

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



**“DETERMINACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE LA REGIÓN
ITS2 EN POBLACIONES DE *Eotetranychus lewisi* (MCGREGOR) EN EL
CULTIVO DE *Rubus glaucus* BENT (MORA)”**

Documento Final del Proyecto de Investigación como requisito para obtener el grado
de Ingeniera Agrónoma

EMMA CECILIA SÁNCHEZ IZA

TUTORA: Ing. Mg. Rita Cumandá Santana Mayorga

CEVALLOS - ECUADOR

2021

APROBACIÓN

“DETERMINACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE LA REGIÓN ITS2
EN POBLACIONES DE *Eotetranychus lewisi* (MCGREGOR) EN EL CULTIVO
DE *Rubus glaucus* BENT (MORA)”

Revisado por:



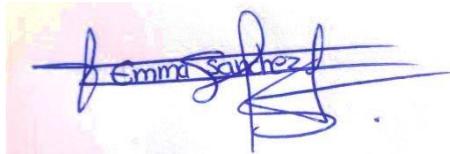
Firmado electrónicamente por:
**RITA CUMANDA
SANTANA MAYORGA**

Ing. Mg. Rita Cumandá Santana Mayorga

TUTORA

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

La suscrita, SÁNCHEZ IZA EMMA CECILIA, portadora de la cédula de identidad número 175159871-3, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de Investigación titulado: “DETERMINACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE LA REGIÓN ITS2 EN POBLACIONES DE *Eotetranychus lewisi* (MCGREGOR) EN EL CULTIVO DE *Rubus glaucus* BENT (MORA)” 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.



EMMA CECILIA SÁNCHEZ IZA

**“DETERMINACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE LA REGIÓN
ITS2 EN POBLACIONES DE *Eotetranychus lewisi* (MCGREGOR) EN EL
CULTIVO DE *Rubus glaucus* BENT (MORA)”**

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN:

FECHA

27/08/2021

Ing. Marco Pérez Salinas, PhD.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN



Firmado electrónicamente por:
**OLGUER ALFREDO
LEON GORDON**

27/08/2021

Ing. Mg. Olguer Alfredo León Gordón

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

27/08/2021

Ing. Segundo Euclides Curay Quispe

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

DERECHO DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “DETERMINACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE LA REGIÓN ITS2 EN POBLACIONES DE *Eotetranychus lewisi* (MCGREGOR) EN EL CULTIVO DE *Rubus glaucus* BENT (MORA)” 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.



EMMA CECILIA SÁNCHEZ IZA

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por todo lo que me ha dado, por no soltar mi mano y mantenerme a su lado y sobre todo por ayudarme a cumplir esta meta en mi vida.

Agradezco a mis padres por brindarme su apoyo incondicional en todo momento, en especial a mi padre Alfredo por nunca dejarme sola, y por creer siempre en mí, a la vez también doy las gracias a mis hermanos Evelin y Jordi por estar en las buenas y en las malas junto a mí.

Agradezco a mi Tía Rogelia por preocuparse y por estar pendiente de mí en cada momento y por brindarme su apoyo.

A una persona muy especial que Dios me permitió conocer por su cariño, sus consejos y porque siempre estuvo ahí dándome ánimos durante este recorrido y por creer en mí.

A la Universidad Técnica de Ambato en especial a la Facultad de Ciencias Agropecuarias a las autoridades y docentes quienes me impartieron sus conocimientos a lo largo de mi carrera estudiantil.

A la Ing. Nathy Paredes quien nos guio con su experiencia, esfuerzo, paciencia y motivación para lograr culminar con éxito este proyecto de investigación.

Al Dr. Carlitos Vásquez que a más de ser un docente un amigo, siempre dispuesto a ayudarme de alguna u otra manera.

DEDICATORIA

Este presente trabajo va dedicado a Dios que siempre me mostró que todo es posible, que no hay límites para nada, que con fe puedes lograr todo aquello que mereces.

A mi papito Alfredo por ser mi motor de lucha día a día, llego a mi vida para amarme, cuidarme a estado a mi lado en los momentos más importantes, y más difíciles, me ha demostrado con acciones más que con palabras por eso sin su ayuda y sin su apoyo no lo hubiese logrado, papá me faltara vida para agradecerle por todo lo que ha hecho por mí, este logro es más de él que mío. Él mi amigo, mi consejero, mi apoyo y mi mayor tesoro Te amo papito.

A mi sobrino Sebastián que con su ternura e inocencia llena de felicidad mi alma y mi corazón y porque siempre me saca una sonrisa.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHO DE AUTOR.....	v
AGRADECIMIENTO	vi
DEDICATORIA	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN	xiii
ABSTRACT.....	xiv
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II.....	3
MARCO TEÓRICO.....	3
2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	3
2.2 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES O MARCO CONCEPTUAL.....	7
2.2.1 Variable independiente: Marcadores Moleculares (Región ITS2).....	7
2.2.2 Variable dependiente: Cultivo de mora (<i>Rubus glaucus</i> Bent.).....	8
2.2.3 Unidad de análisis: Ácaro (<i>Eotetranychus lewisi</i> McGregor)	12
2.3 OBJETIVOS	18
2.3.1 Objetivo general	18
2.3.2 Objetivos Específicos	18
2.4 HIPÓTESIS.....	18
CAPITULO III.....	19
METODOLOGÍA	19
3.1 EQUIPOS Y MATERIALES	19

3.1.1	Equipos.....	19
3.1.2	Materiales.....	19
3.1.3	Reactivos	20
3.2	MÉTODOS	21
3.2.1	Investigación	21
3.2.2	Material Vegetal	21
3.2.3	Características del Lugar	22
3.2.4	Factores En Estudio.....	23
3.2.5	Tratamientos.....	23
3.2.6	Diseño Experimental	23
3.2.7	La recolección de muestras vegetales	24
3.2.8	Identificación y caracterización del acaro.....	25
3.2.9	Determinación del ciclo de vida de <i>E. lewisi</i> en hojas de mora.....	25
3.2.10	Extracción de ADN de <i>E. lewisi</i> (McGregor)	26
3.2.11	Protocolo para la amplificación de ITS2.....	27
3.2.12	Procesamiento de la información.....	28
	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
4.1.	Variabilidad poblacional mediante análisis molecular en base a distancias genéticas entre diferentes poblaciones de ácaros.....	29
4.2.	Análisis de componentes principales de las variables morfométricas de hembras de <i>E. lewisi</i> colectadas en plantas de mora de cuatro localidades.....	34
	CAPÍTULO V.....	44
	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	44
5.1	CONCLUSIONES	44
5.2	RECOMENDACIONES	45
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
	ANEXOS	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de mora	8
Figura 2. Partes de la planta de mora	9
Figura 3. Detalle de los huevos de <i>E. lewisi</i> (McGregor)	14
Figura 4. Larva de <i>E. lewisi</i> (McGregor)	14
Figura 5. Protoninfa de <i>E. lewisi</i> (McGregor).....	15
Figura 6. Acaro en estado de quiescencia	15
Figura 7. Hembra adulta de <i>E. lewisi</i> (McGregor).....	16
Figura 8. Recolección de muestras vegetales.....	24
Figura 9. Reproducción del acaro	25
Figura 10. Extracción de ADN de <i>E. lewisi</i>	26
Figura 11. Amplificación de ITS2	27
Figura 12. Cantidad porcentual de bases nitrogenadas de los fragmentos de ITS2 amplificados a partir de las poblaciones de <i>E. lewisi</i>	31
Figura 13. Árbol filogenético de las poblaciones de ácaros recolectadas en las distintas localidades	32
Figura 14. Gráfico bidimensional de componentes principales basado en los caracteres morfométricos de <i>E. lewisi</i> donde se representa la variación de muestras de ácaros por localidad de muestreo	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación Taxonómica de la Mora	9
Tabla 2. Descripción botánica y morfológica de la mora.....	10
Tabla 3. Requerimientos climáticos del cultivo de mora	10
Tabla 4. Plagas del cultivo de mora.....	11
Tabla 5. Enfermedades del cultivo de mora.....	11
Tabla 6. Descripción taxonómica de <i>Eotetranychus lewisi</i> (McGregor)	13
Tabla 7. Localidades donde se recolecto las muestras de mora	22
Tabla 8. Condiciones para el experimento en laboratorio	22
Tabla 9. Cuadro de tratamientos	23
Tabla 10. Fragmento ITS2 con 545 pb (Adenina-A; Citosina-C; Guanina-G y Timina-T) de <i>E. lewisi</i> recolectados en plantas de <i>R. glaucus</i> en cuatro localidades	30
Tabla 11. Comparación de las sustituciones ocurridas en las bases nitrogenadas del fragmento ITS2 de <i>E. lewisi</i> recolectado en las localidades de Cevallos, Quero, Montalvo y Pasa con respecto a su similitud y divergencia	32
Tabla 12. Datos del fragmento ITS2 de <i>E. lewisi</i> encontrados en el GenBank-NCBI	33
Tabla 13. Valores de autovector y porcentaje acumulado de las variables relacionadas con la longitud de setas idiosomales evaluadas en hembras de <i>E. lewisi</i> colectados en plantas de mora de diferentes localidades	35
Tabla 14. Peso de cada variable morfométrica por competente resultante del análisis de la variación de la longitud de las setas idiosomales de hembras de <i>E. lewisi</i> mediante Análisis de Componentes Principales	36
Tabla 15. Valores de autovector y porcentaje acumulado de las variables relacionadas con la distancia entre setas idiosomales evaluadas en hembras de <i>E. lewisi</i> colectados en plantas de mora de diferentes localidades	37
Tabla 16. Peso de cada variable morfométrica por competente resultante del análisis de la variación de la longitud de las setas idiosomales de hembras de <i>E. lewisi</i> mediante Análisis de Componentes Principales	38
Tabla 17. Variaciones en la distancia de las setas idiosomales (promedio \pm desviación estándar) de las poblaciones de <i>E. lewisi</i> en diferentes localidades de la Provincia de Tungurahua	41
Tabla 18. Variaciones en la distancia entre las setas idiosomales (promedio \pm desviación estándar) de las poblaciones de <i>E. lewisi</i> en diferentes localidades de la Provincia de Tungurahua	42

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo No. 1. Fotografías de la fase experimental Análisis estadístico	54
Anexo No. 2. Análisis estadístico	56

RESUMEN

Eotetranychus lewisi (Acari: Tetranychidae) es un ácaro fitófago que se alimenta de una amplia gama de especies de plantas hospederas. Dado que este ácaro fue recientemente reportado en Ecuador, la información sobre aspectos bioecológicos de la plaga son escasos. En este estudio se determinó tanto la variabilidad morfológica mediante Análisis de Componentes Principales (ACP) como la variación genética mediante análisis de distancias genéticas utilizando la región ITS2 en poblaciones de *E. lewisi* colectadas en plantas de mora de diferentes localidades de Tungurahua. Para la investigación se recolectaron hojas maduras de mora infestadas con poblaciones de *E. lewisi* de diferentes localidades de Tungurahua, Cevallos (C), Quero (Q), Montalvo (M) y Pasa (P), todas estas ubicadas a diferentes pisos altitudinales. Con relación al estudio genético se observó que los porcentajes de las bases nitrogenadas en el fragmento ITS2 de las diferentes localidades muestran resultados muy poco variables. Para Adenina los valores coinciden con un 29,72% para las poblaciones de Cevallos, y un 29,91% para Montalvo y Pasa, mientras que el porcentaje de Citosina es similar para las cuatro localidades (17,06%), así mismo hubo poca variación para Guanina (18,17% para Cevallos; 18,35% para Quero; 18,72% para Montalvo y un 18,90% en Pasa. Por último, el porcentaje de Timina mostró mayor variación en Cevallos con 35,05% con respecto a las otras poblaciones de Quero (34,86%), Montalvo (34,31%) y Pasa (34,13%). Con relación a las bases nitrogenadas en el fragmento ITS2 hay una mayor presencia de Timina seguida de Adenina, Guanina y finalmente Citosina. Por otra parte, el ACP mostró que 93,14 y 94,67 % de la variación morfométrica de *E. lewisi* en plantas de mora procedentes de diferentes localidades fue explicada en 10 componentes. De estas, las variables que mostraron mayor peso en los dos primeros componentes fueron la longitud de las setas c1, c2, c3, d2, e2, f2 y h3, Sc1, d1, e1, f1 y f2 y en cuanto a las distancias entre setas la mayoría de las variables se ubicaron en el primer componente (v2-v2, sc1-sc1, c3-c3, d1-d1, d2-d2, e2-e2, f1-f1, h2-h2 y h3-h3).

Palabras clave: Tetranychidae, morfología, región ITS2, ácaro lewisi

ABSTRACT

Eotetranychus lewisi (Acari: Tetranychidae) is a phytophagous mite able to feed on a wide range of host plant species. Since this mite was recently reported in Ecuador, information on bioecological aspects of the pest is scarce. In this study, the morphological variability evaluated by Principal Component Analysis (PCA) and the genetic variation by genetic distance analysis using the ITS2 region were determined in populations of *E. lewisi* collected in blackberry plants from different localities from Tungurahua. In this study, blackberry leaves infested with *E. lewisi* populations were collected from different localities of Tungurahua, Cevallos (C), Quero (Q), Montalvo (M) and Pasa (P), all of these located at different altitude levels. In relation to the genetic study, it was observed that the percentages of the nitrogenous bases in the ITS2 fragment from the different localities show very little variable results. For Adenine, the values coincide with 29.72% for the populations of Cevallos, and 29.91% for Montalvo and Pasa, while the percentage of Cytosine is similar for the four localities (17.06%), likewise there were little variation for Guanine (18.17% for Cevallos; 18.35% for Quero; 18.72% for Montalvo and 18.90% in Pasa. Finally, the percentage of Thymine showed greater variation in Cevallos with 35.05 % with respect to the other populations of Quero (34.86%), Montalvo (34.31%) and Pasa (34.13%). In relation to the nitrogenous bases in the ITS2 fragment there is a greater presence of Thymine followed by Adenine, Guanine and finally Cytosine. On the other hand, the ACP showed that 93.14 and 94.67% of the morphometric variation of *E. lewisi* in blackberry plants from different locations was explained in 10 components. Of these, the variables that showed greater weight in the first two components were the length of the setae c1, c2, c3, d2, e2, f2 and h3, Sc1, d1, e1, f1 and f2 and in c Regarding the distances between setae, most of the variables were located in the first component (v2-v2, sc1-sc1, c3-c3, d1-d1, d2-d2, e2-e2, f1-f1, h2-h2 and h3-h3).

Keywords: Tetranychidae, morphology, ITS2 region, lewisi mite

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Eotetranychus lewisi (McGregor) fue reportado por primera vez en 1942 como un ácaro polífago conocido vulgarmente como ácaro blanco, registrado en más de 60 hospederos alrededor del mundo, entre ellos cultivares de fresa, uva, zanahoria blanca, durazno, flor de pascua, frambuesa y cítricos tales como limón y naranja (Bolland *et al.*, 1978; Navajas *et al.*, 1998) de manera mencionan que esta plaga se alimenta especialmente de hojas y frutas, las hojas que se hallan infestadas por este patógeno presentan decoloraciones, bronceados y deformaciones en la superficie foliar. Este acaro compite directamente con *Tetranychus* spp. por el uso de recursos, de espacio y de alimento (Badii *et al.*, 2010; Semillas del Caribe, 2019).

Es considerado una de las plagas más importantes en el cultivo de Mora (*Rubus glaucus* BENT) debido a que ocasiona gran reducción en la concentración de azúcares solubles en las hojas y de esta manera afecta a la síntesis de almidón (Pérez Santiago *et al.*, 2017), la mora es uno de los cultivos principales en las provincias de Cotopaxi, Chimborazo, Pichincha, Imbabura y Carchi, siendo Bolívar con la mayor producción seguida de la provincia de Tungurahua (Calero, 2010; Barrera *et al.*, 2016).

En Ecuador *E. lewisi* fue registrado por primera vez sobre plantas de zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza* Bancr.) y mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) en la provincia de Tungurahua (Vásquez *et al.*, 2017), otros estudios realizados mencionan que este tipo de acaro presenta una alta capacidad reproductiva lo que tiene como ventaja en su crecimiento poblacional dificultando su control inmediato.

Para la identificación de especies de la familia Tetranychidae se ha utilizado principalmente la descripción de caracteres morfológicos, los cuales pueden presentar variaciones de tamaño, forma y color por especie o relación plaga/hospedero; pero el

método más confiable y seguro es la morfología del edeago (Vásquez *et al.*, 2017), no obstante para diferencias interespecíficas se utilizan medidas de sus setas transversales y longitudinales del idiosoma, las cuales pueden mostrar un rango de diferenciaciones reconocidas únicamente por métodos estadísticos (Carbonnelle *et al.*, 2004; Sánchez *et al.*, 2021).

La identificación morfológica de este ácaro se puede dificultar debido a su tamaño y estructura, sin embargo, para un mejor reconocimiento y diferenciación, plaga/hospedero se recomienda el uso de estudios moleculares (Hillis *et al.*, 2000) siendo los marcadores de códigos de barras los más utilizados (Kiedrowicz *et al.*, 2016).

El código de barras de ADN es considerado como una herramienta rápida y confiable para la identidad taxonómica de una especie estrechamente relacionada entre sí, mediante comparaciones cortas del genoma, teniendo como ventaja la facilidad de secuenciar, amplificar y alinear de manera rápida y concisa (Isabuche, 2019).

La presente investigación tuvo como objetivo determinar la variabilidad de la región ITS2 además de la diferenciación quetotáctica, para cuantificar las distancias génicas y similitudes de poblaciones de *Eotetranychus lewisi* (McGregor) provenientes del cultivo de mora.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Estudios sobre la variabilidad genética que podrían presentar distintas poblaciones de *Eotetranychus lewisi* (McGregor) son escasos en Ecuador, no obstante, se detallan a continuación investigaciones realizadas sobre el acaro en cuestión, su morfología, además de los marcadores moleculares utilizados en otras regiones.

***Rubus glaucus* Bent.**

La mora de castilla es considerada como un híbrido debido a que adopta características de dos subgéneros *Idaeobatus* y *Rubus* (Cruz *et al.*, 2005), es calificada como una fruta no climatérica de vida útil y de ciclo corto, contiene altos contenidos de compuestos orgánicos y bioactivos (Ayala *et al.*, 2013).

Es considerada como una dicotiledónea perteneciente a la familia de las Rosáceas debido a la similitud que poseen con las rosas silvestres (Rubio, 2014). Este cultivo es muy apetecido tanto en el mercado nacional como internacional por sus propiedades nutricionales por el alto contenido de vitamina C, fibra y por ser la fruta con mayor producción de antioxidantes (Cortes, 2013).

E. lewisi fue recolectado en cultivares de mora en la provincia de Tungurahua a una altura de 2895 m.s.n.m. identificándolo como una de las principales plagas que afecta a este cultivo. Las infestaciones se presentan principalmente en todo el desarrollo productivo de la planta. Su reporte representa un riesgo potencial en diversos cultivos

de la Serranía Ecuatoriana especialmente para los productores (Vásquez, *et al.*, 2017; Reséndiz-García *et al.*, 2018).

***Eotetranychus lewisi* (McGregor)**

La especie *E. lewisi* fue demostrada por el Dr. Carlos Flecht-Mann, en la Universidad de São Paulo, por la presencia de dos pares de setas anales y para anales por el empodio que divide en tres pares de pelos dirigidos ventralmente, por medio de estrías idiosomales en forma de lóbulos pequeño. Sin embargo, su identificación también puede darse bajo la morfología del edeago (Sánchez, 2018).

Las colonias de *E. lewisi* se agrupan en el envés de las hojas a lo largo de las nervaduras principales y secundarias, donde forma una telaraña, ocasionando severos daños cubriendo totalmente la lámina foliar algunas veces se ha llegado a confundir con fitotoxicidad (López, 2019). Esta plaga se desarrolla en cinco estadios: huevo, larva, protoninfa, deutoninfa y adulto; las hembras construyen una tela muy fina y delgada en la que se adhieren sus huevos en forma de protección (Miño, 2020).

E. lewisi (McGregor) fue reportado por primera vez en Ecuador por Vásquez *et al.* (2017) en la provincia de Tungurahua, *Arracacia xanthorrhiza* y en *Tropaeolum tuberosum*, especies apetecidas en la zona andina por su alto valor nutritivo, los principales síntomas que se observa es el color amarillamiento y distorsiones en las hojas.

Estudios de Quetotaxia

Las hembras de *E. lewisi* se caracterizan porque las setas dorsales se ensanchan más allá de las bases de la siguiente fila, el edeago característico del macho debe mostrar una forma gradual con presencia de una curva ventral sigmoidea amplia (Sánchez,

2018; Timbila, 2020). Para el estudio morfológico de *E. lewisi*, se instala bajo el lente de un estereoscopio, una placa del acaro reposado en PVA o alcohol poli vinílico donde son considerados los siguientes parámetros: largo y ancho del idiosoma al igual que el largo de las setas dorsales del idiosoma; por otro lado, Sánchez (2018) manifiesta que *E. lewisi* presenta mayor variación en las setas h1, h2 y en longitud h2 en comparación con *T. urticae*.

Los ácaros tetranynchidae poseen de 12 a 16 pares de setas dorsales en el idiosoma las cuales se dividen en: dos pares de setas humerales, tres pares de setas dorsocentrales, tres pares de setas dorsolaterales y dos pares de setas sacras (Gerrero & Bellotti, 1983).

Estudios Moleculares

Debido a la difícil identificación de ácaros por su semejanza fenotípica entre ellos, se ha considerado a los marcadores moleculares dentro del género *Tetranychus* como una herramienta para la clasificación y adquisición de rasgos filogenéticos, teniendo como ventaja el progreso rápido de la región ITS2 (Isabuche, 2019). Entre los marcadores moleculares más usados están los que estudian la variabilidad genética comparando las secuencias del segundo espaciador interno transcrito (ITS2) ya que nos permite seleccionar sitios precisos dentro de la molécula ADN, en individuos del mismo género, es decir la caracterización de la misma a partir de taxones (Cruz *et al.*, 2005; Díaz, 2017).

Para la extracción de ADN dentro de los ácaros se toman en cuenta a especímenes hembras en estado adulto, descrito en el protocolo de Martín y García (2001), donde se utilizó como método la lisis de extracción que contiene EDTA, Tris-HCl, y 3% SDS, pudo observar las longitudes en pares de bases y los fragmentos iniciales y finales del ADNr (Martín *et al.*, 2001).

Gerrero *et al.* (1983) extrajo y purificó ADN de un acaro nematófago *C. mycophaga*, utilizando dos secuencias: Fw-ITS2: 5' y el Rv-ITS2:5' los cuales produjeron 488 pb. Para la amplificación de la región ITS2 en PCR se utilizó 100µl de ADN obteniendo valores de pureza entre 1.8 a 2.0 la misma que fue confirmada por gel de agarosa al 3% y secuenciada a la vez obteniendo como resultado que el fragmento de la región ITS2, fue del 99 % idéntico del mismo con la secuencia.

Estudios realizados por Rodríguez Plá (2016), donde compararon secuencias del espaciador interno (ITS2) de *Dermacentor reticulatus* y *D. marginatus* (Acari: Ixodida), obteniendo como resultados iguales características morfológicas, lo que sugirieron una posible homogeneidad entre ambas especies. Sin embargo, Auger *et al.* (2013) dieron a conocer las diferencias genéticas entre poblaciones de *Tetranychus urticae* procedentes de varias plantas hospederas y diferentes zonas geográficas: Francia, España, Italia y Grecia; basándose en la electroforesis de la secuencia del ITS2 y en ensayos de compatibilidad reproductiva, obteniendo como resultados que las poblaciones de España y Francia eran genéticamente distintas en comparación con las procedentes de Italia y Grecia.

Arimoto *et al.* (2013) analizaron a 14 especies de *Tetranychus* de diferentes estados, donde secuenciaron 15 poblaciones en las cuales se determinó el polimorfismo en la longitud de restricción existente mediante la amplificación por PCR donde *T. urticae* y *T. turkestanii* mostraron similitud entre ellas, a su vez, la homogeneidad de sus patrones en la secuenciación fragmentada de ITS2 fue resaltante, aunque esté distribuida en distintos puntos geográficos la especie. Lo que nos da a conocer la evolución de los estudios de ácaros utilizando ITS2 en población de *T. urticae* (Navajas *et al.*, 1998).

2.2 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES O MARCO CONCEPTUAL

2.2.1 Variable independiente: Marcadores Moleculares (Región ITS2)

Un marcador molecular es una fracción de ADN que se identifica en sitios específicos del genoma, tiende a marcar la posición de un gen en particular con las características deseadas, muy utilizados para análisis filogenéticos, o por consiguiente buscar genes de interés, entre ellos unos de los más utilizados son los de ITS2; estos marcadores constituyen una parte promisoría para la diferenciación entre individuos del mismo género a partir de taxones (Díaz, 2017).

La región ITS2 es considerada como uno de los códigos de barras de ADN, tiene la disponibilidad de regiones conservadas para diseñar cebadores universales, la facilidad de su amplificación, y suficiente variabilidad para distinguir incluso especies estrechamente relacionadas (Navajas *et al.*, 1998; Yao *et al.*, 2010). La caracterización del ITS2 en distintas especies de ácaros permite elaborar esquemas de identificación de especies Tetranychus y Eotetranychus por polimorfismo de longitud de fragmento es decir variaciones de las secuencias (Arimoto *et al.*, 2013).

Se deduce entonces que los códigos de barras de secuencia de ADN-ITS2 pueden servir como herramientas efectivas para la identificación de especies y pueden ser aplicables como una herramienta de diagnóstico para cuarentena u otras actividades de manejo de plagas (Ben-David *et al.*, 2007).

2.2.2 Variable dependiente: Cultivo de mora (*Rubus glaucus* Bent.)

2.2.2.1 Origen del cultivo de Mora

La mora de Castilla (*Rubus glaucus* Bent), también conocida como mora andina o mora negra, fue descubierta por Hartw y descrita por Benth. Es originaria de América y cultivada en la región Andina del Ecuador, es una planta silvestre de gran importancia económica y cultivada especialmente en localidades de Tungurahua, Chimborazo, Bolívar, Cotopaxi, Pichincha, Carchi e Imbabura (Garzón *et al.*, 2015). De acuerdo a Calero (2010), Ecuador logro una producción de 6,388 TM/año lo cual significa que nuestro país se encuentre en el puesto 14 de los productos mundiales de este rubro.



Figura 1. Planta de mora

2.2.2.2 Clasificación Taxonómica de la Mora

La mora (*Rubus glaucus* Bent.) taxonómicamente se clasifica de la siguiente manera:

Tabla 1. Clasificación Taxonómica de la Mora

Taxón	Denominación
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Rosales
Familia:	Rosaceae
Tribu:	Rubeae
Género:	<i>Rubus</i>
Especie:	<i>glaucus</i>
Nombre Binomial:	<i>Rubus glaucus</i> Bent.
Nombre Común:	Mora, mora de Castilla

Fuente: Adaptado de Aguinaga *et al.* (2013)

2.2.2.3 Generalidades del cultivo de Mora (*Rubus glaucus* Bent.)

La mora, pertenece a la familia de las rosáceas y es una planta herbácea anual, perenne, semi-erecta y tipo trepadora. Su nombre proviene del latín *Rubus* que significa “rojo” por el color del fruto y *glaucus* “blanquecina” en referencia al color del envés de las hojas (Franco *et al.*, 2008; Ávila Cubillos, 2015).

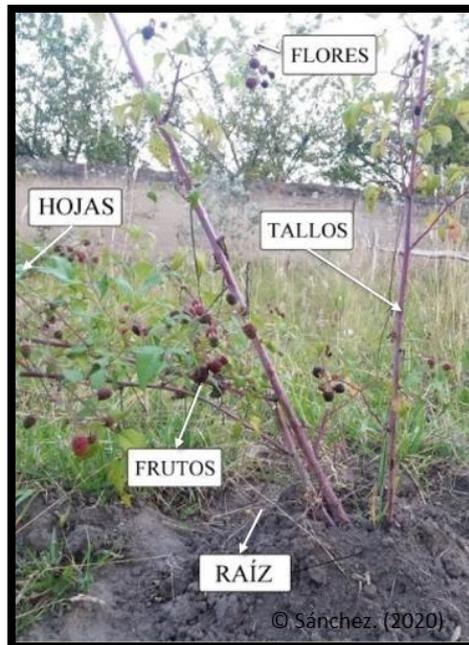


Figura 2. Partes de la planta de mora

Tabla 2. Descripción botánica y morfológica de la mora

Parte	Características
Raíz:	La mora presenta una sola raíz principal gruesa, la misma que forma varias raíces laterales, siendo racimosas, filiformes, nudosas y poco profundas.
Tallos:	Posee tallos espinosos, erguidos y semi-rastreros que forman macollos, son muy ramificados y de longitud variable.
Hojas:	Sus hojas son trifoliadas con bordes aserrados, el haz de color verde oscuro y el envés de color blanco son apeticidas por la gran cantidad de clorofila que posee esta planta.
Flores:	Presentan flores alternadas, trifoliadas y ovoides con brotes acerrados y con espinas en la parte inferior.
Frutos:	Son polidrupas de color rojo o púrpura formado por 70 a 100 drupas que se adhieren al receptáculo y dentro de cada drupa, existe una semilla y que cada fruto contiene de 100 a 120 semillas.
Semillas:	Cada fruto tiene alrededor de 65 semillas diminutas, de color café claro, pubescentes, la semilla está clasificada dentro del grupo de las ortodoxas.

Fuente: Romolerux (1996), Franco *et al.* (1999), Benato *et al.* (2001), Franco *et al.* (2014) e Iza Yugcha (2018).

2.2.2.4 Requerimientos del cultivo de mora

Se adapta a una gran variabilidad de ambientes, pero se establece mejor en un clima templado a frío, es por ello que la mayor producción de mora se encuentra dentro del callejón interandino por lo que requiere de:

Tabla 3. Requerimientos climáticos del cultivo de mora

Requerimiento	Detalles
Temperatura:	Entre 14 - 19 °C, considerándose a los 14°C como la temperatura media anual óptima.
Luminosidad:	Adaptable a condiciones de alta luminosidad como a zonas con un poco de neblina.
Altitud:	Es recomendable desde los 1.800 a los 2.500 metros sobre el nivel del mar, es sensible a heladas.
Suelo:	Suelos con buen drenaje y buena humedad; en especial suelos de tipo areno-arcilloso, franco-arcilloso, franco-arenosos y los francos, con un pH de 6.5 a 7.5.
Precipitación:	El cultivo de mora requiere entre 800 y 1.500 mm. de lluvia, si existe déficit de pluviosidad se debe cubrir con riego adicional.

Fuente: Adaptado de Molina (2003) y Franco *et al.* (2008)

2.2.2.5 Plagas del cultivo de mora

Tabla 4. Plagas del cultivo de mora

Nombre	Daño causado en la planta
<i>Eotetranychus lewisi</i> :	En los reciente años se ha identificado el ataque de este acaro en diferentes cultivos de la zona andina y entre estos esta la mora, los daños causados son muy similares a los de <i>T. urticae</i> y a estas especies se las puede confundir debido a que son muy parecidas en daño, y fenotípicamente.
Araña roja (<i>Tetranychus urticae</i>):	Larvas, ninfas y adultos causan daños en las plantas hospedantes, debido a que se alimentan de su savia. Suelen estar en el envés de las hojas, donde perforan las células para succionar su contenido, la destrucción de las mismas disminuye la fotosíntesis, aumenta la transpiración y reduce el crecimiento de la planta. Al aumentar los daños, las hojas se vuelven amarillas y se necrosan.
Mosca de la fruta (<i>Anastrepha</i> sp.):	Con mayor importancia económica, es una larva masticadora cuyo daño ocasiona la caída y destrucción de los frutos.
Trips (<i>Frankliniella</i> sp.):	Insectos chupadores provocan es la caída de los pétalos, aborto de las flores y deformaciones en los frutos.

Fuente: Calero (2010), Vásquez *et al.* (2017) y Toledo (2020).

2.2.2.6 Enfermedades del cultivo de mora

Tabla 5. Enfermedades del cultivo de mora

Nombre	Daño causado en la planta
Pudrición del fruto (<i>Botrytis cinerea</i>):	Su principal daño es la pudrición, necrosamiento y quemaduras en los frutos, provoca daños en hojas y tallos.
Roya (<i>Manicia</i> sp.):	Afecta a las hojas con manchas de coloración morada y anaranjada, se presenta mayormente en épocas secas del año.
Mildiu Polvoso (<i>Oidium</i> sp.):	Los daños que produce esta enfermedad se observan en el haz donde se notan franjas cloróticas amarillas y arrugamientos.
Mildiú Velloso (<i>Peronospora</i> sp.):	Ocasiona cuarteamientos en el tallo y hojas con presencia de ampollas blanquecinas y producen la decoloración de los frutos.

Fuente: Calero (2010) y Toledo (2020).

2.2.3 Unidad de análisis: Ácaro (*Eotetranychus lewisi* McGregor)

2.2.3.1 Distribución geográfica de *Eotetranychus lewisi* (McGregor)

Datos anteriores mencionan que el daño por *Eotetranychus lewisi* (McGregor) ocurre principalmente en la región neártica, donde se alimenta tanto de especies de plantas silvestres como cultivadas. Registrándose también en la región neotropical, incluyendo Bolivia, Chile, Colombia, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Panamá y Perú (Vásquez *et al.* 2017).

Se han registrado ataques en fresa, cítricos, flor de pascua, *Prunus vitis*, *Rubus glaucus*, *Rubus idaeus* y *Carica papaya*. En Ecuador en zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza* Bancr.) de peciolos y nervaduras de color púrpura y mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavon). Ataca a numerosos cultivos de importancia económica como maíz, algodón, rosas, claveles, fresas, cítricos, vid, frutales y plantas ornamentales (Vásquez *et al.* 2017).

2.2.3.2 Descripción taxonómica de *Eotetranychus lewisi* (McGregor)

McGregor (1943) describe por primera vez una nueva especie de acaro, plaga importante que afectaba cítricos en el suroeste de California, taxonómicamente se clasifica de la siguiente manera:

Tabla 6. Descripción taxonómica de *Eotetranychus lewisi* (McGregor)

Taxón	Denominación
Reino:	Animalia
Filo:	Arthropoda
Clase:	Arachnida
Subclase:	Acari
Orden:	Prostigmata
Familia:	Tetranychidae
Género:	<i>Eotetranychus</i>
Especie:	<i>lewisi</i>
Nombre Binomial:	<i>Eotetranychus lewisi</i> (McGregor)

Fuente: Adaptado de McGregor (1943).

2.2.3.3 Características de *Eotetranychus lewisi* (McGregor)

Fue descrito por McGregor en 1943, pertenece a la familia Tetranychidae de características similares a *Tetranychus urticae* (Koch), diferenciándose por el tamaño y por el número de manchas oscuras en su cuerpo. Con relación al daño, esta especie extrae la clorofila de las células a través de sus piezas bucales en este caso con la ayuda del estilete que posee, causando inicialmente amarillamientos y posterior enrojecimiento del follaje lo que produce debilitamiento de las plantas e incluso en casos extremos defoliación. Al igual que en otros casos de ácaros, el ataque se observa en forma localizada (Sazo Rodríguez *et al.* 2003, Flores *et al.* 2007).

2.2.3.4 Ciclo Biológico del Ácaro

El ciclo de vida varía desde 21 a 30 días lo que involucra que en ciertas condiciones ambientales pueda ocasionar un aumento rápido de sus poblaciones (Beltrán *et al.* 2004, Colcha Rovalino, 2013). Cuenta con cinco estadios que van desde: Huevo, larva, primer estado ninfa (protoninfa), segundo estado ninfal (deutoninfa), y adulto. Las larvas poseen tres pares de patas en cambio las ninfas y adultos cuatro pares durante todo su ciclo de vida atravesando de un estadio a otro a través de mudas.

1. **Huevo:** Los huevos al inicio son de color blanco y cristalino, presenta una particular forma esférica. Las hembras oviponen 2 a 3 huevos por día, cerca de la nervadura principal; que cubren con finos hilos de seda para su protección, a su vez estos hilos también forman microclimas para que los ácaros puedan sobrevivir (Sánchez, 2019).



Figura 3. Detalle de los huevos de *E. lewisi* (McGregor)

2. **Larva:** Posee tres pares de patas son de color blanco, a medida que pasan los días se tornan de color amarillo-verdoso.



Figura 4. Larva de *E. lewisi* (McGregor)

3. **Protoninfa y deutoninfa:** En estos estadios se observa que los ácaros presentan cuatro pares de patas, se hace evidente sus manchas de color negro alrededor de su cuerpo, el tamaño del ácaro sigue en aumento (Reyes-Bello *et al.* 2011).

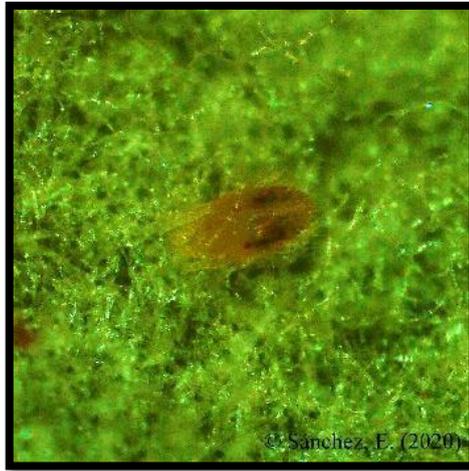


Figura 5. Protoninfa de *E. lewisi* (McGregor)

4. **Estados de quiescencia:** Se encuentran en inmovilidad por lo tanto no se alimentan, pero se cubren con la exuvia hasta que se desprenden de ella, pasando de protocrisalida a protoninfa, deutocrisalida a deutoninfa y teliocrisalida a adulto (Reyes-Bello *et al.* 2011).



Figura 6. Acaro en estado de quiescencia

5. **Adulto:** Se evidencia ya el dimorfismo sexual en ambos sexos, la hembra adulta de *Eotetranychus lewisi* (Mc. Gregor) presenta una forma globosa, color amarillo-verdoso con varias manchas oscuras situadas a ambos costados del cuerpo y de aproximadamente 0.25 mm de longitud (Reyes-Bello *et al.* 2011). Se establecen en el envés de las hojas y generalmente es más pequeño que *T. urticae*. El macho en tanto, es de menor tamaño y el extremo posterior más aguzado (Sazo Rodríguez *et al.* 2003).

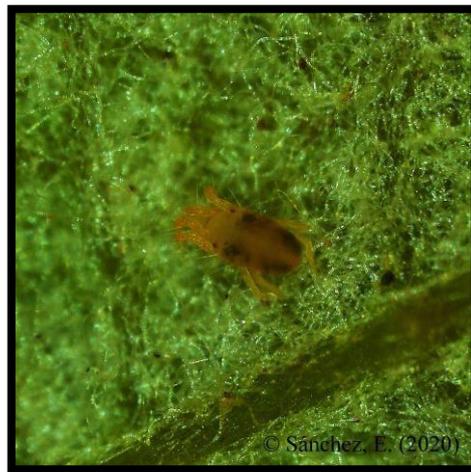


Figura 7. Hembra adulta de *E. lewisi* (McGregor)

2.2.3.5 Condiciones de desarrollo *Eotetranychus lewisi* (McGregor)

De acuerdo con Mendoza (2016), se considera que la presencia de los ácaros está asociada a periodos secos y temperatura alta, sin embargo en el ambiente, las poblaciones son permanentes, disminuyendo de cierta manera en periodos de lluvia, la temperatura favorable para su desarrollo oscila entre 27 a 3°C con una HR de 60±10% con un fotoperiodo de 12 (D:N).

Adicionalmente Páramo *et al.* (1986) manifestaron que a 23 ± 2°C y 85 ± 5% HR pueden eclosionar alrededor de 7 días y el período para cada estadio esta entre 1,5 y

1,8 aproximadamente en hojas de frejol (*Phaseolus vulgaris*) desarrollándose por completo a los 17 días. Por otra parte, Salinas (2013) menciona que su desarrollo se completa en 7 días a una °T de 30°C y a los 17 días con una °T de 20 °C con una HR del 80%.

Por otra parte, la temperatura para la incubación se encuentra entre 14 y 34°C alrededor de 20 días, en cambio durante la estación invernal las hembras entran en una etapa de diapausa debido al acortamiento de los días, poca alimentación y bajas temperaturas (Martínez Villar, 2016).

2.3 OBJETIVOS

2.3.1 Objetivo general:

- Determinar la variabilidad poblacional de *Eotetranychus lewisi* (McGregor) en el cultivo de mora, mediante análisis molecular en base a distancias genéticas entre diferentes poblaciones de ácaros.

2.3.2 Objetivos Específicos:

- Cuantificar la distancia genética en segmentos de ADN en la región ITS2 en ADN Ribosomal en poblaciones de *E. lewisi* en cultivo de mora.
- Determinar las características morfológicas y moleculares de poblaciones de *E. lewisi* provenientes del cultivo de mora.
- Establecer relaciones entre las diferencias morfológicas y genéticas en poblaciones de *E. lewisi* recolectadas en plantas de mora.

2.4 HIPÓTESIS

La variabilidad de la región ITS2 en poblaciones de *Eotetranychus lewisi* (McGregor) en el cultivo de Mora, mostrará significativamente la variabilidad de una secuencia génica mediante marcadores moleculares.

CAPITULO III

METODOLOGÍA

3.1 EQUIPOS Y MATERIALES

3.1.1 Equipos

- Balanza Analítica
- Cámara de electroforesis
- Autoclave
- Microcentrifuga
- Termociclador
- Transluminador UV
- Baño María
- Vortex
- Estereoscópico-microscopio

3.1.2 Materiales

- Lámpara de alcohol
- Piceta
- Porta y cubre objetos
- Puntas azules de 1000um
- Puntas rosadas de 10um
- Puntas amarillas 200 um
- Tubos eppendorf
- Frascos azules
- Frascos Ambar
- Pinzas
- Parafilm
- Agujas de examinación

- Espátula
- Vidrio reloj
- Probetas de 1000- 100- 10
- Fundas herméticas de plástico
- Guantes
- Papel toallin
- Tijera
- Marcador de tinta indeleble
- Tubos de PCR
- Algodón
- Papel aluminio
- Papel filtro

3.1.3 Reactivos

- Tris HCl
- Buffer TBE 10x
- EDTA
- NaCl
- Cloroformo Isomyl alcohol
- Etanol al 100%
- CTAB (Bromuro de exadecil-trimetil amonio)
- Proteinaza
- RNasa
- Isopropanol
- Agarosa
- Na (OH)
- Syber Green
- Green taq mm2
- H2O ultra pura
- Mg 25mm

- Ladder
- Loading
- PVA
- Primer ITS (Forward: S'ATATGCTTAAATTCAGCG and reverse: S'GGGTCGATGAAGAACGC)
- Acetato de sodio

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Investigación

El presente trabajo de investigación titulado “DETERMINACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE LA REGIÓN ITS2 EN POBLACIONES DE *Eotetranychus lewisi* (MCGREGOR) EN EL CULTIVO DE *Rubus glaucus* BENT (MORA)” se realizó en la Granja Experimental Docente Querochaca, propiedad de la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias, ubicada en el sector de El Tambo, parroquia la Matriz, del cantón Cevallos, provincia de Tungurahua. Sus coordenadas geográficas son 1°21'02” de latitud Sur y 78°36'21” de longitud Oeste, a una altitud de 2868 m.s.n.m.

3.2.2 Material Vegetal

Las muestras vegetales de mora (*Rubus glaucus* Bent) fueron recolectadas en cuatro localidades Cevallos, Quero, Montalvo y Pasa, ubicadas en la provincia de Tungurahua, representando tres pisos altitudinales.

3.2.3 Características del Lugar

3.2.3.1 Clima

a) Condiciones Ambientales en Campo

Cada una de las localidades tienen condiciones ambientales diferentes:

Tabla 7. Localidades donde se recolecto las muestras de mora

Localidad	Coordenadas geográficas	Altitud	Clima predominante
Cevallos	1°20'30.83" S 78°37'12.41" O	2892 m.s.n.m.	Temperatura promedio: 13.2°C Precipitación: 603 mm/año
Quero	1°22'23.60" S 78°36'13.56" O	2895 m.s.n.m.	Temperatura promedio: 12.8°C Precipitación: 590 mm/año
Montalvo	1°20'02.75" S 78°37'58.37" O	2959 m.s.n.m.	Temperatura promedio: 13°C Precipitación: 500 mm/año
Pasa	1°16'02.67" S 78°42'45.61" O	3116 m.s.n.m.	Temperatura promedio: 13.3°C Precipitación: 1000 mm/año

Fuente: Elaborado por Sánchez, E. (2020)

b) Condiciones en Laboratorio

El experimento se llevó a cabo en las instalaciones y laboratorios de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, ubicados a 19 km aproximadamente al Sureste de Ambato, en el Campus de Querochaca.

Tabla 8. Condiciones para el experimento en laboratorio

Localidad	Coordenadas geográficas	Altitud	Temperatura	Humedad
Laboratorios de Investigación de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, Campus Querochaca.	1°21'02" S 78°36'21" O	2869 m.s.n.m.	Entre 13,5°C y 14,5°C	Entre 72,4% y 77,25%

Fuente: Elaborado por Sánchez, E. (2020)

3.2.4 Factores En Estudio

1. Segmentos variables de ADN.
2. Cuatro localidades
3. Poblaciones de *Eotetranychus lewisi* (McGregor) en cultivares de mora.

3.2.5 Tratamientos

- Poblaciones de *Eotetranychus lewisi* (McGregor)

Tabla 9. Cuadro de tratamientos

		Localidades			
		L1	L2	L3	L4
Repetición	R1	L1R1	L2R1	L3R1	L4R1
	R2	L1R2	L2R2	L3R2	L4R2
	R3	L1R3	L2R3	L3R3	L4R3
	R4	L1R4	L2R4	L3R4	L4R4

Para cada uno de los tratamientos se utilizó el primer ITS2 (forward and reverse) el cual tiene como objetivo identificar sitios específicos del genoma, es decir son aquellos que amplifican de forma aleatoria segmentos de ADN. Una vez incorporados los marcadores al gen de interés se realizó la reacción en (PCR) este proceso es igual a una fotocopia molecular ya que amplifica cientos de veces una misma secuencia específica de ADN.

3.2.6 Diseño Experimental

Este estudio se realizó a través de un muestreo aleatorio simple por lo que no hubo un diseño experimental específico, para esto se tomaron muestras de cuatro localidades en las que se trabajó con un primer y con cuatro repeticiones por localidad.

3.2.7 La recolección de muestras vegetales

Se recolectaron hojas de mora con signos de infestación de ácaros de la especie *Eotetranychus lewisi*, se cubrieron con papel toallín se colocaron en fundas plásticas de cierre hermético las mismas que fueron etiquetadas con el nombre del lugar, altitud, coordenadas geográficas, fecha, número de planta, para ser llevadas al laboratorio de Entomología del edificio de Investigación de la Facultad de Ciencias Agropecuarias.



Figura 8. Recolección de muestras vegetales

En el laboratorio se examinaron las muestras con la ayuda de un estereoscópico en el cual se identificó a dicha especie por sus variadas manchas alrededor del cuerpo determinando de esta manera la presencia de poblaciones del ácaro objeto de estudio (Reyes-Guerrero *et al.*, 2010).

3.2.8 Identificación y caracterización del acaro

Se colocó las hojas de mora infestadas de *Eotetranychus lewisi* en el estereoscópico, donde fueron examinadas para así poder seleccionar. Con la ayuda de la Clave Taxonómica de Gutiérrez (1985) y Aguilar *et al.*, (2008).

Se preparó láminas con porta y cubre objetos, con especímenes machos y hembras usando PVA, donde se determinó la forma del edeago. Para la morfología se usó específicamente a las hembras a las cuales se les midió en micras todas sus setas transversales y longitudinales.

3.2.9 Determinación del ciclo de vida de *E. lewisi* en hojas de mora

- a. Para determinar el ciclo de vida de *Eotetranychus lewisi* se procedió a montar varias cajas Petri con almohadillas circulares de poliuretano de 1 cm de espesor, donde se colocaron hojas de mora sanas con el envés hacia arriba y con una hebra de algodón humedecido en los bordes de la hoja con el fin de impedir el escape de los ácaros.



Figura 9. Reproducción del acaro

- b. De cada localidad se preparó 4 arenas, en cada arena se colocaron 30 hembras y dos machos de *Eotetranychus lewisi*, diariamente las 16 arenas fueron humedecidas para mantenerlas húmedas y preservar la turgencia de la hoja.
- c. Se contabilizó el número total de huevos por arena teniendo una cantidad de 100 a 120 huevos, además del número de larvas que sobrevivían hasta llegar al estado adulto (Sánchez, E. 2019).

3.2.10 Extracción de ADN de *E. lewisi* (McGregor)

- a. De los ácaros hembra adultos de dos días de transformado en adulto para tener una muestra uniforme. Se fue colocando hasta completar un tubo Eppendorf, 30 especímenes de cada localidad para ser almacenado en refrigeración a -21°C , con el fin preservarlos.
- b. Para la extracción del ADN se utilizó el método descrito por Doyle (1990), el mismo que consistió en aumentar la cantidad de buffer de isopropanol para la obtención de precipitados.



Figura 10. Extracción de ADN de *E. lewisi*

- c. Con la ayuda de puntas se procedió a triturar las muestras con 30 ácaros hembras utilizando CTAB al 10% con 10 ulProteinasaK, las muestras obtenidas fueron llevadas a baño María a una temperatura de 65°C durante una hora, para centrifugarlas a 14000 RPM durante 10 minutos, incorporando el alcohol isoamilico con cloroformo e inmediatamente se transfirió la fase acuosa un nuevo Eppendorff, en el cual se añadió el isopropanol llevándolo a -20°.
- d. Por último, se añadió 10 ul RNasa y 50ul de Buffer TBE y se incubo a 37°C por 30 minutos en baño María.

3.2.11 Protocolo para la amplificación de ITS2

Para la amplificar el ADN de la población de ácaros se siguió los métodos usados por Sánchez *et al.* (2021) y por Osakabe *et al.* (2000), usando los segmentos de ADN ya extraídos en 6ul de Phusion Taq, 3ul H₂O ultra pura y una mezcla de 1.5ul de Primer mix de ITS2.

Para la reacción en cadena de la polimerasa se realizó en un termociclador en tiempo final, los siguientes ciclos: un ciclo de pre-desnaturalización a 94 °C por 4min, 35 ciclos de des- naturalización de a 94 °C por 30seg, alineación 51°C por 40 seg, acoplamiento 72 °C por 40 seg, post acoplamiento 72 °C por 10min y preservación de 4°C hasta su utilización.



Figura 11. Amplificación de ITS2

3.2.12 Procesamiento de la información

- a. Para el procesamiento de información de la secuenciación de ADN de *Eotetranychus lewisi* (McGregor) se debe usar la plataforma BLAST del NCBI (National Center for Biotechnological Informatics), cuyo objetivo tiene interpretar los análisis de ADN que se extraen.
- b. Se Analizó los componentes principales del ADN usando el programa estadístico NTSYS-PC versión 2.1 para estimar las relaciones genéticas entre poblaciones.
- c. Se cuantificaron las relaciones entre los caracteres morfológicos y moleculares de acuerdo a las poblaciones de ácaros y los diferentes hospederos.
- d. Se estableció las relaciones génicas entre poblaciones de *Eotetranychus lewisi* (McGregor) de las cuatro localidades de la provincia de Tungurahua.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Variabilidad poblacional mediante análisis molecular en base a distancias genéticas entre diferentes poblaciones de ácaros

En la Tabla 10 se detallan las amplificaciones de la región ITS2 procedentes de las poblaciones de ácaros recolectadas en las cuatro localidades estudiadas, Cevallos (C), Quero (Q), Montalvo (M) y Pasa (P), este fragmento está conformado por 545 pares de bases (pb) arrojando un 2,39% de diferencia y un 97,61% de similitud entre localidades.

Isabuche (2019) en su investigación sobre la variabilidad de la región ITS2 en poblaciones de acaros (*Tetranychus urticae* Koch) en el cultivo de *Arracacia xanthorrhiza* Bancr. Encontró que el fragmento ITS2 hallado en poblaciones de este acaro en tres localidades de la provincia de Tungurahua, esta secuencia tubo 277 pb, existiendo un 91,34% de similitud y un 8,66% de diferencia. En el análisis de cada una de las bases nitrogenadas obtuvo resultados poco variables, Adenina con 36,28% para Baños; 35,86% para Quinchicoto y 36,75% para Querochaca, Timina con 42,19% para Baños; 40,92% para Quinchicoto y 41,77% para Querochaca, respectivamente manteniendo rangos idénticos. En cuanto a Citosina y Guanina los valores porcentuales son inferiores a A y T, teniendo que en Baños existe un 18,56% de C y un 19,83% de G; Quinchicoto tiene un 20,67% de C y 19,83% de G y en Querochaca un 19,4% de C y 18,98 de G. En cuanto a estas relaciones los valores porcentuales presentados, demuestran la diferencia hay entre las distintas poblaciones de ácaros estudiadas, aparte los pisos altitudinales influyen en el distanciamiento genético existente.

Tabla 10. Fragmento ITS2 con 545 pb (Adenina-A; Citosina-C; Guanina-G y Timina-T) de *E. lewisi* recolectados en plantas de *R. glaucus* en cuatro localidades.

Localidad	Bases nitrogenadas	pb
Cevallos	TATACGAATTTAAGTCGCCCTGTGTACATCCTTCTAAAGAGTTGAGAAGTGAAAATATAA	60
Quero	TATACGAATTTAAGTCGCCCTGTGTACATCCTTCTAAAGAGTTGAGAAGTGAAAATATAA	60
Montalvo	TATACGAATTTAAGTCGCCCTGTGTACATCCTTCTAAAGAGTTGAGAAGTGAAAATATAA	60
Pasa	TATACGAATTTAAGTCGCCCTGTGTACATCCTTCTAAAGAGTTGAGAAGTGAAAATATAA *****	60
C	ACTACACACTGATCAATGCCTGAGAAACATTGAATCTTATGTGTAGAGATGATATTTATT	120
Q	ACTACACACTGATCAATGCCTGAGAAACATTGAATCTTATGTGTAGTATGATATTTATT	120
M	ACTACACACTGATCAATGCCTGAGAAACATTGAATCTTATGTGTAGTATGATATTTATT	120
P	ACTACACACTGATCAATGCCTGAGAAACATTGAATCTTATGTGTAGTATGATATTTATT *****	120
C	TATCATCTTGATAGTCTAGTCTTTCCTTAATGGAGAAAATTTGTTTTTCTTTTCATTTA	180
Q	TATCATCTTGATAGTCTAGTCTTTCCTTAATGGAGAAAATTTGTTTTTCTTTTCATTTA	180
M	TATCATCTTGATAGTCTAGTCTTTCCTTAATGGAGAAAATTTGTTTTTCTTTTCATTTA	180
P	TATCATCTTGATAGTCTAGTCTTTCCTTAATGGAGAAAATTTGTTTTTCTTTTCATTTA *****	180
C	GTAAGGAGTTTATCTGCGATAAGTTTGTGCAGTTATCATGCAAACACTTAGAGATTAAAT	240
Q	GTAAGGAGTTTATCTGCGATAAGTTTGTGCAGTTATCATGCAAACACTTAGAGATTAAAT	240
M	GTAAGGAGTTTATCTGCGATAAGTTTGTGCAGTTATCATGCAAACACTTAGAGATCAAT	240
P	GTAAGGAGTTTATCTGCGATAAGTTTGTGCAGTTATCATGCAAACACTTAGAGATCAAT *****	240
C	ATATATTTATATATTAATGCAATATATTTTACCTGGCAGGGGACCCAGAGAATGCTCGTC	300
Q	ATATATTTATATATTAATGCAATATATTTTACCTGGCAGGGGACCCAGAGAATGCTCGTC	300
M	ATATATTTATATATTAATGCAATATATTTTACCTGGCAGGGGACCCAGAGAATGCTCGTC	300
P	ATATATTTATATATTAATGCAATATATTTTACCTGGCAGGGGACCCAGAGAATGCTCGTC *****	300
C	AATCTGCCGACGTTAAAGTCGAACCGCGGATTTAAATGACGCATAGAAAAGGCTTCTCAA	360
Q	AATCTGCCGACGTTAAAGTCGAACCGCGGATTTAAATGACGCATAGAAAAGGCTTCTCAA	360
M	AATCTGCCGACGTTAAAGTCGAACCGCGGATTTAAATGACGCATAGAAAAGGCTTCTCAA	360
P	AATCTGCCGACGTTAAAGTCGAACCGCGGATTTAAATGACGCATAGAAAAGGCTTCTCAA *****	360
C	ACAAATGGGTCTCGATTGCAATTTAAGGTGAAATGGCTGTAAATATTATATATATTGTCTC	420
Q	ACAAATGGGTCTCGATTGCAATTTAAGGTGAAATGGCTGTAAATATTATATATATTGTCTC	420
M	ACAAATGGGTCTCGATTGCAATTTAAGGTGAAATGGCTGTAAATATTATATATATTGTCTC	420
P	ACAAATGGGTCTCGATTGCAATTTAAGGTGAAATGGCTGTAAATATTATATATATTGTCTC *****	420
C	TTATTGTCTTTTGTAAATGTGCACAATTTTATTAGCTCAATGAAGCACTCTGTTTGTTTTC	480
Q	TTATTGTCTTTTGTAAATGTGCACAATTTTATTAGCTCAATGAAGCACTCTGTTTGTTTTC	480
M	TTATTGTCTTTTGTAAATGTGCACAATTTTATTAGCTCAATGAAGCACTCTGTTTGTTTTC	480
P	TTATTGTCTTTTGTAAATGTGCACAATTTTATTAGCTCAATGAAGCACTCTGTTTGTTTTC *****	480
C	CGAACCATTTTCTTATACTTTGATCTCAGAGCAGGTGAGGCTACAGCTGCGTTCTTCATC	540
Q	CGAACCATTTTCTTATACTTTGATCTCAGAGCAGGTGAGGCTACAGCTGCGTTCTTCATC	540
M	CGAACCATTTTCTTATACTTTGATCTCAGAGCAGGTGAGGCTACAGCTGCGTTCTTCATC	540
P	CGAACCATTTTCTTATACTTTGATCTCAGAGCAGGTGAGGCTACAGCTGCGTTCTTCATC *****	540
C	GACCC	545
Q	GACCC	545
M	GACCC	545
P	GACCC *****	545

En la figura 12 se puede observar que los porcentajes de las distintas bases nitrogenadas existentes en el fragmento ITS2 de las diferentes localidades estudiadas muestran resultados muy poco variables, tenemos que para Adenina los valores coinciden con un 29,72% para las poblaciones de Cevallos, al igual con un 29,91% coinciden para Montalvo y Pasa. Los porcentajes de Citosina son los mismos para las cuatro ubicaciones con un 17,06%; para Guanina hay poca variación con 18,17% para Cevallos; 18,35% para Quero; 18,72% para Montalvo y un 18,90% en Pasa. Los porcentajes de Timina muestran una mayor variación en Cevallos con 35,05% con respecto a las otras poblaciones que tienen Quero 34,86%, Montalvo 34,31% y Pasa 34,13%; en relación a las cuatro bases nitrogenadas en el fragmento ITS2 hay una mayor presencia de Timina seguida de Adenina, Guanina y finalmente Citosina.

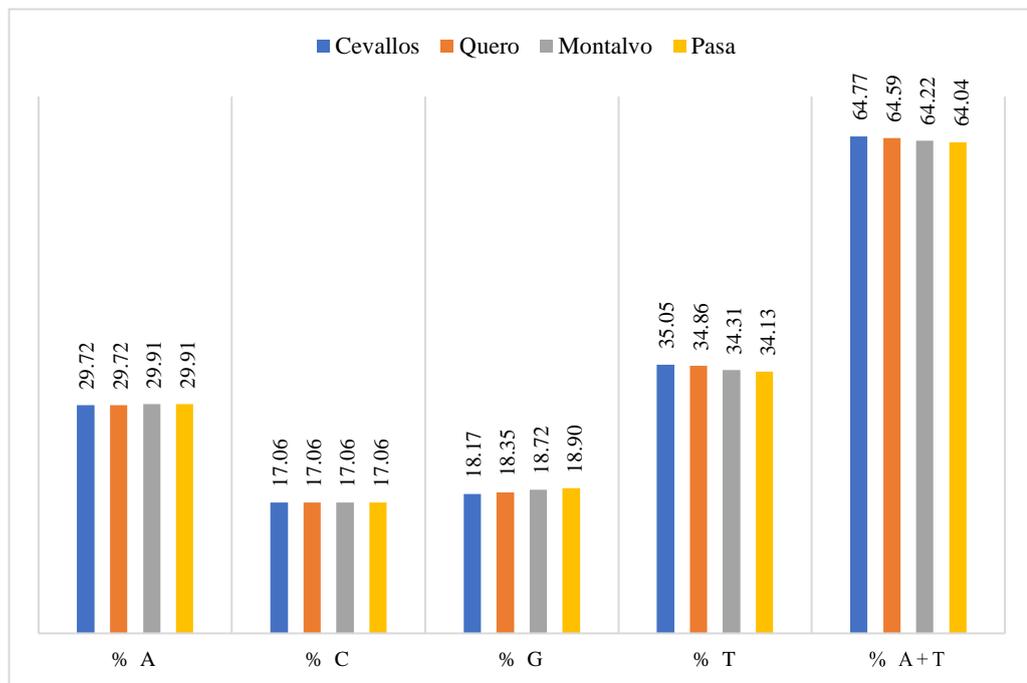


Figura 12. Cantidad porcentual de bases nitrogenadas de los fragmentos de ITS2 amplificados a partir de las poblaciones de *E. lewisi*.

Los valores para la relación A+T para las localidades son similares a los datos arrojados en la investigación realizada por López (2019) al revisar la composición de las bases nitrogenadas del Fragmento ITS2 de *T. urticae* en cultivares de fresa se tiene que hay mayor porcentaje de Timina seguida de Adenina, Guanina y finalmente Citosina mientras que los porcentajes de A+T oscilan entre 67 y 68%.

Al cambiar una base nitrogenada por otra distinta en una secuencia de ADN, se establece el número de sustituciones existentes, en la Tabla 11 se determina el porcentaje de similitud y diferencia de la región ITS2 de las poblaciones estudiadas, entre Cevallos-Quero hay 4 sustituciones con un 99,27% de similitud (0,73% de divergencia), coincidiendo también para las poblaciones de Quero-Montalvo; entre Cevallos-Montalvo hay 8 sustituciones con 98,53% de similitud (1,47% de divergencia); Cevallos-Pasa con 13 sustituciones y un 97,61% de similitud (2,39% de divergencia); Quero-Pasa con 9 sustituciones y un 98,35% de similitud (1,65% de divergencia) y entre Montalvo-Pasa 5 sustituciones con un 99,08% de similitud (0,92% de divergencia).

Tabla 11. Comparación de las sustituciones ocurridas en las bases nitrogenadas del fragmento ITS2 de *E. lewisi* recolectado en las localidades de Cevallos, Quero, Montalvo y Pasa con respecto a su similitud y divergencia.

Localidades	Sustituciones	% Similitud	% Divergencia
Cevallos-Quero	4	99.27	0.73
Cevallos-Montalvo	8	98.53	1.47
Cevallos-Pasa	13	97.61	2.39
Quero-Montalvo	4	99.27	0.73
Quero-Pasa	9	98.35	1.65
Montalvo-Pasa	5	99.08	0.92

Observamos que las poblaciones de Cevallos-Pasa muestran una mayor diferencia con un 2,39% mientras que Cevallos-Quero y Quero-Montalvo no muestran una diferencia notable en los cambios de las bases nitrogenadas en la región ITS2 con un 0,73%.

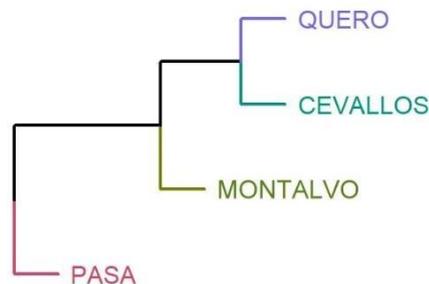


Figura 13. Árbol filogenético de las poblaciones de ácaros recolectadas en las distintas localidades.

De lo que se puede afirmar que entre Cevallos-Quero no hay cambios importantes debido al piso altitudinal (2892 y 2895 m.s.n.m) en el que se encuentran y a otros factores tanto ambientales como geográficos, al igual que el distanciamiento existente entre las poblaciones de Cevallos-Pasa que el piso altitudinal difiere en casi 200 m aprox. (2892 y 3116 m.s.n.m.) de la misma manera existe variación geográfica y climática. Xie et al (2006) sostiene que el distanciamiento genético existente puede estar relacionado directamente a distintos factores ecológicos como geográficos, esto dependerá mucho de la planta hospedera, el hábitat de la especie de acaro, la distancia entre poblaciones, condiciones climáticas o pisos altitudinales.

Naves *et al.* (2021) mencionan que recientemente identificaron un nuevo ataque de *E. lewisi* en zonas de Portugal y Europa por lo que se examinaron hojas de *E. pulcherrima* encontrando ácaros en diferentes estadios de crecimiento por lo que al realizar una identificación morfológica mediante análisis molecular se encontró que la secuencia de la región ITS2 consta de 447 pb por lo que esta nueva secuencia se la puede hallar en la base de datos disponibles en GenBank (NCBI) con el código MW524105.1. Para las comparaciones de las secuencias de las 4 localidades estudiadas se utilizó una secuencia de ITS2 de *E. lewisi* hallada en el GenBank, en la siguiente tabla se detallan las características de esta secuencia:

Tabla 12. Datos del fragmento ITS2 de *E. lewisi* encontrados en el GenBank-NCBI

LOCUS MW524105, 505 bp, DNA linear, INV 31-JAN-2021
 DEFINITION *Eotetranychus lewisi* isolate 19-02071-6 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.
 ACCESSION MW524105
 VERSION MW524105.1
 KEYWORDS .
 SOURCE *Eotetranychus lewisi*
 ORGANISM *Eotetranychus lewisi*
 Eukaryota; Metazoa; Ecdysozoa; Arthropoda; Chelicerata;
 Arachnida; Acari; Acariformes; Trombidiformes; Prostigmata;
 Eleutherengona; Raphignathae; Tetranychoidae; Tetranychidae;
Eotetranychus.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 505)
 AUTHORS Naves, P., Auger, F. and Nobrega, F.
 TITLE Updated and annotated review of Tetranychidae occurring in
 mainland Portugal, the Azores, and Madeira Archipelagos
 JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 505)
AUTHORS Naves, P., Auger, F. and Nobrega, F.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (26-JAN-2021) Genetics Laboratory and Acarology
Laboratory, Instituto Nacional de Investigacao Agraria e
Veterinaria (INIAV), Quinta do Marques, Oeiras 2780-159,
Portugal

Cuantificar la distancia genética en segmentos de ADN en la región ITS2 en ADN Ribosomal en poblaciones de *Eotetranychus lewisi* (McGregor) en cultivo de mora.

4.2. Análisis de componentes principales de las variables morfométricas de hembras de *E. lewisi* colectadas en plantas de mora de cuatro localidades

El Análisis de Componentes Principales (ACP) aplicado a las 14 variables morfométricas (longitud de las setas idiosomales) de *E. lewisi* colectados en plantas de mora de diferentes localidades mostró que 93,14 % de la variación morfométrica de *E. lewisi* en plantas de mora procedentes de diferentes localidades fue explicada en 10 componentes (Tabla 13). Las variables morfométricas que mostraron mayor peso en el componente 1 fueron la longitud de las setas c1, c2, c3, d2, e2, f2 y h3, mientras que en el componente 2, las variables de mayor peso fueron la longitud de las setas Sc1, d1, e1, f1 y f2 (Tabla 14). Adicionalmente, en el componente 3 la longitud de las setas v2, Sc1, Sc2.

Cuando se consideró la variable sobre distancia entre setas se encontró que los primeros 10 componentes explicaron un porcentaje similar que la longitud de setas (94,67%), de los cuales en el primer componente la mayoría de las variables (v2-v2, sc1-sc1, c3-c3, d1-d1, d2-d2, ee2-e2, f1-f1, h2-h2 y h3-h3) mostraron los mayores pesos específicos para explicar la variación de las poblaciones, mientras que en el segundo cuadrante las distancias sc2-sc2, c1-c1, c2-c2 alcanzaron los mayores valores y por último en el tercer componente solo la distancia sc2-sc2 fue relevante (Tablas 15 y 16). Con estos resultados se evidenció la importancia de estas variables morfométricas para la caracterización de la especie y permitió separar las poblaciones

de *E. lewisi* de las localidades Quero y Montalvo, mientras que las poblaciones de Cevallos y Pasa no fueron claramente separadas (Figura 14).

En un estudio realizado por Sánchez *et al.* (2021) se observaron resultados similares, puesto que mediante el Análisis de Componentes Principales se demostró que el 82,2% de la variación observada en ejemplares de *Tetranychus urticae* y *E. lewisi* colectados fue explicada tanto por la especie de planta hospedera (fresa, mora y zanahoria blanca) como de la localidad de muestreo en la provincia de Tungurahua y de lo cual se demostró que las variables morfométricas permitieron separar las poblaciones recolectadas sobre mora, independientemente de la especie. De acuerdo con estos autores, la discriminación poblacional se explica por las diferencias observadas entre la distancia entre las setas f2, d2 y e2 y longitud de las setas v2, d1, e1 y c2, así como la longitud y distancia de h2, así como la longitud de la cl.

Tabla 13. Valores de autovector y porcentaje acumulado de las variables relacionadas con la longitud de setas idiosomales evaluadas en hembras de *E. lewisi* colectados en plantas de mora de diferentes localidades

Componente	Autovector	Porcentaje	Porcentaje acumulado
1	3,45375172	24,67	24,67
2	1,92718426	13,77	38,44
3	1,87590075	13,40	51,83
4	1,19354655	8,53	60,36
5	1,05296196	7,52	67,88
6	0,93237807	6,66	74,54
7	0,87952064	6,28	80,82
8	0,81360096	5,81	86,63
9	0,46280138	3,31	89,94
10	0,44743508	3,20	93,14
11	0,39688950	2,83	95,97
12	0,26037451	1,86	97,83
13	0,16926563	1,21	99,04
14	0,13438899	0,96	100,00

La técnica de Análisis de Componentes Principales ha demostrado ser una herramienta útil para evaluar la homogeneidad de las especies de ácaros. Así, Vásquez *et al.* (2014) demostraron que las poblaciones de *Raoiella indica* colectadas sobre *Cocos nucifera* y *Musa* sp. probaron ser más homogéneas que las colectadas sobre *Adonidia merrillii* y *Washingtonia* sp., lo cual fue corroborado por el análisis genético mediante técnicas PCR-RAPD y a su vez advierte sobre la necesidad de realizar monitoreos continuos para evaluar la diversidad genética de esta especie.

Tabla 14. Peso de cada variable morfométrica por competente resultante del análisis de la variación de la longitud de las setas idiosomales de hembras de *E. lewisi* mediante Análisis de Componentes Principales

Variable morfométrica	Componente principal			
	C1	C2	C3	C4
V2	0,2435	0,0992	<u>0,8182</u>	0,0639
Sc1	0,1799	<u>-0,4949</u>	<u>0,6205</u>	0,1621
Sc2	0,1302	0,0944	<u>0,5840</u>	-0,0869
c1	<u>-0,4806</u>	-0,3060	0,0976	<u>0,5686</u>
c2	<u>0,7688</u>	-0,2607	-0,1696	-0,1850
c3	<u>0,8398</u>	0,1713	-0,0880	-0,1462
d1	0,2889	<u>-0,5932</u>	-0,2744	<u>0,5620</u>
d2	<u>0,6933</u>	-0,0120	-0,1201	0,2009
e1	-0,2536	<u>-0,7262</u>	0,0658	-0,2722
e2	<u>0,6303</u>	-0,3312	-0,0536	-0,2901
f1	-0,0829	<u>-0,5145</u>	-0,3256	-0,2777
f2	<u>-0,4847</u>	<u>-0,4491</u>	0,2485	-0,3533
h2	0,0403	0,0241	0,3535	-0,1721
h3	<u>0,7408</u>	-0,1282	0,2113	0,1752

Tabla 15. Valores de autovector y porcentaje acumulado de las variables relacionadas con la distancia entre setas idiosomales evaluadas en hembras de *E. lewisi* colectados en plantas de mora de diferentes localidades

Componente	Autovector	Porcentaje	Porcentaje acumulado
1	4,4511	31,79	31,79
2	2,2432	16,02	47,82
3	1,3871	9,91	57,72
4	1,1982	8,56	66,28
5	1,1131	7,95	74,23
6	0,7056	5,04	79,27
7	0,6583	4,70	83,98
8	0,6039	4,31	88,29
9	0,4957	3,54	91,83
10	0,3971	2,84	94,67
11	0,3171	2,27	96,93
12	0,2696	1,93	98,86
13	0,1600	1,14	100,00

Tabla 16. Peso de cada variable morfométrica por competente resultante del análisis de la variación de la longitud de las setas idiosomales de hembras de *E. lewisi* mediante Análisis de Componentes Principales

Variable morfométrica	Componente principal			
	C1	C2	C3	C4
v2-v2	<u>0,5243</u>	0,3141	0,3783	0,2872
sc1-sc1	<u>0,5731</u>	-0,0853	-0,2915	<u>0,6610</u>
sc2-sc2	0,3370	<u>0,4662</u>	<u>0,4753</u>	-0,1173
c1-c1	0,2952	<u>-0,8804</u>	0,3227	-0,1218
c2-c2	0,2952	<u>-0,8804</u>	0,3227	-0,1217
c3-c3	<u>0,5525</u>	0,0463	0,2124	0,3760
d1-d1	<u>0,5915</u>	0,2240	0,2570	-0,4473
d2-d2	<u>0,6192</u>	0,2526	0,1596	-0,2770
e1-e1	0,3980	-0,1988	-0,5198	-0,2135
e2-e2	<u>0,7496</u>	0,1327	-0,0612	-0,0120
f1-f1	<u>0,7585</u>	0,0944	0,0945	0,1747
f2-f2	<u>0,7008</u>	-0,3986	-0,1732	0,1091
h2-h2	<u>0,5645</u>	0,1637	-0,3825	-0,2732
h3-h3	<u>0,6450</u>	0,0425	-0,3593	-0,2333

Así mismo, en Turquía, Baran *et al.* (2011) evaluaron la relación entre especies de ácaros de la familia Opiidae (Oribatida) mediante ACP y geométricos, demostrándose que ambos métodos fueron efectivos para la separación de las especies y así observaron que *Oppia nitens* fue separado como un taxon diferente, mientras que *Lauropia fallax* y *Rhinoppia obsoleta* permanecieron muy próximas en el dendograma, implicando esto que ambas especies están estrechamente relacionadas.

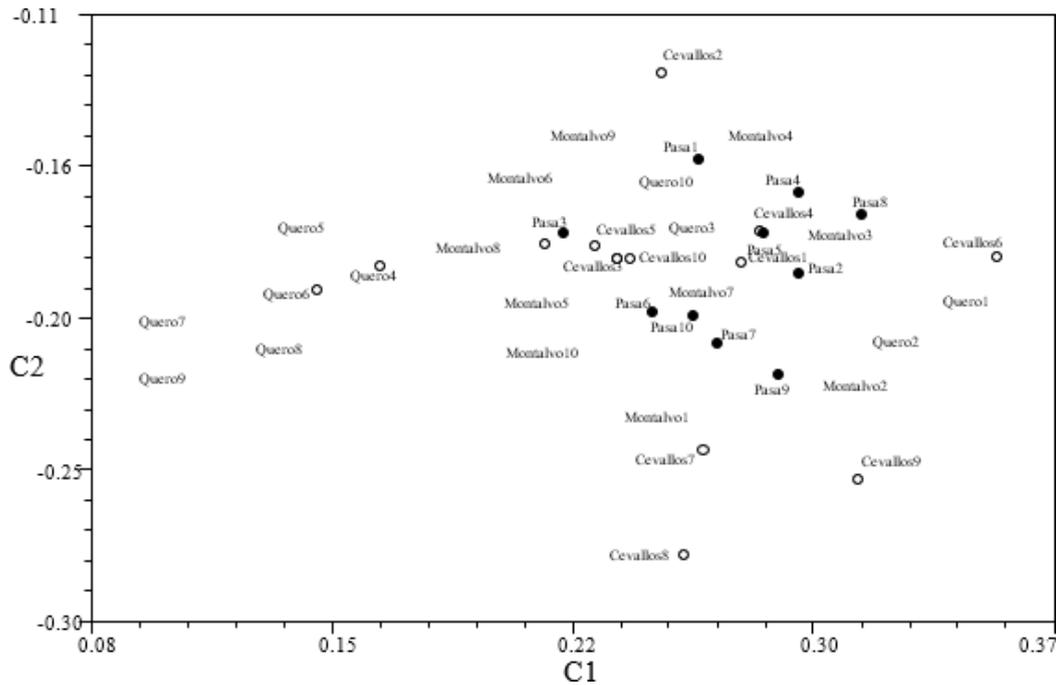


Figura 14. Gráfico bidimensional de componentes principales basado en los caracteres morfométricos de *E. lewisi* donde se representa la variación de muestras de ácaros por localidad de muestreo

En las poblaciones de *E. lewisi* recolectadas sobre mora se observaron diferencias en la longitud de la mayoría de las setas idiosomales (c1, c3, d2, e2, f1, h1, Sc1, Sc2 y v2) (Tabla 17). En general, las mayores longitudes de estas setas fueron observadas en poblaciones provenientes de Quero, seguidas de la población colectada en Pasa, mientras que las poblaciones de Montalvo y Cevallos presentaron mayor grado de similitud, lo cual verifica los resultados obtenidos de acuerdo con el Análisis de Componentes Principales.

Estos resultados estuvieron en concordancia con la distancia entre las setas idiosomales en las cuales se observaron diferencias significativas entre las localidades muestreadas (Tabla 18). De manera concomitante, la distancia entre setas fue significativamente mayor en ácaros colectados en plantas de mora que sembradas en Quero y Pasa, mientras que las poblaciones de Montalvo y Cevallos fueron similares entre ellas.

De manera similar, Sandoval *et al.* (2011) también observaron diferencias en la mayoría de las setas idiosomales de *Oligonychus perseae* y *Oligonychus peruvianus*

de plantas de aguacate y yuca, excepto en la Sc2, y también en la mayoría de las setas ventrales, excepto ic4 y h2. De acuerdo con el análisis morfométrico, las setas idiosomales ventrales y dorsales presentaron mayor longitud en hembras de *O. peruvianus* recolectados de aguacate, excepto en las setas v2 y sc2, pero contrariamente, estos ejemplares consistentemente mostraron setas ventrales más cortas en comparación con los especímenes recolectados en yuca.

De acuerdo con Mattos y Feres (2009) las variaciones en las características morfológicas de los ácaros fitófagos pueden ser debida a efectos derivados de la especie de planta hospedera y las condiciones climáticas del sitio donde crece esta. Se ha demostrado que tanto la planta hospedera como el clima, unido a la condición de reproducción haplodiploide que presentan los Tetranychidae, son las principales fuerzas que conllevan la formación de razas en este grupo de ácaros tetraníquidos (Helle y Overmeer, 1973). Con relación al efecto de la especie de planta hospedera sobre la morfología del ácaro fitófago es más determinante en aquellas especies de ácaros que pueden alimentarse de un amplio rango de especies de plantas (Hutcheson *et al.*, 1995; Klimov *et al.*, 2004) La presión de selección diferencial que las plantas hospedantes ejercen sobre los artrópodos fitófagos puede inducir adaptaciones que le permitan especializarse en estas especies de plantas, mediante la selección de fenotipos favorecidos en un conjunto dado de plantas hospedantes en contra de otros (Sousa *et al.* 2019).

Varias herramientas estadísticas han demostrado ser útiles para distinguir especies y variaciones inter e intraespecíficas en diferentes taxones de artrópodos (Gettinger *et al.*, 2005). Además, el uso de métodos de análisis morfométricos multivariados ha demostrado ser útil en la descripción de variaciones morfológicas, su relación con los factores ambientales, así como la intensidad con la que las afecta (Klimov *et al.*, 2004). En este sentido, la temperatura ha sido reconocido como el factor más influyentes en las adaptaciones de los artrópodos herbívoros. pudo haber ejercido un efecto en la morfología de los individuos.

Tabla 17. Variaciones en la distancia de las setas idiosomales (promedio \pm desviación estándar) de las poblaciones de *E. lewisi* en diferentes localidades de la Provincia de Tungurahua

Variables morfométricas	Localidad			
	Montalvo	Cevallos	Quero	Pasa
c1	0,32 \pm 0,1117b	0,29 \pm 0,0824b	0,37 \pm 0,0835a	0,30 \pm 0,0490b
c2	0,51 \pm 0,0849a	0,54 \pm 0,0540a	0,60 \pm 0,1374a	0,54 \pm 0,0501a
c3	0,74 \pm 0,0754ab	0,71 \pm 0,1097b	0,90 \pm 0,1038a	0,79 \pm 0,0920ab
d1	0,34 \pm 0,1034a	0,33 \pm 0,0998a	0,31 \pm 0,0131a	0,31 \pm 0,0460a
d2	0,58 \pm 0,0608a	0,55 \pm 0,1423ab	0,63 \pm 0,0349a	0,51 \pm 0,1217b
e1	0,27 \pm 0,0838a	0,27 \pm 0,0947a	0,24 \pm 0,0671a	0,27 \pm 0,0498a
e2	0,48 \pm 0,0902a	0,52 \pm 0,1130ab	0,57 \pm 0,0562a	0,49 \pm 0,1039a
f1	0,26 \pm 0,0731a	0,30 \pm 0,1244a	0,25 \pm 0,0333a	0,21 \pm 0,0184b
f2	0,22 \pm 0,0369a	0,22 \pm 0,0689a	0,24 \pm 0,0567a	0,21 \pm 0,0249a
h2	0,12 \pm 0,0151a	0,13 \pm 0,0226a	0,15 \pm 0,0648a	0,12 \pm 0,0108a
h3	0,22 \pm 0,1053b	0,29 \pm 0,1569a	0,33 \pm 0,0458a	0,31 \pm 0,0381a
sc1	0,28 \pm 0,0325b	0,33 \pm 0,0853a	0,34 \pm 0,0261a	0,33 \pm 0,0553a
sc2	0,52 \pm 0,0674b	0,57 \pm 0,1128b	0,65 \pm 0,0915a	0,52 \pm 0,1794b
v2	0,17 \pm 0,0289b	0,23 \pm 0,0346ab	0,27 \pm 0,0617a	0,26 \pm 0,0267a

Valores promedios (en μm) en una fila seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas de acuerdo con la prueba de rangos según Tukey ($p < 0,01$)

Tabla 18. Variaciones en la distancia entre las setas idiosomales (promedio \pm desviación estándar) de las poblaciones de *E. lewisi* en diferentes localidades de la Provincia de Tungurahua

Variables morfométricas	Localidad			
	Montalvo	Cevallos	Quero	Pasa
c1	0,32 \pm 0,0304b	0,33 \pm 0,0430b	0,37 \pm 0,0299a	0,35 \pm 0,0535a
c2	0,30 \pm 0,0412b	0,33 \pm 0,0364ab	0,37 \pm 0,0321a	0,35 \pm 0,0153a
c3	0,28 \pm 0,0264b	0,29 \pm 0,0317ab	0,33 \pm 0,0255a	0,32 \pm 0,0314a
d1	0,30 \pm 0,0395b	0,32 \pm 0,0398b	0,37 \pm 0,0203a	0,36 \pm 0,0762a
d2	0,32 \pm 0,0335a	0,32 \pm 0,0355a	0,37 \pm 0,0121a	0,35 \pm 0,0202a
e1	0,31 \pm 0,0674a	0,29 \pm 0,0427a	0,31 \pm 0,0409a	0,33 \pm 0,0524a
e2	0,31 \pm 0,0464b	0,32 \pm 0,0364b	0,38 \pm 0,0003a	0,35 \pm 0,0204ab
f1	0,25 \pm 0,0638b	0,29 \pm 0,0312ab	0,34 \pm 0,0009a	0,30 \pm 0,0279a
f2	0,25 \pm 0,0245b	0,27 \pm 0,0406ab	0,30 \pm 0,0149ab	0,30 \pm 0,0385a
h2	0,23 \pm 0,0322a	0,22 \pm 0,0667a	0,28 \pm 0,0495a	0,24 \pm 0,0228a
h3	0,24 \pm 0,0246a	0,24 \pm 0,0481a	0,27 \pm 0,0244a	0,26 \pm 0,0148a
sc1	0,31 \pm 0,0634b	0,32 \pm 0,0262b	0,39 \pm 0,0273a	0,36 \pm 0,0480ab
sc2	0,25 \pm 0,0326b	0,32 \pm 0,0563a	0,32 \pm 0,0574a	0,30 \pm 0,0379a
v2	0,21 \pm 0,0399b	0,29 \pm 0,0371a	0,29 \pm 0,0647a	0,27 \pm 0,0208a

Valores promedios (en μm) en una fila seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas de acuerdo con la prueba de rangos según Tukey ($p < 0,01$)

Los estudios sobre la variación morfométrica en especies de ácaros fitófagos asociados con diferentes plantas hospedantes son necesarios para mejorar nuestra comprensión acerca de la sistemática de cada grupo y así comprender mejor la relación ácaro fitófago-planta hospedante (Skoracka *et al.*, 2000). Con base en los resultados, las poblaciones de *E. lewisi* recolectadas en plantas de mora mostraron mayor relación en aquellas recolectadas en Cevallos y Pasa, mientras que Quero y Montalvo se mantuvieron separadas en la mayoría de los casos, por lo que estas últimas deberían ser analizadas mediante estudios moleculares para verificar diferencias genéticas entre ellas.

Se ha comprobado la siguiente hipótesis: “La variabilidad de la región ITS2 en poblaciones de *Eotetranychus lewisi* (McGregor) en el cultivo de Mora, al realizarse comparaciones moleculares mostró variabilidad significativa en su una secuencia génica con valores promedio tanto para similitud como para divergencia. Este fragmento se conforma por 545 pares de bases que mostraron un 2,39% de discrepancia y un 97,61% de similitud entre las poblaciones de *E. lewisi* recolectadas en cada una de las cuatro localidades estudiadas: Cevallos, Quero, Montalvo y Pasa.”

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

La variabilidad de la región ITS2 en poblaciones de *Eotetranychus lewisi* en el cultivo de mora mostró poca variabilidad significativa en una secuencia génica con valores promedio tanto para similitud como para divergencia. Este fragmento se conforma por 545 pares de bases que mostraron un 2,39% de discrepancia y un 97,61% de similitud entre las poblaciones de *E. lewisi* recolectadas en cada una de las cuatro localidades estudiadas, Cevallos, Quero, Montalvo y Pasa

El Análisis de Componentes Principales (ACP) aplicado a las variables morfométricas (longitud y distancia de las setas idiosomales) de hembras de *E. lewisi* colectadas en plantas de mora de diferentes localidades mostró que 93,14 y 94,67 % de la variación morfométrica de *E. lewisi* en plantas de mora procedentes de diferentes localidades fue explicada en 10 componentes. De estas, las variables que mostraron mayor peso en los dos primeros componentes fueron la longitud de las setas c1, c2, c3, d2, e2, f2 y h3, Sc1, d1, e1, f1 y f2 y en cuanto a las distancias entre setas la mayoría de las variables se ubicaron en el primer componente (v2-v2, sc1-sc1, c3-c3, d1-d1, d2-d2, ee2-e2, f1-f1, h2-h2 y h3-h3).

El análisis morfométrico mostró una amplia variabilidad entre en las variables morfométricas consideradas entre las distintas poblaciones de *E. lewisi* recolectadas en plantaciones de mora provenientes de diferentes localidades, lo cual al ser comparado con la baja variabilidad genética encontrada en la región ITS2, sugiere la alta plasticidad fenotípica de esta especie, lo cual podría dar origen a diferentes razas morfológicas que pudieran exhibir diferencias en el potencial para causar daño a sus diferentes plantas hospederas.

5.2 RECOMENDACIONES

La falta de investigaciones sobre el tema limita las fuentes de consulta, por lo que sería recomendable realizar estudios similares de manera de establecer las variaciones de las poblaciones de ácaros fitófagos de la familia Tetranychidae y relacionar estas variaciones con las posibles diferencias en las poblaciones para asociarse con sus plantas hospederas y el potencial daño que estos pudieran causar.

Además, se sugiere realizar estudios que evalúen el papel de las condiciones climáticas sobre la expresión de la plasticidad tanto morfológica como genética de los tetraníquidos de manera de mejorar el conocimiento en este aspecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, H., & Murillo, P. (2008). Nuevos hospederos y registros de ácaros fitófagos para Costa Rica: Período 2002 - 2008. *Agronomía Costarricense*, 32(2), 7-28. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/436/43632201.pdf>
- Aguinaga, M., & Guanotuña, L. (2013). *EVALUACIÓN AGRONÓMICA Y POMOLÓGICA DE CLONES EXPERIMENTALES DE MORA DE CASTILLA (Rubus glaucus Benth) EN COTACACHI*. Tesis Ing. Agropecuario, Universidad Técnica del Norte, Ibarra. Recuperado el 25 de Julio de 2020, de <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/2305/1/03%20AGP%20160%20TESIS%20FINAL.pdf>
- Arimoto, M., Satoh, M., Uesugi, R., & Osakabe, M. (2013). PCR-RFLP Analysis for Identification of Tetranychus Spider Mite Species (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 106(2), 661-668. doi:<https://doi.org/10.1603/EC12440>
- Auger, P., Migeon, A., Ueckermann, E., Tiedt, L., & Navajas Navarro, M. (2013). Evidence for synonymy between *Tetranychus urticae* and *Tetranychus cinnabarinus* (Acari, Prostigmata, Tetranychidae): Review and new data. *Acarologia*, 34. Recuperado el 3 de Abril de 2020, de https://hal.archives-ouvertes.fr/file/index/docid/979843/filename/Publis013-cbpg-059_Auger_Acarologia_Evidence_synonymy_Tetranychus_urticae_new_data.pdf
- Ávila Cubillos, E. P. (2015). *Manual: Mora* (Primera ed.). Bogotá: Camara de Comercio de Bogotá. Recuperado el 8 de Julio de 2020, de <https://bibliotecadigital.ccb.org.co/bitstream/handle/11520/14319/Mora.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ayala, L., Valenzuela, C., & Bohórquez, Y. (2013). Caracterización fisicoquímica de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth). en seis estados de madurez. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11(2), 10-18. Recuperado el 27 de Enero de 2020, de <https://revistas.unicauca.edu.co/index.php/bioteologia/article/view/306/503>

- Badii, M., Landeros, J., & Cerna, E. (2010). Regulación Poblacional de Ácaros Plaga de Impacto Agrícola. *International Journal of Good Conscience*, 5(1), 270-302. Recuperado el 1 de Diciembre de 2020, de https://www.researchgate.net/publication/228633622_Regulacion_Poblacional_de_Acaros_Plaga_de_Impacto_Agricola_Population_Regulation_of_Pest_Mites_of_Agricultural_Significance/link/576a97af08ae6e7727808aa5/download
- Barrera, V., Alwang, J., Andrango, G., Domínguez, J., Escudero, L., & Martínez, A. (2016). Tipificación de los productores de mora de Ecuador para optimizar sus estrategias de medios de vida. *INIAP (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias)*, 1-23. Recuperado el 20 de Enero de 2020, de <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/4660/1/iniapscD199.pdf>
- Beltrán, A., Rodríguez, N., Hernández, D., & Rodríguez, J. (2004). *Principales ácaros plagas que afectan la fruticultura cubana*. Obtenido de FAO - Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: <http://www.fao.org>
- Benato, E., Cia, P., & Souza, N. (2001). Manejo de frutas. *Revisado anual de patología de plantas*, 9(5), 145. Obtenido de <http://www.benato-archib.com/Articles/ferthivern04.pdf>
- Ben-David, T., Melamed, S., Gerson, U., & Morin, S. (2007). ITS2 sequences as barcodes for identifying and analyzing spider mites (Acari: Tetranychidae). *PubMed.gov*, 41(3), 81. doi:<https://doi.org/10.1007/s10493-007-9058-1>
- Bolland, H., Gutiérrez, J., & Flechtmann, C. (1978). World Catalogue of the Spider Mite Family (Acari: Tetranychidae). *ECOSSISTEMA*, 3, 78-79. Recuperado el 21 de Enero de 2020, de https://www.researchgate.net/publication/254747239_World_Catalogue_of_the_Spider_Mite_Family_Acari_Tetranychidae
- Calero, V. (2010). Estudio de pre factibilidad para la producción de mora en Imbabura, Quito-Ecuador. 78. Recuperado el 22 de Enero de 2020, de <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/952/1/95097.pdf>
- Carbonnelle, S., & Hance, T. (2004). Cuticular lobes in the *Tetranychus urticae* complex (Acari: Tetranychidae): a reliable taxonomic character? *The Belgian Journal of Zoology*, 134(2), 51-54. Recuperado el 6 de Enero de 2021, de

https://www.researchgate.net/publication/253570710_Cuticular_lobes_in_the_Tetranychus_urticae_complex_Acari_Tetranychidae_A_reliable_taxonomic_character

Colcha Rovalino, S. E. (2013). *Manual practico de reproduccion masiva de Amblyseius californicus, usado en el control biologico de Tetranychus urticae*. Tesis Ing. Agropecuario, Universidad Politecnica Salesiana, Quito. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6049/1/UPS-YT00145.pdf>

Cortes, V. (2013). El cultivo de la mora de Castilla (*Rubus glucus Benth*) frutal de clima frío moderado, con propiedades curativas para la salud humana. (17), 64. Recuperado el 15 de Febrero de 2020, de https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/insumos_factores_de_produccion_nov_2013.pdf

Cruz, A., Morillo, Y., Muñoz, J. E., Vásquez, H. D., & Zamorano, A. (2005). Caracterización molecular con microsatélites aleatorios rams de la colección de mora, *Rubus spp*, de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. *Acta Agronómica*, 54(2), 16. Recuperado el 2020 de Enero de 23, de <https://www.redalyc.org/pdf/1699/169920332003.pdf>

Díaz, Y. (2017). Caracterización molecular de la región espaciadora intergénica ribosomal, ITS2 en ácaros-plaga (Acari: Tetranychidae) de importancia económica en frutales. *Revista Cubana de Ciencias Biológicas*, 2. Recuperado el 15 de Enero de 2020, de <http://www.rccb.uh.cu/index.php/RCCB/thesis/view/27>

Flores, A., Silva, G., Tapia, M., & Casals, P. (2007). Susceptibilidad de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) Colectada en *Primula obconica* Hance y *Convolvulus arvensis* L. a Acaricidas. *Agricultura Técnica*, 67(1), 10. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072007000200014>

Franco, G., & Giraldo, M. (1999). *El cultivo de la Mora*. Pereira, Colombia: Feriva.

Franco, G., & Giraldo, M. (2014). *El Cultivo de la Mora*. Colombia: CORPOICA. Recuperado el 9 de Julio de 2020, de <https://www.slideshare.net/rolandocanito/cultivo-de-la-mora>

Franco, G., Bernal Estrada, J., Gallego, J., Rodríguez, J., Guevara, N., & Londoño, M. (2008). Agronomía del cultivo de mora. *CORPOICA*, 19. Recuperado el 25 de

- Julio de 2020, de
https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/21106/39652_23648.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Garzón, L., & Gómez, C. (2015). *Caracterización bromatológica y microbiológica de cultivos de la mora de castilla sin espinas (Rubus glaucus Benth) del corregimiento de la bella y del municipio de Santa Rosa de Cabal (Risalda, Colombia)*. Tesis Tecnólogo Químico, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira. Recuperado el 3 de Febrero de 2020, de
<http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/6065/63438G245.pdf?sequence>
- Gerrero, J., & Bellotti, A. (1983). *Contribución al conocimiento de algunos acaros fitofago encontrados en el cultivo de yuca Manihot esculenta, en Colombia* (Primera ed.). Colombia: CIAT. Recuperado el 20 de Diciembre de 2020, de
http://ciat-library.ciat.cgiar.org/articulos_ciat/Digital/SB608.C3_Y8_Yuca_Control_integrado_de_plagas.pdf
- Gutiérrez, J. (1985). Systematics. In Helle, W., y Sabelis, M. Eds. Spider mites: their biology, natural enemies and control. , 75p. *Amsterdam, ND, Elzevir Science*, 75.
- Hillis, D., & Wiens, J. (2000). Molecules versus morphology in systematics: conflicts, artifacts, and misconceptions. *ResearchGate*. Obtenido de
https://www.researchgate.net/publication/313009896_Molecules_versus_morphology_in_systematics_conflicts_artifacts_and_misconceptions
- Isabuche, K. (2019). *Variabilidad de la Region ITS2 en poblaciones de Tetranychus uricae Koch en el cultivo de Arracacia xanthorrhiza Bancr*. Tesis Ing. Agr., Universidad Técnica de Ambato, Cevallos. Recuperado el 15 de Marzo de 2020, de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/29442/1/Tesis-227%20%20Ingenier%c3%ada%20Agron%c3%b3mica%20-CD%20627.pdf>
- Iza Yugcha, M. E. (2018). *Diferenciación morfoagronómica de seis cultivares de mora (Rubus glaucus Benth) en el valle de Tumbaco*. Tesis Ing. Agr., Universidad Central del Ecuador, Quito. Recuperado el 9 de Julio de 2020, de

<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15161/1/T-UCE-0004-A80-2018.pdf>

- Kiedrowicz, A., Rector, B., Zawierucha, K., Szydło, W., & Skoracka, A. (2016). Phytophagous mites (Acari: Eriophyoidea) recorded from Svalbard, including the description of a new species. *Polar Biology*, 39, 1359-1368. Recuperado el 14 de Agosto de 2019, de <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00300-015-1858-x.pdf>
- López, K. (2019). *Variabilidad de la Región ITS2 en poblaciones de Tetranychus urticae Koch en el cultivo de fresa (Fragaria vesca)*. Tesis Ing. Agr., Universidad Técnica de Ambato, Cevallos. Recuperado el 25 de Mayo de 2020, de <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/29581/1/Tesis-232%20%20Ingenier%C3%ADa%20Agron%C3%B3mica%20-CD%20634.pdf>
- Martín, M. P., & Alvaro, I. (2001). Notas preliminares sobre las técnicas de amplificación y variación de la región ITS (Internal Transcribed Spacer) en el género Encalypta (Encalyptaceae, Bryophyta). (25), 233-239. Recuperado el 20 de Enero de 2020, de <https://core.ac.uk/download/pdf/38807208.pdf>
- Martínez Villar, E. (2016). *Contribución al manejo integrado de ácaros tetraníquidos (Acari: Tetranychidae) que afectan a frutales de clima templado*. Tesis , Universidad de La Rioja, España. Recuperado el 3 de Diciembre de 2020, de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=48487>
- McGregor, E. (1943). *Una nueva araña roja en cítricos en el suroeste de California (Acarina: Tetranychidae)* (Vol. 45). Actas de la Sociedad Entomológica de Washington.
- Mendoza, D. (2016). *Control de ácaros mediante la aplicación de Bacillus subtilis en el cultivo de fresa (Fragaria vesca)*. Tesis Ing. Agr., Universidad Técnica de Ambato, Cevallos. Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/24013/1/Tesis-138%20%20Ingenier%c3%ada%20Agron%c3%b3mica%20-CD%20427.pdf>
- Miño, C. (2020). *Biología t tablas de vida de Eotetranychus lewisi sobre las variedades de durazno Prunus persica (Zapallo, Abridor blanco y Tejón)*. Tesis Ing. Agr., Universidad Técnica de Ambato, Cevallos. Recuperado el 14 de Diciembre de

2020 , de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/30895/1/Tesis-244%20%20Ingenier%c3%ada%20Agron%c3%b3mica%20-CD%20651.pdf>

- Molina, D. (2003). *Análisis de competitividad de la cadena agroalimentaria de la mora en el Ecuador. Periodo 1990-1999*. Quito.
- Navajas, M., Lagnel, J., Gutiérrez, J., & Boursot, P. (1998). Species-wide homogeneity of nuclear ribosomal ITS2 sequences in the spider mite *Tetranychus urticae* contrasts with extensive mitochondrial COI polymorphism. *Heredity*(80), 742-752. doi:<https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.1998.00349.x>
- Naves, P., Nóbrega, F., & Auger, P. (2021). Revisión actualizada y comentada de los tetraníquidos presentes en el territorio continental de Portugal, las Azores y los archipiélagos de Madeira. *Acarologia*, 61(2), 380-393. Recuperado el 5 de Mayo de 2021, de <https://www1.montpellier.inra.fr/CBGP/acarologia/article.php?id=4437>
- Osakabe, M., Hinimoto, N., Toda, S., Komasaki, S., & Goka, K. (2000). Molecular cloning and characterization of a microsatellite locus found in an RAPD marker of a spider mite, *Panonychus citri* (Acari: Tetranychidae). *Exp Appl Acarol*, 24(5-6), 385-395. doi:<https://doi.org/10.1023/a:1006405325992>
- Páramo, G., Sánchez, M., & Corredor, D. (1986). Tabla de vida y parámetros poblacionales fundamentales de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) sobre *Rosa* sp. en condiciones de laboratorio. *Agronomía Colombiana*, 3(1), 83-96.
- Pérez Santiago, G., Otero-Colina, G., González Hernández, V., Ramírez Guzmán, M., & López Jiménez, A. (2017). Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas, A.C. Recuperado el 21 de Enero de 2020, de <http://www.somech.org.mx/>
- Reséndiz-García, B., & Castillo-Olivas, O. (2018). Biología del ácaro de dos manchas *Tetranychus urticae* Koch. (Acari: Tetranychidae) en Laboratorio en Chapingo, Estado de México. *Entomología mexicana*(5), 40-45. Recuperado el 20 de Mayo de 2020, de <http://www.entomologia.socmexent.org/revista/2018/AA/AA%20040-045.pdf>
- Reyes-Bello, J. C., Mesa-Cobo, N. C., & Kondo, T. (2011). Biology of *Oligonychus yothersi* (McGregor) (Acari: Tetranychidae) on avocado *Persea americana* Mill.

cv. Lorena (Lauraceae). *Caldasia*, 33(1), 211-220. Recuperado el 14 de Agosto de 2020, de <http://www.scielo.org.co/pdf/cal/v33n1/v33n1a13.pdf>

Reyes-Guerrero, D. E., Aguilar-Marcelino, L., López-Arellano, M. E., Díaz-Yáñez, R. D., Bautista Garfias, C. R., & Mendoza de Gives, P. (2010). AMPLIFICACIÓN DE LA REGIÓN DEL GEN ITS2 POR PCR PARA LA IDENTIFICACIÓN DEL ÁCARO NEMATÓFAGO *Caloglyphus mycophagus* (ACARI: ACARIDAE). 6. Obtenido de http://socmexent.org/entomologia/revista/2017/CB/EM1512017_174-179.pdf

Rodríguez Plá, M. (2016). *Caracterización molecular de ácaros Rinonísidos*. Trabajo experimental, Universidad de Sevilla. Recuperado el 15 de Enero de 2020, de <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/49221/TFG%20MARIA%20RODRIGUEZ%20PLA.pdf;jsessionid=011780AED1530DEC7C1D637D4025652E?sequence=1&isAllowed=y>

Romolerux, K. (1996). *Flora of Ecuador*. Quito: Herbario, Departamento de Biología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

Rubio, G. (2014). *Investigacion de la mora y propuesta gastronómica*. Tesis Adm. Gastronómico, Quito. Recuperado el 3 de Diciembre de 2020, de http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/11913/1/56668_1.pdf

Salinas, F. (2013). *Araña roja: Descripción y ciclo biológico*. Obtenido de <https://www.biobestgroup.com/es/biobest/plagas-y-enfermedades/arana-roja-4993/>

Sánchez, M. (2018). *Variación quetotóxica de Tetranychus urticae Koch y Eotetranychus lewisi (Mc Gregor) en tres cultivos en la provincia de Tungurahua*. Tesis Ing. Agr., Universidad Técnica de Ambato, Ambato. Recuperado el 2020 de Enero de 12, de <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/29163/1/Tesis-221%20%20Ingenier%C3%ADa%20Agron%C3%B3mica%20-CD%20619.pdf>

Sánchez, M., Colmenárez, Y., Manobanda, M., & Vásquez, C. (2021). Variación quetotóxica en poblaciones de *Tetranychus urticae* Koch, 1836 y *Eotetranychus lewisi* (Mc Gregor, 1943) (Acari: Tetranychidae) de diferentes cultivos y localidades en la Provincia de Tungurahua, Ecuador. *Revista Chilena de*

- Entomología*, 47(1), 19-23. Recuperado el 23 de Marzo de 2021, de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rche/v47n1/0718-8994-rche-47-01-19.pdf>
- Sazo Rodríguez, L., Agurto Gaete, L., Contador Revetria, F., & Mondaca Arriaga, C. (2003). Nuevas especies de Acaros fitófagos asociados a la vid vinífera en Chile. *Grupo de Investigación Enológica (GIE)*, 11. Obtenido de <http://www.gie.uchile.cl/pdf/Luis%20Sazo/acaros.pdf>
- Semillas del Caribe. (2019). *Tetranychus Urticae / Eotetranychus Lewisi*. Recuperado el 2 de Diciembre de 2019, de <https://www.semillasdelcaribe.com.mx/novedades/acaros/>
- Timbila, L. (2020). *Variaciones morfológicas de Tetranychus urticae Koch (Acari: Tetranychidae) originadas por Solanum Muricatum y Passiflora tripartita*. Tesis Ing. Agr., Universidad Técnica de Ambato, Cevallos. Recuperado el 15 de Diciembre de 2020, de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/31550/1/Tesis-256%20%20Ingenier%c3%ada%20Agron%c3%b3mica%20-CD%20673%20Luis%20Timbila.pdf>
- Toledo, J. (15 de Diciembre de 2020). *Koppert: Mora*. Obtenido de <https://www.koppert.es/cultivos/frutas/mora/>
- Vásquez, C., Dávila, M., & Pomboza, P. P. (2017). First report of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) occurring in the Ecuadorian sierra on two Andean crops. *ENTOMOTROPICA*, 32, 102-106. Obtenido de https://sventomologia.org/wp-content/uploads/2021/03/2017_32_102-106.pdf
- 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(2017), 992-994. doi:<https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.05.001>
- Yao, H., Song, J., Liu, C., Luo, K., Han, J., Li, Y., . . . Chen, S. (2010). Use of ITS2 Region as the Universal DNA Barcode for Plants and Animals. *Plos One*, 1(5), 12. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013102>

ANEXOS

Anexo No. 1. Fotografías de la fase experimental Análisis estadístico

	
<p>Visita de cultivos de mora en las diferentes localidades.</p>	<p>Recolección de muestras vegetales.</p>
	
<p>Planta de mora con ataque de ácaros.</p>	<p>daños causados por ácaros en hojas de mora.</p>
	
<p>Verificación visual de que las hojas de mora tengan presencia de <i>Eotetranychus lewisi</i>.</p>	<p>Hojas de mora envueltas con papel toallin y colocadas en fundas herméticas para ser llevadas al laboratorio.</p>

	
<p>Hojas vistas al estereoscopio para la identificación de <i>Eotetranychus lewisi</i>.</p>	<p>Comprobación de la especie de ácaro en estudio mediante la preparación de láminas usando PVA.</p>
	
<p>Caja Petri con arenas que contienen ácaros para su reproducción, mismos que al llegar a su etapa adulta serán utilizados para la extracción de ADN.</p>	
	

Anexo No. 2. Análisis estadístico

Análisis de Varianza DISTANCIA DE SETAS

Statistix 10,0
5/2/2021; 8:23:03

Completely Randomized AOV for v2

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,04703	0,01568	14,08	0,0000
Error	29	0,03229	0,00111		
Total	32	0,07932			

Grand Mean 0,2251 CV 14,82

Homogeneity of Variances	F	P
Levene's Test	2,61	0,0702
O'Brien's Test	2,84	0,0555
Brown and Forsythe Test	0,62	0,6102

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	14,69	0,0013
Error	7,9		

Component of variance for between groups 1,848E-03
Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,1709	0,0106
2	10	0,2332	0,0106
3	3	0,2730	0,0193
4	10	0,2569	0,0106

Completely Randomized AOV for Sc1

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,01783	5,943E-03	1,66	0,1976
Error	29	0,10389	3,582E-03		
Total	32	0,12172			

Grand Mean 0,3140 CV 19,06

Homogeneity of Variances	F	P
Levene's Test	1,71	0,1870
O'Brien's Test	1,49	0,2373
Brown and Forsythe Test	2,14	0,1164

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	3,89	0,0432
Error	10,3		

Component of variance for between groups 2,996E-04
Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,2789	0,0189

2	10	0,3288	0,0189
3	3	0,3363	0,0346
4	10	0,3275	0,0189

Completely Randomized AOV for SC2

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,05970	0,01990	1,25	0,3099
Error	29	0,46179	0,01592		
Total	32	0,52149			

Grand Mean 0,5457 CV 23,12

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		11,47	0,0000
O'Brien's Test		9,51	0,0002
Brown and Forsythe Test		6,23	0,0021

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	1,96	0,1945
Error	8,5		

Component of variance for between groups 5,048E-04
Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,5163	0,0399
2	10	0,5740	0,0399
3	3	0,6517	0,0729
4	10	0,5151	0,0399

Completely Randomized AOV for C1

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,01792	5,974E-03	0,83	0,4888
Error	29	0,20898	7,206E-03		
Total	32	0,22690			

Grand Mean 0,3099 CV 27,39

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		2,00	0,1365
O'Brien's Test		1,66	0,1973
Brown and Forsythe Test		1,32	0,2860

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	0,73	0,5600
Error	8,2		

Component of variance for between groups -1,564E-04
Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,3217	0,0268
2	10	0,2886	0,0268
3	3	0,3710	0,0490
4	10	0,3010	0,0268

Completely Randomized AOV for C2

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,02214	7,381E-03	1,41	0,2590
Error	29	0,15147	5,223E-03		
Total	32	0,17361			

Grand Mean 0,5360 CV 13,48

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		1,79	0,1716
O'Brien's Test		2,12	0,1190
Brown and Forsythe Test		1,03	0,3944

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	0,60	0,6316
Error	7,8		

Component of variance for between groups 2,739E-04
Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,5067	0,0229
2	10	0,5381	0,0229
3	3	0,6017	0,0417
4	10	0,5436	0,0229

Completely Randomized AOV for C3

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,09741	0,03247	3,66	0,0237
Error	29	0,25720	0,00887		
Total	32	0,35461			

Grand Mean 0,7597 CV 12,40

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		0,54	0,6584
O'Brien's Test		0,47	0,7059
Brown and Forsythe Test		1,18	0,3338

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	2,65	0,1168
Error	8,4		

Component of variance for between groups 2,996E-03
Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,7423	0,0298
2	10	0,7076	0,0298
3	3	0,9010	0,0544
4	10	0,7868	0,0298

Completely Randomized AOV for d1

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,00309	1,031E-03	0,15	0,9316
Error	29	0,20513	7,073E-03		
Total	32	0,20822			

Grand Mean 0,3233 CV 26,01

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		1,59	0,2132
O'Brien's Test		1,40	0,2615
Brown and Forsythe Test		1,31	0,2888

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	0,32	0,8141
Error	15,9		

Component of variance for between groups -7,669E-04
Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,3348	0,0266
2	10	0,3262	0,0266
3	3	0,3073	0,0486
4	10	0,3137	0,0266

Completely Randomized AOV for d2

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,04426	0,01475	1,22	0,3210
Error	29	0,35142	0,01212		
Total	32	0,39568			

Grand Mean 0,5514 CV 19,96

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		1,73	0,1837
O'Brien's Test		1,51	0,2327
Brown and Forsythe Test		1,96	0,1422

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	2,83	0,0821
Error	12,3		

Component of variance for between groups 3,347E-04
Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,5768	0,0348
2	10	0,5485	0,0348
3	3	0,6273	0,0636
4	10	0,5062	0,0348

Completely Randomized AOV for e1

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,00225	7,498E-04	0,12	0,9451
Error	29	0,17516	6,040E-03		
Total	32	0,17741			

Grand Mean 0,2679 CV 29,01

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		1,13	0,3518

O'Brien's Test 0,93 0,4407
 Brown and Forsythe Test 0,45 0,7184

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	0,16	0,9216
Error	8,5		

Component of variance for between groups -6,715E-04
 Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,2696	0,0246
2	10	0,2677	0,0246
3	3	0,2430	0,0449
4	10	0,2739	0,0246

Completely Randomized AOV for e2

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,02449	0,00816	0,81	0,4977
Error	29	0,29159	0,01005		
Total	32	0,31609			

Grand Mean 0,5009 CV 20,02

Homogeneity of Variances

	F	P
Levene's Test	0,42	0,7427
O'Brien's Test	0,32	0,8082
Brown and Forsythe Test	0,27	0,8431

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	1,53	0,2644
Error	10,6		

Component of variance for between groups -2,400E-04
 Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,4755	0,0317
2	10	0,5181	0,0317
3	3	0,5683	0,0579
4	10	0,4889	0,0317

Completely Randomized AOV for f1

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,04302	0,01434	2,16	0,1145
Error	29	0,19274	0,00665		
Total	32	0,23577			

Grand Mean 0,2535 CV 32,17

Homogeneity of Variances

	F	P
Levene's Test	5,13	0,0057
O'Brien's Test	4,50	0,0103
Brown and Forsythe Test	2,83	0,0557

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
--------	----	---	---

Localidad 3,0 3,54 0,0687
 Error 7,9

Component of variance for between groups 9,766E-04
 Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,2564	0,0258
2	10	0,2993	0,0258
3	3	0,2463	0,0471
4	10	0,2068	0,0258

Completely Randomized AOV for f2

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,00181	6,022E-04	0,26	0,8530
Error	29	0,06696	2,309E-03		
Total	32	0,06876			

Grand Mean 0,2174 CV 22,10

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		1,78	0,1727
O'Brien's Test		1,55	0,2221
Brown and Forsythe Test		1,36	0,2731

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	0,23	0,8700
Error	7,9		

Component of variance for between groups -2,166E-04
 Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,2151	0,0152
2	10	0,2215	0,0152
3	3	0,2360	0,0277
4	10	0,2100	0,0152

Completely Randomized AOV for h2

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,00228	7,615E-04	1,37	0,2713
Error	29	0,01611	5,555E-04		
Total	32	0,01839			

Grand Mean 0,1231 CV 19,15

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		11,33	0,0000
O'Brien's Test		6,35	0,0019
Brown and Forsythe Test		2,44	0,0843

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	0,36	0,7805
Error	7,6		

Component of variance for between groups 2,614E-05
 Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,1179	0,0075
2	10	0,1250	0,0075
3	3	0,1477	0,0136
4	10	0,1190	0,0075

Completely Randomized AOV for h3

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,05589	0,01863	1,60	0,2117
Error	29	0,33844	0,01167		
Total	32	0,39433			

Grand Mean 0,2806 CV 38,50

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		1,42	0,2561
O'Brien's Test		1,25	0,3108
Brown and Forsythe Test		2,37	0,0909

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	2,32	0,1448
Error	8,9		

Component of variance for between groups 8,834E-04
Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,2208	0,0342
2	10	0,2919	0,0342
3	3	0,3323	0,0624
4	10	0,3135	0,0342

Datos transformados de c1, d1, e1, f1, f2, h3

Statistix 10,0
5/2/2021; 9:20:47

Completely Randomized AOV for h3sq

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,01908	6,359E-03	1,75	0,1787
Error	29	0,10535	3,633E-03		
Total	32	0,12442			

Grand Mean 0,8814 CV 6,84

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		1,64	0,2026
O'Brien's Test		1,43	0,2536
Brown and Forsythe Test		2,73	0,0621

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	2,34	0,1419
Error	8,9		

Component of variance for between groups 3,460E-04
Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,8469	0,0191
2	10	0,8862	0,0191
3	3	0,9121	0,0348
4	10	0,9017	0,0191

Completely Randomized AOV for f2sq

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,00058	1,923E-04	0,24	0,8652
Error	29	0,02289	7,892E-04		
Total	32	0,02346			

Grand Mean 0,8466 CV 3,32

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		1,83	0,1641
O'Brien's Test		1,59	0,2136
Brown and Forsythe Test		1,39	0,2667

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	0,22	0,8791
Error	7,9		

Component of variance for between groups -7,576E-05
Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,8454	0,0089
2	10	0,8486	0,0089
3	3	0,8575	0,0162
4	10	0,8425	0,0089

Completely Randomized AOV for f1sq

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,01311	4,371E-03	2,15	0,1153
Error	29	0,05891	2,031E-03		
Total	32	0,07203			

Grand Mean 0,8668 CV 5,20

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		5,23	0,0052
O'Brien's Test		4,59	0,0095
Brown and Forsythe Test		2,85	0,0544

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	3,53	0,0688
Error	7,9		

Component of variance for between groups 2,970E-04
Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,8688	0,0143
2	10	0,8917	0,0143
3	3	0,8638	0,0260

4 10 0,8406 0,0143

Completely Randomized AOV for elsq

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,00075	2,500E-04	0,13	0,9403
Error	29	0,05495	1,895E-03		
Total	32	0,05570			

Grand Mean 0,8753 CV 4,97

Homogeneity of Variances	F	P
Levene's Test	1,14	0,3477
O'Brien's Test	0,93	0,4391
Brown and Forsythe Test	0,45	0,7164

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	0,16	0,9184
Error	8,5		

Component of variance for between groups -2,088E-04
Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,8761	0,0138
2	10	0,8748	0,0138
3	3	0,8614	0,0251
4	10	0,8793	0,0138

Completely Randomized AOV for d1sq

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,00075	2,500E-04	0,12	0,9470
Error	29	0,05992	2,066E-03		
Total	32	0,06067			

Grand Mean 0,9063 CV 5,02

Homogeneity of Variances	F	P
Levene's Test	1,60	0,2107
O'Brien's Test	1,41	0,2589
Brown and Forsythe Test	1,35	0,2786

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	0,26	0,8518
Error	15,9		

Component of variance for between groups -2,305E-04
Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,9122	0,0144
2	10	0,9075	0,0144
3	3	0,8985	0,0262
4	10	0,9017	0,0144

Completely Randomized AOV for clsq

Source	DF	SS	MS	F	P
--------	----	----	----	---	---

Localidad	3	0,00534	1,779E-03	0,82	0,4917
Error	29	0,06266	2,161E-03		
Total	32	0,06800			

Grand Mean 0,8988 CV 5,17

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		1,99	0,1379
O'Brien's Test		1,65	0,2005
Brown and Forsythe Test		1,36	0,2753

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	0,74	0,5585
Error	8,2		

Component of variance for between groups -4,846E-05
Effective cell size 7,9

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,9047	0,0147
2	10	0,8870	0,0147
3	3	0,9325	0,0268
4	10	0,8946	0,0147

Prueba de Medias para DISTANCIA DE SETAS

Statistix 10,0
5/2/2021; 8:28:40

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of v2 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
3	0,2730	A
4	0,2569	A
2	0,2332	A
1	0,1709	B

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0149 TO
0,0220

Critical Q Value 3,854 Critical Value for Comparison 0,0407 TO
0,0599

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 Sc1 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
3	0,3363	A
2	0,3288	A
4	0,3275	A
1	0,2789	A

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0268 TO
0,0394

Critical Q Value 3,854 Critical Value for Comparison 0,0729 TO
0,1074

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of SC2 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
3	0,6517	A
2	0,5740	A
1	0,5163	A
4	0,5151	A

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0564 TO 0,0831
Critical Q Value 3,854 Critical Value for Comparison 0,1538 TO 0,2264

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of C1 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
3	0,3710	A
1	0,3217	A
4	0,3010	A
2	0,2886	A

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0380 TO 0,0559
Critical Q Value 3,854 Critical Value for Comparison 0,1035 TO 0,1523

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of C2 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
3	0,6017	A
4	0,5436	A
2	0,5381	A
1	0,5067	A

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0323 TO 0,0476
Critical Q Value 3,854 Critical Value for Comparison 0,0881 TO 0,1297

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of C3 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
3	0,9010	A
4	0,7868	AB
1	0,7423	AB
2	0,7076	B

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0421 TO 0,0620
Critical Q Value 3,854 Critical Value for Comparison 0,1148 TO 0,1689

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 d1 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
1	0,3348	A

2 0,3262 A
 4 0,3137 A
 3 0,3073 A

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0376 TO
 0,0554
 Critical Q Value 3,854 Critical Value for Comparison 0,1025 TO
 0,1509

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of d2 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
3	0,6273	A
1	0,5768	A
2	0,5485	A
4	0,5062	A

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0492 TO
 0,0725
 Critical Q Value 3,854 Critical Value for Comparison 0,1342 TO
 0,1975

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of e1 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
4	0,2739	A
1	0,2696	A
2	0,2677	A
3	0,2430	A

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0348 TO
 0,0512
 Critical Q Value 3,854 Critical Value for Comparison 0,0947 TO
 0,1394

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of e2 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
3	0,5683	A
2	0,5181	A
4	0,4889	A
1	0,4755	A

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0448 TO
 0,0660
 Critical Q Value 3,854 Critical Value for Comparison 0,1222 TO
 0,1799

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of f1 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
2	0,2993	A
1	0,2564	A
3	0,2463	A
4	0,2068	A

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0365 TO
 0,0537
 Critical Q Value 3,854 Critical Value for Comparison 0,0994 TO
 0,1463

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of f2 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
3	0,2360	A
2	0,2215	A
1	0,2151	A
4	0,2100	A

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0215 TO
 0,0316
 Critical Q Value 3,854 Critical Value for Comparison 0,0586 TO
 0,0862

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of h2 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
3	0,1477	A
2	0,1250	A
4	0,1190	A
1	0,1179	A

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0105 TO
 0,0155
 Critical Q Value 3,854 Critical Value for Comparison 0,0287 TO
 0,0423

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of h3 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
3	0,3323	A
4	0,3135	A
2	0,2919	A
1	0,2208	A

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0483 TO
 0,0711
 Critical Q Value 3,854 Critical Value for Comparison 0,1317 TO
 0,1938

There are no significant pairwise differences among the means.

Descriptivos estadísticos DISTANCIA DE SETAS

Statistix 10,0
 5/2/2021; 8:29:35

Breakdown for v2

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,1709	0,0289	9,132E-03	0,1090	0,2140
Localidad	2	0,2332	0,0346	0,0109	0,1850	0,2790
Localidad	3	0,2730	0,0617	0,0356	0,2020	0,3130
Localidad	4	0,2569	0,0267	8,448E-03	0,2120	0,2910
Overall		0,2251	0,0498	8,667E-03	0,1090	0,3130

Cases Included 33 Missing Cases 0

Breakdown for Sc1

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,2789	0,0325	0,0103	0,2290	0,3310
Localidad	2	0,3288	0,0853	0,0270	0,2110	0,5130
Localidad	3	0,3363	0,0261	0,0151	0,3140	0,3650
Localidad	4	0,3275	0,0553	0,0175	0,2600	0,4210
Overall		0,3140	0,0617	0,0107	0,2110	0,5130

Cases Included 33 Missing Cases 0

Breakdown for SC2

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,5163	0,0674	0,0213	0,4070	0,6310
Localidad	2	0,5740	0,1128	0,0357	0,4420	0,7300
Localidad	3	0,6517	0,0915	0,0528	0,5750	0,7530
Localidad	4	0,5151	0,1794	0,0567	0,3060	0,7430
Overall		0,5457	0,1277	0,0222	0,3060	0,7530

Cases Included 33 Missing Cases 0

Breakdown for C1

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,3217	0,1117	0,0353	0,2060	0,5240
Localidad	2	0,2886	0,0824	0,0261	0,1600	0,4320
Localidad	3	0,3710	0,0835	0,0482	0,2790	0,4420
Localidad	4	0,3010	0,0490	0,0155	0,2450	0,4070
Overall		0,3099	0,0842	0,0147	0,1600	0,5240

Cases Included 33 Missing Cases 0

Breakdown for C2

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,5067	0,0849	0,0268	0,3110	0,6160
Localidad	2	0,5381	0,0540	0,0171	0,4720	0,6510
Localidad	3	0,6017	0,1374	0,0793	0,4740	0,7470
Localidad	4	0,5436	0,0501	0,0159	0,4730	0,6130
Overall		0,5360	0,0737	0,0128	0,3110	0,7470

Cases Included 33 Missing Cases 0

Breakdown for C3

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,7423	0,0754	0,0238	0,6000	0,8470
Localidad	2	0,7076	0,1097	0,0347	0,5660	0,8550
Localidad	3	0,9010	0,1038	0,0599	0,7850	0,9850
Localidad	4	0,7868	0,0920	0,0291	0,5630	0,8950
Overall		0,7597	0,1053	0,0183	0,5630	0,9850

Cases Included 33 Missing Cases 0

Breakdown for d1

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,3348	0,1034	0,0327	0,2480	0,5420
Localidad	2	0,3262	0,0998	0,0316	0,1590	0,5140
Localidad	3	0,3073	0,0131	7,535E-03	0,2970	0,3220
Localidad	4	0,3137	0,0460	0,0145	0,2590	0,4110
Overall		0,3233	0,0807	0,0140	0,1590	0,5420

Cases Included 33 Missing Cases 0

Breakdown for d2

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,5768	0,0608	0,0192	0,4830	0,6550
Localidad	2	0,5485	0,1423	0,0450	0,3140	0,8090
Localidad	3	0,6273	0,0349	0,0202	0,5980	0,6660
Localidad	4	0,5062	0,1217	0,0385	0,2650	0,6620
Overall		0,5514	0,1112	0,0194	0,2650	0,8090

Cases Included 33 Missing Cases 0

Breakdown for e1

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,2696	0,0838	0,0265	0,1940	0,4090
Localidad	2	0,2677	0,0947	0,0299	0,1740	0,4700
Localidad	3	0,2430	0,0671	0,0388	0,1860	0,3170
Localidad	4	0,2739	0,0498	0,0157	0,1970	0,3450
Overall		0,2679	0,0745	0,0130	0,1740	0,4700

Cases Included 33 Missing Cases 0

Breakdown for e2

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,4755	0,0902	0,0285	0,2860	0,5810
Localidad	2	0,5181	0,1130	0,0357	0,2850	0,6900
Localidad	3	0,5683	0,0562	0,0325	0,5180	0,6290
Localidad	4	0,4889	0,1039	0,0328	0,2920	0,6650
Overall		0,5009	0,0994	0,0173	0,2850	0,6900

Cases Included 33 Missing Cases 0

Breakdown for f1

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,2564	0,0731	0,0231	0,1880	0,3570
Localidad	2	0,2993	0,1244	0,0393	0,1900	0,5130
Localidad	3	0,2463	0,0333	0,0192	0,2080	0,2680
Localidad	4	0,2068	0,0184	5,827E-03	0,1630	0,2210
Overall		0,2535	0,0858	0,0149	0,1630	0,5130

Cases Included 33 Missing Cases 0

Breakdown for f2

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,2151	0,0369	0,0117	0,1600	0,2680
Localidad	2	0,2215	0,0689	0,0218	0,1120	0,3630
Localidad	3	0,2360	0,0567	0,0327	0,1970	0,3010
Localidad	4	0,2100	0,0249	7,890E-03	0,1830	0,2680
Overall		0,2174	0,0464	8,069E-03	0,1120	0,3630

Cases Included 33 Missing Cases 0

Breakdown for h2

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,1179	0,0151	4,790E-03	0,1000	0,1550
Localidad	2	0,1250	0,0226	7,149E-03	0,0918	0,1590
Localidad	3	0,1477	0,0648	0,0374	0,1030	0,2220
Localidad	4	0,1190	0,0108	3,406E-03	0,1050	0,1430
Overall		0,1231	0,0240	4,173E-03	0,0918	0,2220

Cases Included 33 Missing Cases 0

Breakdown for h3

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,2208	0,1053	0,0333	0,0730	0,3410
Localidad	2	0,2919	0,1569	0,0496	0,1060	0,6630
Localidad	3	0,3323	0,0458	0,0264	0,2810	0,3690
Localidad	4	0,3135	0,0381	0,0120	0,2500	0,3620
Overall		0,2806	0,1110	0,0193	0,0730	0,6630

Cases Included 33 Missing Cases 0

Análisis de Varianza LONGITUD DE SETAS

Statistix 10,0

Análisis longitud de...;

5/2/2021; 9:26:58

Completely Randomized AOV for V2

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,03637	0,01212	8,43	0,0003
Error	30	0,04314	0,00144		
Total	33	0,07951			

Grand Mean 0,2619 CV 14,48

Homogeneity of Variances	F	P
Levene's Test	2,30	0,0971
O'Brien's Test	2,03	0,1310
Brown and Forsythe Test	1,15	0,3448

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	6,74	0,0086
Error	10,4		

Component of variance for between groups 1,298E-03
 Effective cell size 8,2

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,2133	0,0120
2	10	0,2908	0,0120
3	4	0,2930	0,0190
4	10	0,2692	0,0120

Completely Randomized AOV for SC1

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,02767	9,225E-03	4,23	0,0131
Error	30	0,06536	2,179E-03		
Total	33	0,09303			

Grand Mean 0,3361 CV 13,89

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		1,30	0,2933
O'Brien's Test		1,12	0,3558
Brown and Forsythe Test		0,67	0,5769

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	8,17	0,0029
Error	12,3		

Component of variance for between groups 8,556E-04
 Effective cell size 8,2

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,3118	0,0148
2	10	0,3165	0,0148
3	4	0,3945	0,0233
4	10	0,3568	0,0148

Completely Randomized AOV for SC2

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,02482	8,275E-03	4,07	0,0154
Error	30	0,06096	2,032E-03		
Total	33	0,08578			

Grand Mean 0,2945 CV 15,31

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		1,54	0,2236
O'Brien's Test		1,31	0,2891
Brown and Forsythe Test		0,77	0,5186

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	4,86	0,0218
Error	10,9		

Component of variance for between groups 7,581E-04
 Effective cell size 8,2

Localidad	N	Mean	SE
-----------	---	------	----

1	10	0,2534	0,0143
2	10	0,3156	0,0143
3	4	0,3195	0,0225
4	10	0,3044	0,0143

Completely Randomized AOV for C1

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,01161	3,871E-03	2,17	0,1118
Error	30	0,05342	1,781E-03		
Total	33	0,06504			

Grand Mean 0,3386 CV 12,46

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		0,51	0,6775
O'Brien's Test		0,43	0,7339
Brown and Forsythe Test		0,49	0,6928

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	3,14	0,0639
Error	12,4		

Component of variance for between groups 2,538E-04
Effective cell size 8,2

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,3163	0,0133
2	10	0,3329	0,0133
3	4	0,3695	0,0211
4	10	0,3544	0,0133

Completely Randomized AOV for C2

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,01754	5,846E-03	5,44	0,0042
Error	30	0,03224	1,075E-03		
Total	33	0,04978			

Grand Mean 0,3313 CV 9,90

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		1,87	0,1563
O'Brien's Test		1,56	0,2193
Brown and Forsythe Test		1,89	0,1529

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	4,54	0,0279
Error	10,5		

Component of variance for between groups 5,793E-04
Effective cell size 8,2

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,3011	0,0104
2	10	0,3297	0,0104
3	4	0,3685	0,0164
4	10	0,3482	0,0104

Completely Randomized AOV for C3

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,01658	5,528E-03	6,33	0,0019
Error	30	0,02618	8,726E-04		
Total	33	0,04276			

Grand Mean 0,2993 CV 9,87

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		0,27	0,8481
O'Brien's Test		0,18	0,9096
Brown and Forsythe Test		0,66	0,5810

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	6,36	0,0078
Error	12,1		

Component of variance for between groups 5,653E-04
Effective cell size 8,2

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,2767	0,0093
2	10	0,2858	0,0093
3	4	0,3325	0,0148
4	10	0,3222	0,0093

Completely Randomized AOV for d1

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,02101	7,002E-03	2,57	0,0730
Error	30	0,08183	2,728E-03		
Total	33	0,10284			

Grand Mean 0,3322 CV 15,72

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		0,91	0,4462
O'Brien's Test		0,80	0,5027
Brown and Forsythe Test		0,71	0,5525

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	5,73	0,0082
Error	14,9		

Component of variance for between groups 5,190E-04
Effective cell size 8,2

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,3037	0,0165
2	10	0,3210	0,0165
3	4	0,3680	0,0261
4	10	0,3577	0,0165

Completely Randomized AOV for d2

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,00834	2,779E-03	3,26	0,0350
Error	30	0,02555	8,518E-04		

Total 33 0,03389

Grand Mean 0,3360 CV 8,69

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		1,20	0,3250
O'Brien's Test		1,04	0,3877
Brown and Forsythe Test		1,20	0,3268

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	6,78	0,0043
Error	14,8		

Component of variance for between groups 2,341E-04
Effective cell size 8,2

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,3241	0,0092
2	10	0,3244	0,0092
3	4	0,3698	0,0146
4	10	0,3461	0,0092

Completely Randomized AOV for e1

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,00580	1,932E-03	0,67	0,5790
Error	30	0,08690	2,897E-03		
Total	33	0,09270			

Grand Mean 0,3126 CV 17,21

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		0,54	0,6554
O'Brien's Test		0,45	0,7178
Brown and Forsythe Test		0,24	0,8701

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	0,77	0,5337
Error	12,3		

Component of variance for between groups -1,172E-04
Effective cell size 8,2

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,3124	0,0170
2	10	0,2961	0,0170
3	4	0,3110	0,0269
4	10	0,3301	0,0170

Completely Randomized AOV for e2

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,01524	5,081E-03	4,34	0,0118
Error	30	0,03514	1,171E-03		
Total	33	0,05039			

Grand Mean 0,3316 CV 10,32

Homogeneity of Variances		F	P
---------------------------------	--	----------	----------

Levene's Test	2,41	0,0862
O'Brien's Test	2,14	0,1165
Brown and Forsythe Test	2,38	0,0895

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	18,37	0,0000
Error	15,8		

Component of variance for between groups 4,747E-04
 Effective cell size 8,2

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,3125	0,0108
2	10	0,3187	0,0108
3	4	0,3760	0,0171
4	10	0,3459	0,0108

Completely Randomized AOV for f1

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,02652	8,838E-03	5,04	0,0060
Error	30	0,05263	1,754E-03		
Total	33	0,07915			

Grand Mean 0,2865 CV 14,62

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		3,12	0,0408
O'Brien's Test		2,75	0,0598
Brown and Forsythe Test		3,52	0,0267

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	11,67	0,0002
Error	16,5		

Component of variance for between groups 8,602E-04
 Effective cell size 8,2

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,2482	0,0132
2	10	0,2915	0,0132
3	4	0,3360	0,0209
4	10	0,2999	0,0132

Completely Randomized AOV for f2

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,01579	5,264E-03	4,62	0,0090
Error	30	0,03419	1,140E-03		
Total	33	0,04998			

Grand Mean 0,2774 CV 12,17

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		1,31	0,2885
O'Brien's Test		1,13	0,3525
Brown and Forsythe Test		1,52	0,2305

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	7,39	0,0030
Error	14,6		

Component of variance for between groups 5,008E-04
Effective cell size 8,2

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,2499	0,0107
2	10	0,2719	0,0107
3	4	0,2973	0,0169
4	10	0,3026	0,0107

Completely Randomized AOV for h2

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,00953	3,177E-03	1,55	0,2217
Error	30	0,06144	2,048E-03		
Total	33	0,07097			

Grand Mean 0,2341 CV 19,33

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		2,02	0,1325
O'Brien's Test		1,75	0,1775
Brown and Forsythe Test		2,50	0,0788

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	1,08	0,4008
Error	10,6		

Component of variance for between groups 1,371E-04
Effective cell size 8,2

Localidad	N	Mean	SE
1	10	0,2298	0,0143
2	10	0,2191	0,0143
3	4	0,2760	0,0226
4	10	0,2368	0,0143

Completely Randomized AOV for h3

Source	DF	SS	MS	F	P
Localidad	3	0,00718	2,394E-03	2,33	0,0960
Error	28	0,02879	1,028E-03		
Total	31	0,03597			

Grand Mean 0,2491 CV 12,87

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		2,00	0,1368
O'Brien's Test		1,73	0,1839
Brown and Forsythe Test		2,09	0,1236

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Localidad	3,0	3,29	0,0643
Error	10,5		

Component of variance for between groups 1,763E-04

Effective cell size

7,8

Localidad	N	Mean	SE
1	8	0,2360	0,0113
2	10	0,2360	0,0101
3	4	0,2713	0,0160
4	10	0,2637	0,0101

Prueba de Medias de LONGITUD DE SETAS

Statistix 10,0

Análisis longitud de...;

5/2/2021; 9:29:23

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of V2 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
3	0,2930	A
2	0,2908	A
4	0,2692	A
1	0,2133	B

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0170 TO 0,0224

Critical Q Value 3,846 Critical Value for Comparison 0,0461 TO 0,0610

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 SC1 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
3	0,3945	A
4	0,3568	AB
2	0,3165	B
1	0,3118	B

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0209 TO 0,0276

Critical Q Value 3,846 Critical Value for Comparison 0,0568 TO 0,0751

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 SC2 by Localidad

Localidad	Mean	1	2	3
1	0,2534			
2	0,3156	0,0622*		
3	0,3195	0,0661	0,0039	
4	0,3044	0,0510	0,0112	0,0151

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0202 TO 0,0267

Critical Q Value 3,846 Critical Value for Comparison 0,0548 TO 0,0725

The homogeneous group format can't be used because of the pattern of significant differences.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of C1 by Localidad

Localidad Mean Homogeneous Groups

3	0,3695	A
4	0,3544	A
2	0,3329	A
1	0,3163	A

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0189 TO 0,0250

Critical Q Value 3,846 Critical Value for Comparison 0,0513 TO 0,0679

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of C2 by Localidad**Localidad Mean Homogeneous Groups**

3	0,3685	A
4	0,3482	A
2	0,3297	AB
1	0,3011	B

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0147 TO 0,0194

Critical Q Value 3,846 Critical Value for Comparison 0,0399 TO 0,0528

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 C3 by Localidad**Localidad Mean Homogeneous Groups**

3	0,3325	A
4	0,3222	A
2	0,2858	AB
1	0,2767	B

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0132 TO 0,0175

Critical Q Value 3,846 Critical Value for Comparison 0,0359 TO 0,0475

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 d1 by Localidad**Localidad Mean Homogeneous Groups**

3	0,3680	A
4	0,3577	A
2	0,3210	A
1	0,3037	A

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0234 TO 0,0309

Critical Q Value 3,846 Critical Value for Comparison 0,0635 TO 0,0840

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of d2 by Localidad**Localidad Mean Homogeneous Groups**

3	0,3698	A
4	0,3461	A

2 0,3244 A
 1 0,3241 A

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0131 TO
 0,0173
 Critical Q Value 3,846 Critical Value for Comparison 0,0355 TO
 0,0470

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of e1 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
4	0,3301	A
1	0,3124	A
3	0,3110	A
2	0,2961	A

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0241 TO
 0,0318
 Critical Q Value 3,846 Critical Value for Comparison 0,0655 TO
 0,0866

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of e2 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
3	0,3760	A
4	0,3459	AB
2	0,3187	B
1	0,3125	B

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0153 TO
 0,0202
 Critical Q Value 3,846 Critical Value for Comparison 0,0416 TO
 0,0551

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 f1 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
3	0,3360	A
4	0,2999	A
2	0,2915	AB
1	0,2482	B

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0187 TO
 0,0248
 Critical Q Value 3,846 Critical Value for Comparison 0,0509 TO
 0,0674

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 f2 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
4	0,3026	A
3	0,2973	AB
2	0,2719	AB
1	0,2499	B

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0151 TO
 0,0200
 Critical Q Value 3,846 Critical Value for Comparison 0,0411 TO
 0,0543

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 h2 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
3	0,2760	A
4	0,2368	A
1	0,2298	A
2	0,2191	A

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0202 TO
 0,0268
 Critical Q Value 3,846 Critical Value for Comparison 0,0550 TO
 0,0728

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of h3 by Localidad

Localidad	Mean	Homogeneous Groups
3	0,2713	A
4	0,2637	A
1	0,2360	A
2	0,2360	A

Alpha 0,05 Standard Error for Comparison 0,0143 TO
 0,0196
 Critical Q Value 3,862 Critical Value for Comparison 0,0392 TO
 0,0536

There are no significant pairwise differences among the means.

RESUMEN DE DESCRIPTIVOS ESTADÍSTICOS PARA LONGITUD DE SETAS

Statistix 10,0 Análisis longitud de...;
 5/2/2021; 9:30:07

Breakdown for V2

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,2133	0,0399	0,0126	0,1390	0,2680
Localidad	2	0,2908	0,0371	0,0117	0,2440	0,3530
Localidad	3	0,2930	0,0647	0,0324	0,2470	0,3880
Localidad	4	0,2692	0,0208	6,581E-03	0,2380	0,3040
Overall		0,2619	0,0491	8,418E-03	0,1390	0,3880

Cases Included 34 Missing Cases 0

Breakdown for SC1

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,3118	0,0634	0,0201	0,1710	0,3820
Localidad	2	0,3165	0,0262	8,282E-03	0,2830	0,3620
Localidad	3	0,3945	0,0273	0,0136	0,3610	0,4260
Localidad	4	0,3568	0,0480	0,0152	0,2690	0,4110
Overall		0,3361	0,0531	9,106E-03	0,1710	0,4260

Cases Included 34 Missing Cases 0

Breakdown for SC2

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,2534	0,0326	0,0103	0,2110	0,3110
Localidad	2	0,3156	0,0563	0,0178	0,2330	0,4120
Localidad	3	0,3195	0,0574	0,0287	0,2760	0,4040
Localidad	4	0,3044	0,0379	0,0120	0,2410	0,3510
Overall		0,2945	0,0510	8,744E-03	0,2110	0,4120

Cases Included 34 Missing Cases 0

Breakdown for C1

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,3163	0,0304	9,621E-03	0,2750	0,3650
Localidad	2	0,3329	0,0430	0,0136	0,2850	0,4020
Localidad	3	0,3695	0,0299	0,0150	0,3510	0,4140
Localidad	4	0,3544	0,0535	0,0169	0,3080	0,4960
Overall		0,3386	0,0444	7,613E-03	0,2750	0,4960

Cases Included 34 Missing Cases 0

Breakdown for C2

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,3011	0,0412	0,0130	0,2230	0,3580
Localidad	2	0,3297	0,0361	0,0114	0,2760	0,3860
Localidad	3	0,3685	0,0321	0,0160	0,3260	0,4030
Localidad	4	0,3482	0,0153	4,832E-03	0,3240	0,3780
Overall		0,3313	0,0388	6,661E-03	0,2230	0,4030

Cases Included 34 Missing Cases 0

Breakdown for C3

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,2767	0,0264	8,364E-03	0,2460	0,3230
Localidad	2	0,2858	0,0317	0,0100	0,2410	0,3280
Localidad	3	0,3325	0,0255	0,0128	0,3010	0,3630
Localidad	4	0,3222	0,0314	9,919E-03	0,2850	0,3950
Overall		0,2993	0,0360	6,173E-03	0,2410	0,3950

Cases Included 34 Missing Cases 0

Breakdown for d1

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,3037	0,0395	0,0125	0,2330	0,3590
Localidad	2	0,3210	0,0398	0,0126	0,2780	0,3820
Localidad	3	0,3680	0,0203	0,0102	0,3400	0,3840
Localidad	4	0,3577	0,0762	0,0241	0,2670	0,5520
Overall		0,3322	0,0558	9,574E-03	0,2330	0,5520

Cases Included 34 Missing Cases 0

Breakdown for d2

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,3241	0,0335	0,0106	0,2640	0,3630
Localidad	2	0,3244	0,0355	0,0112	0,2510	0,3680
Localidad	3	0,3698	0,0121	6,060E-03	0,3560	0,3850
Localidad	4	0,3461	0,0202	6,387E-03	0,3060	0,3820
Overall		0,3360	0,0320	5,496E-03	0,2510	0,3850

Cases Included 34 Missing Cases 0

Breakdown for e1

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,3124	0,0674	0,0213	0,2180	0,4610
Localidad	2	0,2961	0,0427	0,0135	0,2490	0,3890
Localidad	3	0,3110	0,0409	0,0205	0,2750	0,3570
Localidad	4	0,3301	0,0524	0,0166	0,2450	0,4510
Overall		0,3126	0,0530	9,090E-03	0,2180	0,4610

Cases Included 34 Missing Cases 0

Breakdown for e2

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,3125	0,0464	0,0147	0,2320	0,3660
Localidad	2	0,3187	0,0364	0,0115	0,2610	0,3660
Localidad	3	0,3760	3,367E-03	1,683E-03	0,3740	0,3810
Localidad	4	0,3459	0,0204	6,463E-03	0,3150	0,3790
Overall		0,3316	0,0391	6,701E-03	0,2320	0,3810

Cases Included 34 Missing Cases 0

Breakdown for f1

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,2482	0,0638	0,0202	0,1480	0,3640
Localidad	2	0,2915	0,0312	9,867E-03	0,2360	0,3320
Localidad	3	0,3360	9,381E-03	4,690E-03	0,3220	0,3420
Localidad	4	0,2999	0,0279	8,835E-03	0,2440	0,3420
Overall		0,2865	0,0490	8,399E-03	0,1480	0,3640

Cases Included 34 Missing Cases 0

Breakdown for f2

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,2499	0,0245	7,745E-03	0,1950	0,2850
Localidad	2	0,2719	0,0406	0,0128	0,2240	0,3450
Localidad	3	0,2973	0,0149	7,432E-03	0,2800	0,3160
Localidad	4	0,3026	0,0385	0,0122	0,2440	0,3750
Overall		0,2774	0,0389	6,674E-03	0,1950	0,3750

Cases Included 34 Missing Cases 0

Breakdown for h2

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,2298	0,0322	0,0102	0,1800	0,2760
Localidad	2	0,2191	0,0667	0,0211	0,0850	0,3320
Localidad	3	0,2760	0,0495	0,0247	0,2230	0,3390
Localidad	4	0,2368	0,0228	7,200E-03	0,1920	0,2770
Overall		0,2341	0,0464	7,953E-03	0,0850	0,3390

Cases Included 34 Missing Cases 0

Breakdown for h3

Variable	Level	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
Localidad	1	0,2360	0,0246	8,705E-03	0,2020	0,2740
Localidad	2	0,2360	0,0481	0,0152	0,1410	0,3180
Localidad	3	0,2713	0,0244	0,0122	0,2420	0,2960
Localidad	4	0,2637	0,0148	4,679E-03	0,2380	0,2800
Overall		0,2491	0,0341	6,022E-03	0,1410	0,3180

Cases Included 32 Missing Cases 2