trat 1	1,5645	0,2645	
Trat 2	1,5645	0,2645	
Trat 4	1,8610	0,2208	
Trat 8	2,3403	0,1749	

Trat 16	2,3403	0,1749	
Overall		1,8346	0,4810

Cases Included 23 Missing Cases 1

Breakdown for dia2sq

Variable	Level	Mean	SD
Trat 0	1,3435	0,2058	
Trat 1	1,4920	0,1782	
Trat 2	1,6995	0,3859	
Trat 4	1,6369	0,3068	
Trat 8	1,9335	0,1252	
Trat 16	2,1147	0,1938	
Overall		1,7190	0,3395

Cases Included 23 Missing Cases 1

Breakdown for dia3sq

Variable	Level	Mean	SD
Trat 0	1,0522	0,2989	
Trat 1	1,4029	0,2058	
Trat 2	1,4029	0,2058	
Trat 4	1,4920	0,1782	
Trat 8	1,4029	0,2058	
Trat 16	1,2247	0,0000	
Overall		1,3417	0,2233

Cases Included 23 Missing Cases 1

Análisis para *Eotetranychus lewisi*

Statistix 10,0
23/8/2020; 12:33:42

Completely Randomized AOV for dial

Source	DF	SS	MS	F	P
Trat	5	87,5000	17,5000	28,64	0,0000
Error	18	11,0000	0,6111		
Total	23	98,5000			

Grand Mean 3,7500 CV 20,85

Homogeneity of Variances	F	P
Levene's Test	0,15	0,9774
O'Brien's Test	0,10	0,9917
Brown and Forsythe Test	0,00	1,0000

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Trat	5,0	28,14	0,0001
Error	8,4		

Component of variance for between groups 4,22222
 Effective cell size 4,0

Trat Mean

1 0,5000
 2 3,0000
 3 3,0000
 4 4,0000
 5 6,0000
 6 6,0000

Observations per Mean 4
 Standard Error of a Mean 0,3909
 Std Error (Diff of 2 Means) 0,5528

Completely Randomized AOV for dia2

Source	DF	SS	MS	F	P
Trat	5	14,8333	2,96667	11,87	0,0000
Error	18	4,5000	0,25000		
Total	23	19,3333			

Grand Mean 2,3333 CV 21,43

Homogeneity of Variances

	F	P
Levene's Test	1,80	0,1637
O'Brien's Test	1,15	0,3700
Brown and Forsythe Test	2,00	0,1274

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Trat	5,0	M	M
Error	M		

Component of variance for between groups 0,67917
 Effective cell size 4,0

Trat Mean

1 1,5000
 2 1,7500
 3 1,5000
 4 3,0000
 5 2,7500
 6 3,5000

Observations per Mean 4
 Standard Error of a Mean 0,2500
 Std Error (Diff of 2 Means) 0,3536

Completely Randomized AOV for dia3

Source	DF	SS	MS	F	P
Trat	5	12,3333	2,46667	8,88	0,0002
Error	18	5,0000	0,27778		
Total	23	17,3333			

Grand Mean 1,6667 CV 31,62

Homogeneity of Variances

	F	P
Levene's Test	0,10	0,9909
O'Brien's Test	0,06	0,9968
Brown and Forsythe Test	0,40	0,8424

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Trat	5,0	6,24	0,0107
Error	8,4		

Component of variance for between groups 0,54722
 Effective cell size 4,0

Trat Mean

1	1,2500
2	2,2500
3	2,5000
4	2,2500
5	1,2500
6	0,5000

Observations per Mean 4
 Standard Error of a Mean 0,2635
 Std Error (Diff of 2 Means) 0,3727

Completely Randomized AOV for total

Source	DF	SS	MS	F	P
Trat	5	135,000	27,0000	64,80	0,0000
Error	18	7,500	0,4167		
Total	23	142,500			

Grand Mean 7,7500 CV 8,33

Homogeneity of Variances

	F	P
Levene's Test	1,80	0,1637
O'Brien's Test	1,15	0,3700
Brown and Forsythe Test	1,89	0,1470

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Trat	5,0	M	M
Error	M		

Component of variance for between groups 6,64583
 Effective cell size 4,0

Trat Mean

1	3,250
2	7,000
3	7,000
4	9,250
5	10,000
6	10,000

Observations per Mean 4
 Standard Error of a Mean 0,3227
 Std Error (Diff of 2 Means) 0,4564

Completely Randomized AOV for dia3sq

Source	DF	SS	MS	F	P
Trat	5	1,71821	0,34364	9,26	0,0002
Error	18	0,66827	0,03713		
Total	23	2,38648			

Grand Mean 1,4378 CV 13,40

Homogeneity of Variances	F	P
Levene's Test	3,16	0,0322
O'Brien's Test	2,02	0,1243
Brown and Forsythe Test	1,20	0,3495

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Trat	5,0	5,66	0,0145
Error	8,4		

Component of variance for between groups 0,07663
Effective cell size 4,0

Trat	Mean
1	1,3138
2	1,6536
3	1,7260
4	1,6536
5	1,3138
6	0,9659

Observations per Mean 4
Standard Error of a Mean 0,0963
Std Error (Diff of 2 Means) 0,1362

Prueba de medias

Statistix 10,0
23/8/2020; 12:36:02

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of dial by Trat

Trat	Mean	Homogeneous Groups
5	6,0000	A
6	6,0000	A
4	4,0000	AB
2	3,0000	B
3	3,0000	B
1	0,5000	C

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 0,5528
Critical Q Value 5,602 Critical Value for Comparison 2,1898
There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means
are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of dia2 by Trat

Trat	Mean	Homogeneous Groups
6	3,5000	A
4	3,0000	AB
5	2,7500	ABC
2	1,7500	BC
1	1,5000	C
3	1,5000	C

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 0,3536
Critical Q Value 5,602 Critical Value for Comparison 1,4006

There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of dia3 by Trat

Trat	Mean	Homogeneous Groups
3	2,5000	A
2	2,2500	A
4	2,2500	A
1	1,2500	AB
5	1,2500	AB
6	0,5000	B

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 0,3727
 Critical Q Value 5,602 Critical Value for Comparison 1,4763
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of total by Trat

Trat	Mean	Homogeneous Groups
5	10,000	A
6	10,000	A
4	9,2500	A
2	7,0000	B
3	7,0000	B
1	3,2500	C

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 0,4564
 Critical Q Value 5,602 Critical Value for Comparison 1,8081
 There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of dia3sq by Trat

Trat	Mean	Homogeneous Groups
3	1,7260	A
2	1,6536	A
4	1,6536	A
1	1,3138	AB
5	1,3138	AB
6	0,9659	B

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 0,1362
 Critical Q Value 5,602 Critical Value for Comparison 0,5397
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Resumen de descriptivos estadísticos

Statistix 10,0
 23/8/2020; 12:36:33

Breakdown for dial

Variable	Level	Mean	SD
Trat	1	0,5000	0,5774
Trat	2	3,0000	0,8165

Trat	3	3,0000	0,8165
Trat	4	4,0000	0,8165
Trat	5	6,0000	0,8165
Trat	6	6,0000	0,8165
Overall		3,7500	2,0694

Cases Included 24 Missing Cases 0

Breakdown for dia2

Variable	Level	Mean	SD
Trat	1	1,5000	0,5774
Trat	2	1,7500	0,5000
Trat	3	1,5000	0,5774
Trat	4	3,0000	0,0000
Trat	5	2,7500	0,5000
Trat	6	3,5000	0,5774
Overall		2,3333	0,9168

Cases Included 24 Missing Cases 0

Breakdown for dia3

Variable	Level	Mean	SD
Trat	1	1,2500	0,5000
Trat	2	2,2500	0,5000
Trat	3	2,5000	0,5774
Trat	4	2,2500	0,5000
Trat	5	1,2500	0,5000
Trat	6	0,5000	0,5774
Overall		1,6667	0,8681

Cases Included 24 Missing Cases 0

Breakdown for total

Variable	Level	Mean	SD
Trat	1	3,2500	0,5000
Trat	2	7,0000	0,8165
Trat	3	7,0000	0,8165
Trat	4	9,2500	0,9574
Trat	5	10,000	0,0000
Trat	6	10,000	0,0000
Overall		7,7500	2,4891

Cases Included 24 Missing Cases 0

Breakdown for dia3sq

Variable	Level	Mean	SD
Trat	1	1,3138	0,1782
Trat	2	1,6536	0,1448
Trat	3	1,7260	0,1673
Trat	4	1,6536	0,1448
Trat	5	1,3138	0,1782
Trat	6	0,9659	0,2989

Overall 1,4378 0,3221

Cases Included 24 Missing Cases 0

II. Regresiones lineales

A. *Oligonychus coffeae* (Mortalidad)

Statistix 10,0 Análisis de mortalid...;
24/8/2020; 8:48:53

Least Squares Linear Regression of total

Predictor Variables		Coefficient	Std Error	T	P
Constant	4,94574	0,41798	11,83	0,0000	
Trat	0,38103	0,05428	7,02	0,0000	

R² 0,7012 Mean Square Error (MSE) 2,04887
Adjusted R² 0,6870 Standard Deviation 1,43139
AICc 21,668
PRESS 51,269

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	100,974	100,974	49,28	0,0000
Residual	21	43,026	2,04887		
Total	22	144,000			

Lack of Fit 4 29,526 7,38158 9,30 0,0004
Pure Error 17 13,500 0,79412

Cases Included 23 Missing Cases 1

Oviposición

Statistix 10,0 Análisis de oviposic...;
24/8/2020; 9:12:08

Least Squares Linear Regression of OligF

Predictor Variables		Coefficient	Std Error	T	P
Constant	27,6571	1,17217	23,59	0,0000	
Trat	-1,30461	0,15549	-8,39	0,0000	

R² 0,7619 Mean Square Error (MSE) 17,4872
Adjusted R² 0,7511 Standard Deviation 4,18177
AICc 73,787
PRESS 450,84

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	1231,12	1231,12	70,40	0,0000
Residual	22	384,72	17,4872		
Total	23	1615,83			

Lack of Fit 4 279,22 69,8045 11,91 0,0001
Pure Error 18 105,50 5,86111

Cases Included 24 Missing Cases 0

B. Eotetranychus lewisi

Statistix 10,0 Análisis de mortalid...;
24/8/2020; 8:46:29

Least Squares Linear Regression of total

Predictor Variables		Coefficient	Std Error	T	P
Constant	3,25000	0,51361	6,33	0,0000	
Trat	1,28571	0,13188	9,75	0,0000	
R ²	0,8120	Mean Square Error (MSE)	1,21753		
Adjusted R ²	1,10342	0,8035	Standard Deviation		
AICc	9,8356				
PRESS	32,448				

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	115,714	115,714	95,04	0,0000
Residual	22	26,786	1,21753		
Total	23	142,500			
Lack of Fit	4	19,286	4,82143	11,57	0,0001
Pure Error	18	7,500	0,41667		

Cases Included 24 Missing Cases 0

Oviposición

Statistix 10,0 Análisis de oviposic...;
24/8/2020; 9:13:42

Least Squares Linear Regression of EotetF

Predictor Variables		Coefficient	Std Error	T	P
Constant	18,9143	1,15663	16,35	0,0000	
Trat	-1,00760	0,15342	-6,57	0,0000	
R ²	0,6622	Mean Square Error (MSE)	17,0265		
Adjusted R ²	0,6469	Standard Deviation	4,12632		
AICc	73,146				
PRESS	446,21				

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	734,38	734,375	43,13	0,0000
Residual	22	374,58	17,0265		
Total	23	1108,96			
Lack of Fit	4	285,33	71,3333	14,39	0,0000
Pure Error	18	89,25	4,95833		

Cases Included 24 Missing Cases 0

III. Análisis de datos de longevidad

a. Análisis de varianza

Statistix 10,0
22/8/2020; 11:57:33

Completely Randomized AOV for Oligon

Source	DF	SS	MS	F	P
Tratam	5	890,500	178,100	77,250	0,0000
Error	18	41,500	2,306		
Total	23	932,000			

Grand Mean 12,000 CV 12,65

Homogeneity of Variances			F	P
Levene's Test		1,31	0,3055	
O'Brien's Test		0,84	0,5416	
Brown and Forsythe Test		0,72	0,6169	

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Tratam	5,0	75,13	0,0000
Error	8,3		

Component of variance for between groups 43,9486
Effective cell size 4,0

Tratam Mean

0 22,000
1 16,000
2 15,000
4 7,250
8 5,750
16 6,000

Observations per Mean 4
Standard Error of a Mean 0,7592
Std Error (Diff of 2 Means) 1,0737

Completely Randomized AOV for Eotet

Source	DF	SS	MS	F	P
Tratam	5	1203,50	240,700	67,170	0,0000
Error	18	64,50	3,583		
Total	23	1268,00			

Grand Mean 20,000 CV 9,46

Homogeneity of Variances			F	P
Levene's Test		0,43	0,8194	
O'Brien's Test		0,28	0,9195	
Brown and Forsythe Test		0,31	0,9007	

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Tratam	5,0	50,69	0,0000
Error	8,3		

Component of variance for between groups 59,2792
 Effective cell size 4,0

Tratam	Mean
0	32,250
1	27,000
2	17,500
4	14,250
8	15,500
16	13,500
Observations per Mean	4
Standard Error of a Mean	0,9465
Std Error (Diff of 2 Means)	1,3385

b. Prueba de medias

Statistix 10,0
 22/8/2020; 11:55:57

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Oligon by Tratam

Tratam	Mean	Homogeneous Groups
0	22,000	A
1	16,000	B
2	15,000	B
4	7,2500	C
16	6,0000	C
8	5,7500	C

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 1,0737
 Critical Q Value 5,602 Critical
 Value for Comparison 4,2533
 There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Eotet by Tratam

Tratam	Mean	Homogeneous Groups
0	32,250	A
1	27,000	A
2	17,500	B
8	15,500	B
4	14,250	B
16	13,500	B

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 1,3385
 Critical Q Value 5,602 Critical
 Value for Comparison 5,3025
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

c. Resumen descriptivos estadísticos

Statistix 10,0
22/8/2020; 11:58:32

Breakdown for Oligon

Variable	Level	Mean	SD	Minimum	Maximum
Tratam	0	22,000	2,1602	20,000	25,000
Tratam	1	16,000	0,8165	15,000	17,000
Tratam	2	15,000	2,1602	12,000	17,000
Tratam	4	7,2500	0,9574	6,0000	8,0000
Tratam	8	5,7500	0,9574	5,0000	7,0000
Tratam	16	6,0000	1,4142	4,0000	7,0000
Overall		12,000	6,3657	4,0000	25,000

Cases Included 24 Missing Cases 0

Breakdown for Eotet

Variable	Level	Mean	SD	Minimum	Maximum
Tratam	0	32,250	2,2174	30,000	35,000
Tratam	1	27,000	1,8257	25,000	29,000
Tratam	2	17,500	2,0817	15,000	20,000
Tratam	4	14,250	1,7078	12,000	16,000
Tratam	8	15,500	2,0817	13,000	18,000
Tratam	16	13,500	1,2910	12,000	15,000
Overall		20,000	7,4250	12,000	35,000

Cases Included 24 Missing Cases 0

IV. Análisis de datos de oviposición

a. Análisis de varianza

Statistix 10,0
22/8/2020; 12:09:58

Completely Randomized AOV for OligF

Source	DF	SS	MS	F	P
Trat	5	1510,33	302,067	51,54	0,0000
Error	18	105,50	5,861		
Total	23	1615,83			

Grand Mean 20,917 CV 11,57

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test	0,86	0,5249	
O'Brien's Test	0,55	0,7350	
Brown and Forsythe Test	0,47	0,7921	

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Trat	5,0	46,42	0,0000
Error	8,3		

Component of variance for between groups 74,0514
 Effective cell size 4,0

Trat Mean

0 28,500
 1 29,500
 2 27,500
 4 17,500
 8 12,750
 16 9,750

Observations per Mean 4
 Standard Error of a Mean 1,2105
 Std Error (Diff of 2 Means) 1,7119

Completely Randomized AOV for EotetF

Source	DF	SS	MS	F	P
Trat	5	1019,71	203,942	41,13	0,0000
Error	18	89,25	4,958		
Total	23	1108,96			

Grand Mean 13,708 CV 16,24

Homogeneity of Variances

Test	F	P
Levene's Test	0,89	0,5059
O'Brien's Test	0,57	0,7206
Brown and Forsythe Test	0,54	0,7418

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Trat	5,0	34,26	0,0000
Error	8,3		

Component of variance for between groups 49,7458
 Effective cell size 4,0

Trat Mean

0 22,250
 1 19,750
 2 18,000
 4 9,750
 8 6,500
 16 6,000

Observations per Mean 4
 Standard Error of a Mean 1,1134
 Std Error (Diff of 2 Means) 1,5745

b. Prueba de medias

Statistix 10,0
 22/8/2020; 12:08:38

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of OligF by Trat

Trat	Mean	Homogeneous Groups
1	29,500	A

0	28,500	A
2	27,500	A
4	17,500	B
8	12,750	BC
16	9,7500	C

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 1,7119
 Critical Q Value 5,602 Critical
 Value for Comparison 6,7815
 There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of EotetF by Trat

Trat	Mean	Homogeneous Groups
0	22,250	A
1	19,750	A
2	18,000	A
4	9,7500	B
8	6,5000	B
16	6,0000	B

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 1,5745
 Critical Q Value 5,602 Critical
 Value for Comparison 6,2374
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

c. Resumen de descriptivos estadísticos

Statistix 10,0
 22/8/2020; 12:10:44

Breakdown for OligF

Variable	Level	Mean	SD	Minimum	Maximum
Trat 0	28,500	2,6458	25,000	31,000	
Trat 1	29,500	3,4157	25,000	33,000	
Trat 2	27,500	2,0817	25,000	30,000	
Trat 4	17,500	2,0817	15,000	20,000	
Trat 8	12,750	2,2174	10,000	15,000	
Trat 16	9,7500	1,7078	8,0000	12,000	
Overall		20,917	8,3817	8,0000	33,000

Cases Included 24 Missing Cases 0

Breakdown for EotetF

Variable	Level	Mean	SD	Minimum	Maximum
Trat 0	22,250	3,0957	18,000	25,000	
Trat 1	19,750	2,0616	17,000	22,000	
Trat 2	18,000	2,5820	15,000	21,000	
Trat 4	9,7500	1,7078	8,0000	12,000	
Trat 8	6,5000	1,2910	5,0000	8,0000	

Lack of Fit	4	630,13	157,533	43,96	0,0000
Pure Error	18	64,50	3,58333		

Cases Included 24 Missing Cases 0

C.