

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



PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:

“Evaluación de la efectividad de *Cladosporium* sp. en el control de *Tetranychus urticae* Koch
en el cultivo de *Rubus glaucus* Benth”

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

AUTOR

WILMER EDUARDO TOAPANTA BAYAS

TUTOR

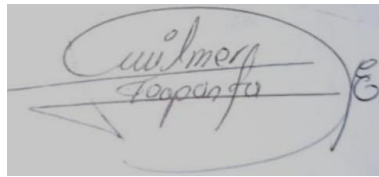
Ing. Olguer León Msc.

CEVALLOS - ECUADOR

2023

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

“El suscrito, WILMER EDUARDO TOAPANTA BAYAS, portador de la cédula de identidad número: 1804598165, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de Investigación titulado: **“Evaluación de la efectividad de *Cladosporium* sp. en el control de *Tetranychus urticae* Koch en el cultivo de *Rubus glaucus* Benth”** es original, autentico 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”

A handwritten signature in black ink on a light background. The signature reads "Wilmer Toapanta Bayas" in a cursive script. The name "Wilmer" is on the top line, "Toapanta" is on the middle line, and "Bayas" is on the bottom line. There is a large, stylized flourish on the right side of the signature.

.....

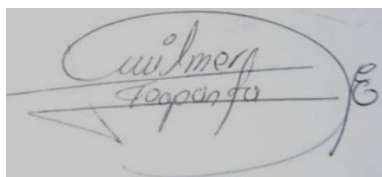
WILMER EDUARDO TOAPANTA BAYAS

DERECHOS DE AUTOR

“Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado **“Evaluación de la efectividad de *Cladosporium sp.* en el control de *Tetranychus urticae* Koch en el cultivo de *Rubus glaucus* Benth”** como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniera Agrónoma, 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 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 parte de él”

A handwritten signature in black ink, enclosed in a faint oval. The signature reads "Wilmer Toapanta" with a stylized flourish on the right side.

.....

WILMER EDUARDO TOAPANTA BAYAS

“Evaluación de la efectividad de *Cladosporium* sp. en el control de *Tetranychus urticae* Koch en el cultivo de *Rubus glaucus* Benth”

REVISADO POR:

.....

Ing. Olguer Alfredo León Gordon

TUTOR

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN

FECHA

.....

01/03/2023

Ing. PhD Patricio Núñez Torres

PRESIDENTE TRIBUNAL

.....

01/03/2023

Ing. Michel Leiva Mora, Ph. D.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

.....

01/03/2023

Dr. Carlos Vásquez Freytez, Ph. D.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

DEDICATORIA

A mi padre Dios, por ser mi guía durante todo este arduo camino, por brindarme las herramientas necesarias y por poner en mi camino a las personas adecuadas para cumplir con este objetivo.

A mi querida madre, Clemencia Bayas por ser el principal motivo para buscar y superar nuevos retos, gracias a sus sabios consejos me han motivado a seguir siempre adelante le dedico cada esfuerzo de mi vida.

A mi hermano Roberto, quién a cada momento me demuestra que la vida está llena de dificultades pero también de oportunidades, por los constantes ánimos y palabras de aliento. Eres el mejor hermano del mundo.

A mi hermano William, quién desde el cielo me bendice a cada momento, tu ausencia ha sido parte de mi motivación para darle a nuestra madre dicha y felicidad con mi constante esfuerzo.

A mi sobrina Mishell, por ser el motivo para luchar y ser una mejor persona cada día, sus risas y abrazos me motivan a seguir adelante. Espero pueda darte el ejemplo que necesitas que pueda servirte en tu vida diaria y académica. Gracias mi niña por haber llegado a mi vida.

AGRADECIMIENTO

A mi madre y a mi hermano por ser mi mano derecha en la búsqueda de una vida académica profesional, agradezco por tenerlos aún en mi vida, sus consejos han sido la guía que he necesitado en momentos de angustia. Gracias por el amor infinito su ejemplo de lucha han sido las herramientas que siempre me han convencido de que con esfuerzo y dedicación cualquier objetivo es posible alcanzar.

A la Universidad Técnica de Ambato, en conjunto con la Facultad de Ciencias Agropecuarias por permitirme formarme como un profesional. A los docentes que me inculcaron con conocimientos los mismos que me permitirán desenvolverme en mi vida laboral.

Al Ing. Olguer León, quien desde el inicio ha sido mi motivación para ejercer tan bonita profesión y quien finalmente como mi tutor ha sabido guiarme con sus conocimientos, materiales y consejos que fueron parte fundamental en el transcurso de este camino.

Al Dr. Michael Leiva Mora, por su completa disposición para guiarme en el desarrollo de este proyecto y por su constante motivación que eventualmente me serán de utilidad en mi vida profesional.

A la Ing. Nataly Solís, por todo el apoyo brindado con la disposición de materiales y equipos necesarios y por animarme constantemente en el trabajo de laboratorio.

A todos mis amigos, en especial a Catherine, Tatiana, Nayeli, Álvaro y Ángeles por brindarme su amistad y apoyo. Me han enseñado el valor de caminar juntos en la búsqueda de un objetivo.

ÍNDICE

CAPÍTULO I	12
MARCO TEÓRICO	12
1.1 Introducción	12
1.2 Antecedentes investigativos	15
1.3 Categorías fundamentales o marco conceptual	16
1.3.1 Cultivo de Mora (<i>Rubus glaucus</i> Benth).....	16
1.3.2. Ácaro de la mora (<i>Tetranychus urticae</i>)	23
1.3.3. Hongo acaropatógeno (<i>Cladosporium sp.</i>).....	28
1.3.4. Aislamiento en medios de cultivo	29
1.4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	29
1.4.1. HIPÓTESIS	29
1.4.2. OBJETIVOS.....	30
Objetivo General	30
Objetivos específicos	30
CAPÍTULO II	31
METODOLOGÍA	31
2.2. Características del sitio experimental	31
2.3. Equipos y Materiales	32
2.3.1. Material biológico	32
2.3.2. Equipos.....	32
2.3.3. Materiales:	33
2.4. Factores de estudio	33
2.4.1. Objetivo 1.....	34
2.4.2. Objetivo 2.....	34
2.4.3. Objetivo 3.....	34
2.5. Diseño experimental	34
2.6. Manejo del experimento	35

2.6.1. Objetivo 1. Determinar la dosis y la frecuencia de <i>Cladosporium</i> sp que mayor control ejerzan sobre <i>T. urticae</i>	35
2.6.2. Objetivo 2. Evaluar la eficiencia de <i>Cladosporium</i> sp. para el control de <i>Tetranychus urticae</i> en condiciones de laboratorio.	36
2.6.3. Objetivo 3. Evaluar la eficiencia de <i>Cladosporium</i> sp. para el control de <i>Tetranychus urticae</i> en condiciones campo en <i>R. glaucus</i>	37
2.7. VARIABLE RESPUESTA	38
2.9. Procesamiento de la información.....	38
CAPÍTULO III.....	39
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
3.1 Obtención de cepas puras de <i>Cladosporium acaropatógeno</i> previamente extraído de 1 kg de arroz.	39
3.2 Mortalidad de ácaros	42
3.2.1 Eficiencia de <i>Cladosporium</i> sp. definida por la mortalidad de <i>Tetranychus urticae</i> dentro del laboratorio.	42
3.2.2 Eficiencia de <i>Cladosporium</i> sp. definida por la mortalidad de <i>Tetranychus urticae</i> a campo abierto.	43
CAPITULO IV	46
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	46
4.1. CONCLUSIONES.....	46
4.2 RECOMENDACIONES.....	46
4.3 BIBLIOGRAFÍA.....	47
5.ANEXOS	52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla.1 Taxonomía de la mora.....	17
Tabla.2 Etapas fenológicas.....	20
Tabla.3 Taxonomía de <i>T. urticae</i>.	24

Tabla.4	. Taxonomía de <i>Cladosporium sp.</i>	28
Tabla.5	. Descripción de la ubicación del ensayo	31
Tabla.6	. Características del sitio experimental.....	31
Tabla.7	. Factores de estudio.....	33
Tabla.8	. Crecimiento de colonias de <i>Cladosporium</i> acaropatógeno.....	39
Tabla.9	 Cálculo de concentración	41
Tabla.10	. Porcentaje de mortalidad de araña roja en el cultivo de mora de castilla (<i>Rubus glaucus</i> Benth)	42
Tabla.11	. Porcentaje de mortalidad – Campo.....	43
Tabla.12	. Determinación de la mejor dosis en campo abierto con análisis de distribución T – student.....	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura1	. Recolección de ácaros en las parcelas de mora.....	52
Figura2	 Establecimiento de unidades de cría de ácaros (<i>T. urticae</i>).....	52
Figura3	. Establecimiento de plantas contaminadas en campo abierto....	52
Figura4	 Siembra y purificación de <i>Cladosporium</i> acaropatógeno.....	53
Figura5	. Elaboración de dosis.....	53
Figura6	. Aplicacion de dosis en laboratorio.....	54
Figura7	. Aplicación de dosis en campo abierto.....	54
Figura8	. ANALISIS DE VARIANZA/ MORTALIDAD DE ÁCAROS... 	55

RESUMEN

La mora de castilla conocida como *Rubus glaucus* es un producto que ha llegado alcanzar altas tasas de comercialización, se conoce que en Ecuador precisamente en las provincias de Chimborazo, Tungurahua y Cotopaxi han logrado alcanzar la producción de hasta 30 toneladas por hectárea por esto es necesario el control de plagas cómo la araña roja conocida mundialmente cómo *Tetranychus urticae* siendo está una plaga muy prolifera que ataca los cultivos en todos sus estadios ninfales. El presente proyecto está centrado en la purificación y aplicación del hongo entomopatógeno *Cladosporium sp* para determinar la eficiencia mediante la mortalidad de las poblaciones de *T. urticae*. El hongo se sembró en cajas Petri con medio PDA el mismo fue purificado 2 veces hasta obtener colonias de apariencia homogénea qué se reconoce principalmente por su peculiar color azul olivo que se mira por los dos lados de la caja petri. Para las unidades de cría de ácaros se realizó poblaciones controladas con 5 repeticiones con 10 unidades para cada tratamiento y se determinó un testigo y 4 dosis del aislado de *cladosporium acaropatógeno*, las cuales fueron T1 (Testigo), T2 (2×10^3), T3 (2×10^4), T4 (2×10^5) y T5 (2×10^6 conidios/ml), Al final de 12 días se observó que el T5 y T4 logró mortalidades de 64% (a) y el 48% (ab) respectivamente. T3 presento 40% mortalidad, mientras que T2 y T1 mortalidad de 28 y 26%. El T5 y T4 probadas en el laboratorio fueron llevadas al campo y después de 15 días de observación dieron 49 y 32% de mortalidad de *T. urticae*, los mismos fueron examinados bajo el análisis de distribución estadística “T – student” con el objetivo de determinar la dosis de *Cladosporium entomopatógeno* que mejor control ejerza sobre la araña roja de la mora.

Palabras clave: *Cladosporium entomopatógeno*, *Tetranychus urticae*, *R. glaucus* Benth, mortalidad.

SUMMARY

The blackberry known as *Rubus glaucus* is a product that has reached high commercialization rates, it is known that in Ecuador, precisely in the provinces of Chimborazo, Tungurahua and Cotopaxi, they have managed to reach production of up to 30 tons per hectare, for this reason it is necessary to pest control how the red spider known worldwide as *Tetranychus urticae* being a very proliferating pest that attacks crops in all its nymphal stages. This project is focused on the purification and application of the entomopathogenic fungus *Cladosporium sp* to determine the efficiency through the mortality of *T. urticae* populations. The fungus was planted in Petri dishes with PDA medium, it was purified 2 times until obtaining colonies with a homogeneous appearance, which can be recognized mainly by its peculiar olive blue color that can be seen from both sides of the petri dish. For the mite breeding units, controlled populations were carried out with 5 repetitions with 10 units for each treatment and a control and 4 doses of the *acaropathogenic cladosporium* isolate were determined, which were T1 (Control), T2 (2×10^3), T3 (2×10^4), T4 (2×10^5) and T5 (2×10^6 conidia/ml), at the end of 12 days it was observed that T5 and T4 achieved mortalities of 64% (a) and 48% (ab) respectively. T3 presented 40% mortality, while T2 and T1 mortality of 28 and 26%. The T5 and T4 tested in the laboratory were taken to the field and after 15 days of observation they gave 49 and 32% mortality of *T. urticae*, they were examined under the statistical distribution analysis "T – student" with the objective of determining the dose of entomopathogenic *Cladosporium* that best controls the blackberry spider mite.

Key words: *Entomopathogenic Cladosporium*, *Tetranychus urticae*, *R. glaucus* Benth, mortality.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Introducción

La mora de castilla se caracteriza por su color rojo que presenta en sus últimas etapas fenológicas y pertenece a una de las 21 especies más importantes del Ecuador pues se conoce que los principales países del mundo que cultivan y exportan mora son Francia, Bélgica, Chile, Australia, Serbia, Holanda, México, Estados Unidos y España, también se encuentra distribuido por las zonas altas de El Salvador, Panamá, Colombia, Guatemala y Costa Rica, siendo Colombia el mayor productor (**Viteri et al., 2016**).

Se ha registrado que de *R. glaucus* se encuentra en la serranía ecuatoriana a alturas de entre 1200 a 3500 msnm. la temperatura a la cual se desarrolla va desde 16 a 18° C con una humedad relativa de 70 a 80%, entre sus principales propiedades nutricionales están el bajo valor en calorías, es rica en vitamina C, además destaca el contenido de calcio, hierro y ácidos orgánicos los mismos que son importantes en la salud humana (**González et al., 2019**)

La actividad económica principal del Ecuador es la agricultura que gracias a su biodiversidad forma parte del desarrollo en conjunto con otros productos de la sierra tales como maíz, trigo, frejol, arveja entre otros, sin embargo no todos los productos logran alcanzar una alta comercialización pues no consiguen darle el valor agregado que necesitan, pues la mora de Castilla (*R. glaucus*) ha logrado alcanzar entre 20 y 30 toneladas por hectárea al año registrada en las provincias de Chimborazo, Tungurahua y Cotopaxi, su contenido de azúcar

son superiores a los 12 grados brix puesto que la mora de castilla es uno de los frutos que se encuentra bajo la certificación de las Buenas Prácticas de Manufactura, realizada con el fin de brindar a los productores una alta seguridad en los procesos de transformación en su registro sanitario y su producto final (**Saltos et al., 2020**).

La araña roja de dos manchas (*T. urticae* Koch), es una plaga eextremadamente polífaga puede causar pérdidas significativas en el rendimiento de *R. glaucus*, además de otros cultivos agrícolas, como frutas, algodón, hortalizas y plantas ornamentales pues poseen un ciclo de vida corto y se desarrollan mediante 5 estadio ninfales las cuales son: huevos, larva, protoninfa, deutoninfa y adulto, se presenta en cualquier época del año especialmente en los tiempos de sequía, los síntomas están relacionados por el color bronceado en las hojas y por la limitación en su crecimiento, hospedan en el envés de las hojas viejas para luego ser distribuida por toda la planta (**Bolaños, 2020**).

La presencia producen hilos de seda en el envés de la hoja en las nervaduras primarias y secundarias, con el propósito de proteger los huevos, las mismas que no pueden ser observadas a simple vista, el tamaño de los adultos varían entre 0,4 mm y 0,6 mm en las hembras, además de que cada hembra puede poner entre 3 – 5 huevos por día y en los machos su diámetro es menor pues en su etapa adulta presentan tamaños de 0,2mm hasta 0,4mm y su reproducción es haploide contrario al de las hembras (**Fabulo, 2009**).

T. urticae se caracteriza por sus cuatro pares de patas en su forma adulta, puede ser distinguida por los dos puntos ubicados en sus costados y entre su cuerpo y cabeza no existe una división pronunciada, la vida de las hembras puede durar de 20 a 24 días y los machos

hasta 14 días en temperaturas de 28 - 30°C, la proliferación es amplia cuando el clima es cálido y seco los huevos son lisos, esféricos y de color amarillento el mismo que va cambiando según su alimentación pues varía entre amarillo, verde y rojo (Sá Argolo, 2012).

Freire (2018), mencionó en su investigación que en el caso de las frutas, cuando la araña roja ataca esta no logra desarrollar su coloración puesto que la invasión del acaro evita su debida maduración fenológica lo que afecta la calidad del fruto, por esto los agricultores con el fin de reducir los daños que provoca *T. urticae* suelen utilizar acaricidas sintéticos los cuales han generan resistencia a los ingredientes activos debido al uso frecuente.

Guzmán et al. (2019) en su estudio acerca del potencial de *Cladosporium* afirmó que los hongos fitopatógenos son efectivos contra ácaros y otros artrópodos, demostrando que *Cladosporium* sp. es una excelente elección para el control biológico de este ácaro pues presentó resultados de mortalidad del 50,95 al 74,76% en 13 cepas con dosis mínimas de 2×10^4 conidios/ml y de 2×10^8 conidios/ml como máximo, lo que se determinó que este hongo sea una alternativa para el control de *T. urticae*.

1.2 Antecedentes investigativos

En el Ecuador la producción de mora *R. glaucus* está considerada como el generador de importantes ingresos para los agricultores debido a su alto valor nutricional, en los últimos años las instituciones agrícolas han realizado investigaciones proyectadas a la tecnificación de esta fruta, generando métodos de control y prevención de plagas y enfermedades que provocan pérdidas parciales hasta totales. (Moreno *et al.*, 2016).

Gallegos, 2012 considera que un aspecto importante en la producción de mora es el frecuente ataque de plagas y enfermedades, dentro de las plagas se encuentra el ácaro *Tetranychus urticae* Koch cuya presencia es dependiente del clima adecuados para su propagación, además es considerado uno de los limitantes que afecta del 60 al 80% de la producción anual por esta razón la dependencia de usar químicos fúngicos poco amigables con el ambiente que con el paso del tiempo afecta la salud alimentaria se ha vuelto prioridad entre los consumidores por lo que se le considera de vital importancia incrementar el control biológico en alimentos como *R. glaucus*.

Debido a la resistencia que provoca el constante uso de plaguicidas y los riesgos a la salud que involucra la digestión de las mismas se ha creado la tendencia de establecer nuevas alternativas para el control de plagas y enfermedades que sean sustentables para el manejo de agentes biocontrolador (Bale *et al.*, 2008). Con este enfoque del biocontrol se ha desarrollado nuevas alternativas selectivos y biodegradables, a esto incluye el uso de agentes de biocontrol como depredadores, parasitoides, bacterias y hongos entomopatógenos (Schiesari *et al.* 2013).

Ribeiro et al. (2016), en su ensayo con el hongo antagonista *Bacillus subtilis* para el control de *T. urticae*, preparó 1 ml de *B. subtilis* en 1 litro de agua destilada para obtener dosis de 1, 2 y 3 cc.l-1 con concentraciones de 1×10^6 UFC ml-1, 2×10^6 UFC ml-1 y 3×10^6 UFC ml-1, respectivamente, así mismo la actividad de *B. subtilis* fue valorada mediante técnicas de contacto usando hembras de araña roja de 48 h de edad. Para el bioensayo se utilizó 10 hembras ubicados en 5 repeticiones más un testigo en los cuales los discos de hoja fueron sumergidos en las concentraciones por 20 segundos y colocados con el haz hacia abajo para finalmente ser observada cada 24 h durante 3 días consecutivos dando como resultado final la muerte total de las hembras, pues de esta manera demuestra la efectividad de los hongos antagonistas como agentes de biocontrol.

Gómez et al. (2019), demostraron en su investigación que el género *Cladosporium cladosporoides* es un potencial agente biológico para el control de *T. urticae* pues en su bioensayo probado con 13 cepas de *C. cladosporoides* dividido en 5 concentraciones diferentes siendo la mínima de 2×10^4 y la máxima de 2×10^8 conidios ml⁻¹, además de comparar con un control positivo de *Beauveria bassiana* con concentración de 1×10^6 conidios ml⁻¹, dando como resultado una mortalidad total de 50,95% al 74,76 % probando así la patogenicidad de este hongo contra *T. urticae*.

1.3 Categorías fundamentales o marco conceptual

1.3.1 Cultivo de Mora (*Rubus glaucus* Benth)

Historia

La mora de castilla es considerada como un alimento importante en el ámbito comercial, por lo general es cultivada en zonas tropicales a alturas de hasta 3000 msnm, perteneciente al grupo de las bayas, se sabe que es originaria de América especialmente de Colombia, esta

planta empieza a dar frutos entre los 6 a 8 meses luego del trasplante, es muy resistente y duradera ya que puede llegar a vivir hasta más de 10 años (Casaca, 2005).

Aunque existen más de 300 especies de *R. glaucus* solo 9 de ellas tiene valor comercial y contiene un gran valor nutricional, la importancia de esta fruta ha hecho que INIAP realice varios estudios analizando así la diversidad genética (Montalvo y Brito, 2010). En Ecuador se encuentran alrededor de 5000 ha de cultivo de mora en las cuales son beneficiarios los pequeños productores, esta fruta es comercializada en los mercados locales, pero se han intentado comercializarlas hacia países como Japón, Estados Unidos, Bélgica, Francia. Pero para lograrlo comercializar esta fruta debemos implementar buenas prácticas que garantice su calidad y de esta manera también se garantizara la rentabilidad del cultivo (INIAP & MAGAP, 2016).

Clasificación taxonómica de la mora

Según Bohórquez (2016) la taxonomía de la mora de catilla es la siguiente.

Tabla.1 Taxonomía de la mora

Rubus glaucus	
	
Reino:	Plantae
División:	Angiospermae
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Rosales
Especie:	R. glaucus

Fuente: Tomado de Bohórquez (2016).

Descripción botánica de la mora

Montalvo y Brito 2010 mencionan que la planta de la mora correspondiente al género *Rubus*, es bastante cercana al orden de los rosales, es una especie perenne, arbustiva y con tallos rastreros que crean macollas, los brotes de las flores aparecen en forma de racimos que contienen de 15 a 22 flores, pero a veces se sitúan en las axilas de las hojas. Mientras que **Rivadeneira 2012**, establece que este cultivo se desarrolla en todo el mundo, por lo general el cultivo de mora de la parte de Europa y de Norte América crecen de forma más vigorosa, la parte aérea se remueve año tras año, además que este cultivo se ha ido incrementando cada vez más gracias a sus beneficios nutricionales.

- **Raíces:** Está formada a partir del cuello, son nudosas y filamentosas crecen de manera horizontal y alcanzan una profundidad de 30 a 50 cm, la profundidad depende del tipo de suelo, estos pueden ser: arcillosos, arenosos o limosos y también depende de los nutrientes, la humedad y la temperatura (**Castro, 2005**).
- **Tallos:** Son de longitud variable y todos los tipos de mora contienen espinas en forma de anzuelo a excepción de una variedad ya que ese tipo de mora color vino poseen espinas bastante delgadas en los tallos son y se pueden ramificar (**Franco, 2000**).
- **Flores:** Caracterizada por su de color blanco o violeta, miden aproximadamente de 2 a 2,5 cm y tienden a crecer en forma de racimos, la flor contiene 5 pétalos y son hermafroditas de varios estambres y pistilos los mismos que son en parte estériles que provocan que los botones florales no den frutos (**Rivadeneira, 2012**).

- **Fruto:** Cada pistilo desarrollara una drupa llegando a formar varias drupas y dentro de cada drupa existe una semilla, el número de drupas depende de la especie de la mora ya que algunas especies forman 30 drupas a 45, llegando algunas plantas a formar cerca de las 100, los frutos son de forma esférica y otras de forma ovoidal, las moras pueden ser grandes, medianos o pequeños (**Castro, 2005**).
- **Hojas:** Las hojas son alternas, trifoliadas, elípticas y de bordes acerradas presentan color verde por la parte de arriba y un color blanquecino por la parte de abajo, las hojas pueden medir de 5 a 7 cm de largo y también poseen espinas en la parte inferior (**Montalvo y Brito, 2010**)

Ciclo de la mora: Se pueden diferenciar tres etapas principalmente en la mora de castilla las cuales son:

- ✓ **La reproductiva:** Siendo la primera etapa en donde se puede reproducir *R. glaucus* mediante estacas, puntas o siembra directa.
- ✓ **La vegetativa:** Esta etapa inicia después de realizar los trasplantes y la forma de los cuidados agrícolas para que esta pueda desarrollar de una manera adecuada.
- ✓ **La productiva:** Inicia desde la floración hasta la cosecha (**Castro, 2005**).

Condiciones agroecológicas del cultivo

El cultivo de la mora de castilla se puede adaptar a varios rangos de altitud que pueden estar entre los 1200 a 3500 msnm, pero se obtienen mejores resultados a entre los 1800 a 2400 msnm, pues más de 2400 msnm pueden ser propensas a sufrir heladas que provocan quemazón, en los tallos tal temperatura debe estar en un rango adecuado que va desde los 12 a 16 °C ya que de no ser así la humedad que exista en el cultivo favorecerá a la aparición de enfermedades (**Delgado, 2012**).

Etapas fenológicas

Según Viteri (2012) menciona que la fenología de *R. glaucus* está comprendida por todas sus etapas las mismas que forman parte del ciclo de vida. El cultivo de mora tiene las siguientes etapas.

Tabla.2 Etapas fenológicas

Etapas fenológicas		
Inicial	Vegetativa	Reproductiva
0 a 40 días	41 a 130 días	131 a 224 días
Etapas en la que se considera la germinación de la semilla, también puede darse por esqueje o siembra de puntas.	En esta etapa empieza al finalizar los 41 días aproximados de la siembra llamada etapa de floración en la cual incrementa la cantidad de nutrientes necesarios para hojas y ramas.	La última etapa está considerada para la formación de frutos y la cosecha que generalmente se da 50 días después de la formación del fruto.

Fuente: Tomado de Viteri (2012)

Plagas y Enfermedades

Enfermedades

La gran parte de enfermedades son ocasionadas por hongos y bacterias, pero en ocasiones también suelen ser afectadas por otros factores bióticos y el daño que provocan dan lugar a la

aparición de enfermedades, cambiando su apariencia y disminuyendo la producción cuando presenta alguna enfermedad (**Bolaños, 2020**). Dentro de las enfermedades más comunes podemos mencionar:

Mildeo Velloso (*Peronospora sparsa*)

Esta enfermedad afecta a tallos, hojas y frutos, principalmente aparece en épocas de lluvia, se puede observar manchas blancas en las ramas y tallos finalmente marchitando a la planta, en el caso de los frutos la maduración se da de manera dispareja, pierde el brillo y en ocasiones se van deformando en el caso de las hojas se pueden observar que estas se tornan algo amarillentas que la mayoría y en ocasiones puede ser confundido con la deficiencia de algún elemento nutricional (**ICA, 2011**).

Pudrición del fruto o moho gris (*Botrytis cinerea*)

Esta enfermedad se da por la presencia de un parásito, pero sobrevive como saprofito en los restos orgánicos, la aparición de esta enfermedad es ocasionada por humedades altas que sobrepasan el 85% los síntomas se pueden apreciar tanto en las hojas como en las flores ya que causa pudrición acuosa y más adelante se momifican, pero en general los más afectados son los frutos pues son más vulnerables al patógeno (**Bolaños, 2020**).

Antracnosis de la mora (*Colletotrichum spp.*)

Según **Bolaños (2020)** esta enfermedad es la más común en el cultivo de la mora, pues al aparecer en dicho cultivo la producción se verá limitada en ocasiones llegando a perder toda la producción, los principales síntomas que se pueden observar son las manchas oscuras que aparecen en ramas y tallos terminando con la marchites de la planta provocado por humedades mayores a 95%.

Mildeo polvoso (*Oidium sp.*)

La aparición del mildeo polvoso se debe a un parasito obligado que se desarrolla en baja humedad, los síntomas se pueden apreciar en hojas, ramas jóvenes, peciolo y frutos, provocando enrollamiento de las hojas y deformación de los frutos, también se puede observar en el envés de la hoja un polvo blanquecino que afecta el crecimiento de brotes y reduce la actividad fotosintética (Bolaños, 2020).

Roya (*Gerwasia lagerheimii*).

El hongo *G. lagerheimii*, deja pústulas de color anaranjado en las hojas, en el envés de las hojas se pueden apreciar pequeños daños, presentan manchas amarillas tanto en las hojas como en los tallos, atacan a las flores, frutos y en las hojas se pueden apreciar el polvo de color anaranjado (ICA, 2011).

Plagas

Las condiciones climáticas son factores determinantes para la aparición de plagas por lo que es necesario que el cultivo de mora de castilla sea monitoreado constantemente para llevar un adecuado control fitosanitario. Así entre las principales plagas están:

Ácaros

Cevallos (2020) menciona que la araña roja es chupadora provocando daños en las hojas de esta manera debilita la planta, esta plaga aparece en los cultivos dentro de los géneros de los ácaros sobresalen las especies *Tetranychus urticae*, *Brevipalpus phoenicis*, *Phyllocoptruta oleivora* y *Aculops sp.* las cuales atacan en el envés de la hoja para luego concentrarse en las hojas viejas, forma telarañas provocando deformaciones, amarillamiento y caídas tanto en hojas como en frutos.

Trips

Los trips provocan daños en las flores, hojas y frutos, las lesiones presentan apariencia bronceada o plateada en las hojas también se observa en la parte superior del fruto, la plaga que provocan este síntoma es diminuto, cuando el ataque es muy fuerte se detiene el crecimiento de los frutos y se momifican (Cevallos, 2020).

Barrenador de tallos y ramas (*Hepialus sp*)

Esta plaga es atraída por secreciones de la planta, presencia de patógenos o por heridas provocadas en las prácticas culturales causando daños graves y consecuentemente reduce su producción pues las larvas de este insecto perforan tanto tallos como ramas (ICA, 2011).

Barrenador del cuello de la planta (*Zascelis sp.*)

Este tipo de plagas provoca daños de manera rápida, las larvas hacen galerías en la corona de la raíz, como resultado del ataque la planta produce agallas y en el tallo se observa de manera corchoso, al ser atacada por el Barrenador la planta detiene su crecimiento y consecuentemente reduce su producción hasta provocar la muerte de la planta (Villalba y Gutiérrez, 2020).

1.3.2. Ácaro de la mora (*Tetranychus urticae*)

Tetranychus urticae forma parte del grupo más grande de ácaros fito alimentarios, está considerado dentro y fuera de invernadero como uno de las más polífagas por su corto tiempo de reproducción.

Según García (2021) *Tetranychus urticae* se encuentra en la siguiente división taxonómica.

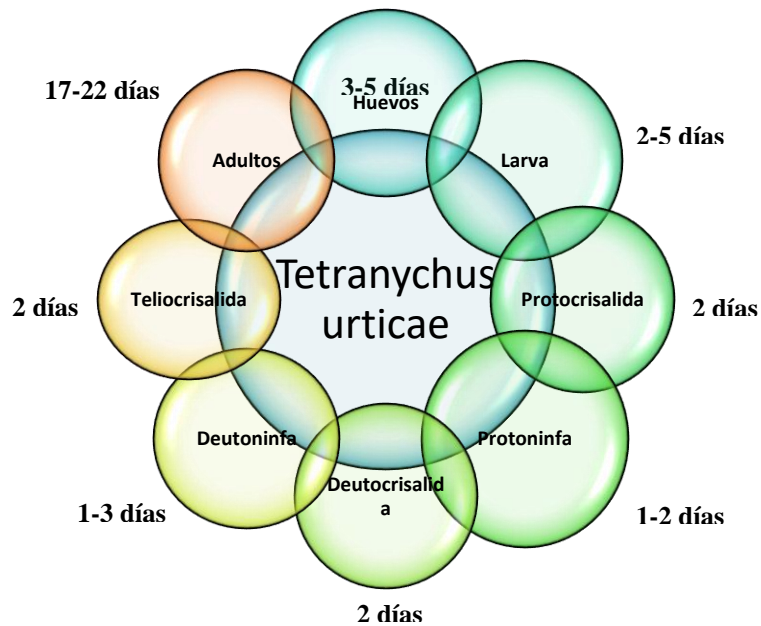
Tabla.3 Taxonomía de *T. urticae*.

Tetranychus urticae	
Reino	Animalia
Filo	Artrópoda
Clase	Arácnida
Orden	Acariforme
Familia	Tetranychidae
Genero	Tetranychus
Especie	<i>T. urticae</i>

Ciclo biológico

En cuanto a la reproducción de *T. urticae* el macho fecunda a la hembra tras la emergencia de la telioicrisálida, pero esto no hace que la hembra ponga huevos enseguida tras el apareamiento hay un tiempo de pre ovoposición el cual varia con el clima en que se encuentra, las hembras ponen los huevos en diferentes lugares de la planta, pero de preferencia eligen las hojas jóvenes que se están desarrollando y más en el envés, los ácaros se reproducen normalmente por la reproducción sexual, aunque también pueden reproducirse de manera partenogénesis (Verano, 2011).

Según Lema (2018) el ciclo de vida de los ácaros con $T^{\circ} = (25 - 28)^{\circ} C$ y $HR^{\circ} = (60 - 70) \%$



Tiempo total de huevo a adulto: 17 – 22 días.

Huevo

La forma del huevos de los ácaros son esférica, lisas y brillantes con un color verde o naranja, el mismo que va tomando un tono amarillento cuando alcanza su desarrollo, los huevos pueden medir de 0,12 a 0,14 mm de longitud y su color cambia anunciando su eclosión (Lema, 2018).

Larva

Tiene forma esférica al inicio de su vida son incoloras, luego cambian su color a verde claro, marrón o verde oscuro, esto va a depender de su alimentación, las larvas tienen dos manchas oscuras en el dorso del tórax y solo tienen tres pares de patas, en este estado suelen medir aproximadamente unos 0,15 mm de longitud (Verano, 2011).

Ninfa

Existen dos estadios ninfales las cuales son la protoninfa y la deutoninfa, estas dos poseen el mismo color que las larvas, pero la mancha del tórax es más grandes y más claras, poseen cuatro pares de patas, en la deutoninfa es posible diferenciar que ninfas serán hembras y las

precursoras de los machos, observándose claramente que las hembras son más grandes y más voluminosas, además tienen 3 estadios quisentes conocidos como protocrizalida, deutocrizalida y teliocrizalida los cuales se encuentran cubiertos a manera de capullo y se presentan posterior a las etapas ninfales, dentro de estas reposan y al salir cambian en tamaño y tonalidad (**Lema, 2018**).

Adulto

La hembra adulta tiene forma ovalada y mide 0,50 mm de longitud y aproximadamente 0,30 mm de ancho, en esta parte el color de las hembras varía, observándose de esta manera amarilla, verde, roja o anaranjadas, pero siempre con dos manchas laterales en el tórax, el macho en cambio es más pequeño, activo y tiene un cuerpo más estrecho, el abdomen es puntiagudo pero las patas son más largas y el color es más pálido **Freire (2018)**.

Biología y ecología

Los ácaros son fitófagos con gran potencial reproductivo por el hecho que tienen un ciclo de vida corto, estas se desarrollan rápidamente, el tamaño de la hembra adulta con forma globosa se encuentra entre 0,4 y 0,6 mm en el caso de los machos son más pequeños, es diferente a la hembra ya que el color puede cambiar dependiendo su alimentación, por esta razón a este tipo de ácaros se les ha dado diferentes nombres, por lo que ha provocado que algunos investigadores mencionen diferentes especies y otros mencionan que se tratan de la misma especie.

Freire (2018) menciona que la temperatura y la edad de la araña roja son factores determinantes en la fecundación pues la temperatura bajo invernadero alcanza los 35° C, siendo la tasa adecuada para que *T. urticae* desarrolle un ciclo completo en 8 días, además el periodo de oviposición puede durar 10 días a 35°C y hasta 40 días a 12°C haciendo que una hembra adulta oviposite más de 100 huevos en todo su ciclo de vida.

Manejo Integrado de plagas (MIP)

En su proyecto **Webster (2006)** menciona la importancia del control de ácaros dentro y fuera del invernadero pues recomienda: analizar el área cultivada, localizar los puntos de mayor infestación y decidir un adecuado manejo fitosanitario, por lo que es fundamental seguir un plan de manejo, para lo cual hay que considerar:

- ✓ Monitorear al menos una vez por semana.
- ✓ Efectuar a través de todo el campo reproductivo.
- ✓ La distribución de los ácaros no es similar en el campo reproductivo por lo que hay que monitorear constantemente sobre todo si se trata de cultivos bajo invernadero.
- ✓ Tomar de 5 a 10 muestras por cada 100 metros cuadrados.
- ✓ Etiquetar las ramas contaminadas
- ✓ Inspeccionar los lugares más susceptibles del terreno como en la mitad y al final de las camas donde las fumigaciones tienen menos y la circulación de aire es bajo.
- ✓ Elegir a consideración el método de monitoreo.
- ✓ El método más conocido es el llamado zigzag o método “M” la misma que asegura una buena cobertura del área que va a ser monitoreada.
- ✓ Una vez seleccionad el método revisar las partes basales y los tercios superiores adecuado para la colonización del acaro pues en dichos lugares los cambios de humedad y temperatura son menos susceptibles.
- ✓ Anotar el número de individuos e incluir la descripción del área.
- ✓ Registrar datos físicos y meteorológicos disponibles, tales como luminosidad, temperatura y humedad relativa (**Webster, 2006**).

1.3.3. Hongo acaropatógeno (*Cladosporium sp.*)

Importancia

Los hongos antagonistas se han convertido en una opción para el combate ecológico de las plagas y enfermedades en el cultivo de *R. glaucus* puesto que los residuos de fungicidas en el follaje y frutos han establecido restricciones para su uso, por esto se debe incrementar el manejo cultural y biológico, una opción para este inconveniente es el uso de organismos antagonistas (**Zhang et al., 1994**).

El género *Cladosporium* es una excelente opción para el control de plagas por su antagonismo que contribuye a la sostenibilidad agrícola como agente biocontrolador de cultivo de mora. Con este enfoque **Marín (2016)** analizó en su ensayo 10 muestras de mora con el fin de aislar diferentes tipos de géneros antagónicos en los cuales encontró hongos del género *Trichoderma sp.*, *Penicillium sp.* y *Cladosporium sp.* como principal agente de estudio para finalmente concluir que el género *Cladosporium sp.* estuvo presente en 3 de las 10 muestras concluyendo que este hongo es un enemigo natural que pese a su baja agresividad en comparación a *Trichoderma sp.* se puede hacer uso como reductores de poblaciones de ácaros.

Taxonomía

Tabla.4 . Taxonomía de *Cladosporium sp.*

Según **Pineiro (2017)** la taxonomía de *Cladosporium sp.* es la siguiente:

TAXONOMÍA	
Reino	Fungi
División	Ascomycota
Clase	Dothideomycetes
Orden	Capnodiales
Familia	Davidiellaceae
Género	<i>Cladosporium</i>

Fuente: Tomado de **Pineiro (2017)**

1.3.4. Aislamiento en medios de cultivo

Para el aislamiento de hongos antagonistas generalmente se cultivan en cajas Petri de 30 ml con cantidades de 20 a 25 ml de medio PDA en las cuales se introduce una muestra del hongo en incubación para ser purificada en los próximos 8 días, entre las mezclas de hongos que se da dentro del plato Petri se elige únicamente los que tienen características de importancia mediante un raspado con asa, de tal modo que del mismo medio se deben realizar al menos tres platos más en diferentes periodos para su debida purificación y para su identificación se conserva bajo refrigeración para luego ser llevada al microscopio y ser identificada morfológicamente (**Rivera, 2016**).

1.4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1.4.1. HIPÓTESIS

H0: La aplicación de suspensiones conidiales de *Cladosporium* sp no reducirá la población de *T. urticae* tanto en laboratorio como en campo sobre *R. glaucus*.

H1: La aplicación de suspensiones conidiales de *Cladosporium* sp reducirá la población de *T. urticae* tanto en laboratorio como en campo sobre *R. glaucus*.

1.4.2. OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la efectividad de *Cladosporium* sp en el control de *T. urticae* en mora tanto en laboratorio como en campo.

Objetivos específicos

1. Determinar la dosis de *Cladosporium* sp que mayor control ejerzan sobre *T. urticae*.
2. Evaluar la eficiencia de *Cladosporium* sp. para el control de *Tetranychus urticae* en condiciones de laboratorio.
3. Evaluar la eficiencia de *Cladosporium* sp. para el control de *Tetranychus urticae* en condiciones campo en *R. glaucus*.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Ubicación del Experimento

El ensayo se llevó a cabo en la granja experimental Querochaca de la Facultad de Ciencias Agropecuarias perteneciente a la Universidad Técnica de Ambato, siendo su ubicación geográfica la siguiente:

Tabla.5 . Descripción de la ubicación del ensayo

CATEGORÍA	DESCRIPCIÓN
Provincia	Tungurahua
Cantón	Cevallos
Sitio	Universidad Técnica de Ambato
Campus	Querochaca
Altitud	2865 msnm
Latitud	01° 22' 0,2" S
Longitud	78° 36' 22" W

2.2. Características del sitio experimental

La planificación se realizó en la granja experimental del campus Querochaca, la misma que cuenta con las siguientes condiciones meteorológicas:

Tabla.6 . Características del sitio experimental.

Característica	Descripción
Temperatura mínima día	12° C
Temperatura mínima noche	10° C
Temperatura máxima obtenida	23°C
Temperatura mínima obtenida	04° C
Fuerza del viento	6Km/h
Precipitación anual	251 a 500 mm

Fuente: (WeatherOnline, 2022)

2.3. Equipos y Materiales

2.3.1. Material biológico

Hongo acaropatógeno *Cladosporium sp.*, desarrollado en el laboratorio de ciencias agrícolas de la Facultad de Ciencias Agropecuarias perteneciente a la Universidad Técnica de Ambato de la provincia de Tungurahua.

2.3.2. Equipos

- Microscopio estéreo, marca MOTIC, modelo BA 210
- Estereoscopio clínico, marca MOTIC, modelo DM 143
- Incubador bacteriológica marca BINDER RI 53 - UL
- Balanza Digital
- Autoclave, modelo MIDMARK M11
- Refrigerador marca INDURAMA, modelo RI – 780 CROMA

- Cabina de flujo laminar, marca THERMO, modelo 1375

2.3.3. Materiales:

- Cajas Petri de 90mm de diámetro (plásticos)
- Tubos de ensayo de 90 mm x 20mm con tapa
- Medio de cultivo PDA (Potato Dextrose Agar) Cat. No. 254920 Dehydrated – 500 g.
- Muestras vegetales (arroz con cepas de *Cladosporium sp*)
- Bisturí número 20
- Alcohol al 70%
- Aguja de Inoculación
- Mechero de Bunsen
- Gradilla
- Atomizador
- Papel Aluminio
- Agua destilada
- Parafilm
- Gotero de 2 cc
- Pipeta de Pasteur

2.4. Factores de estudio

Tabla.7 . Factores de estudio

T1:	H2O desionizada estéril (Testigo)
T2:	2×10^3
T3:	2×10^4
T4:	2×10^5
T5:	2×10^6

2.4.1. Objetivo 1. Determinar la dosis de *Cladosporium* sp que mayor control ejerzan sobre *T. urticae*.

2.4.2. Objetivo 2. Evaluar la eficiencia de *Cladosporium* sp. para el control de *Tetranychus urticae* en condiciones de laboratorio.

2.4.3. Objetivo 3. Evaluar la eficiencia de *Cladosporium* sp. para el control de *Tetranychus urticae* en condiciones campo en *R. glaucus*.

2.5. Diseño experimental

Para la evaluación de la efectividad de *Cladosporium* sp., se utilizó el diseño completamente al azar. INFOSTAT

2.6. Manejo del experimento

2.6.1. Objetivo 1. Determinar la dosis sp que mayor control ejerzan sobre *T. urticae*.

2. Aislamiento.

El aislamiento de las cepas se realizó en medio PDA (Potato Dextrose Agar), con 25 ml y 4 divisiones de colonias por caja.



3. Purificación

6 días después se procedió a tomar muestras libres de contaminantes con el fin de obtener colonias puras con apariencia homogénea.



6. Frecuencia

Con el fin de evaluar la agresividad del hongo *Cladosporium acaropatógeno*, en un ciclo, se determinó aplicar 10 ml de la dosificación únicamente en la etapa inicial.



1. Material biológico

Se adquirió 1 kg de arroz con muestras del hongo entomopatógeno *Cladosporium sp.*



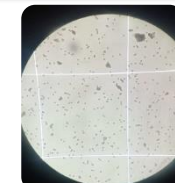
4. Dilución

Las muestras purificadas fueron diluidas de manera seriada en 5 tubos de ensayo de 10 ml con el fin de disminuir las colonias y su población pueda ser observada.



5. Dosificación

Se determinó la dosis a partir de una gota de dilución en la cámara Neubauer y se contó a partir de la segunda dilución, siendo las dosis de 2×10^6 , 2×10^5 , 2×10^4 y 2×10^3 conidios/ml.



2.6.2. Objetivo 2. Evaluar la eficiencia de *Cladosporium* sp. para el control de *Tetranychus urticae* en condiciones de laboratorio.



2. Apartado de ácaros

17 días después de haber pasado por todas sus etapas evolutivas incluida las 48 horas de emerger de la teliocrizalida los ácaros (*Tetranychus urticae*) fueron separados en su etapa adulta.

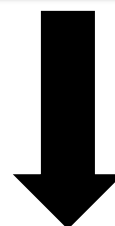
3. Preparación de los tratamientos

Se preparó 5 unidades de cría con 10 ácaros hembras adultas para cada tratamiento. Dando un total de 50 ácaros por ensayo. T1= 50, T2 = 50, T3 = 50, T4=50 Y TESTIGO = 50 (Tratamiento = número de ácaros).



1. Elaboración de unidades de cría

Se elaboró 10 unidades de cría ubicados en cajas Petri con 15 ácaros hembra y 10 machos, todos en etapa adulta.



4. preparación de las dosis

En atomizadores de 10 ml se preparó las dosis de *Cladosporium* sp correspondientes a 2×10^3 , 2×10^4 , 2×10^5 , 2×10^6 conidios/ml y agua para el testigo.

5. Evaluación final

Después de 15 días continuos de observación bajo microscopio electrónico se evaluó la eficiencia de *Cladosporium* sp sobre *Tetranychus urticae*, dando como resultado final 30% de mortalidad con dosis de 2×10^6 conidios/ml.



2.6.3. Objetivo 3. Evaluar la eficiencia de *Cladosporium* sp. para el control de *Tetranychus urticae* en condiciones campo en *R. glaucus*

Se registró la ubicación de cada foliolo en la planta de mora después del respectivo monitoreo.

Mediante monitoreo se seleccionó las plantas de mora destinadas a la aplicación de *Cladosporium* sp. ubicado en las parcelas de la facultad de Agronomía de la Universidad Técnica de Ambato.



Planta Testigo

Tratamiento 1

Tratamiento 2

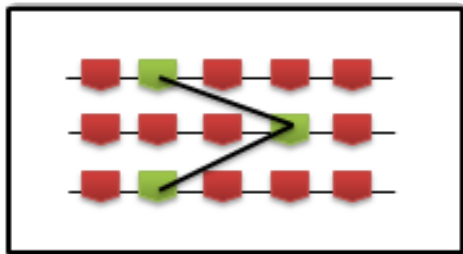
Se aplicó las dosis 2×10^5 y 2×10^6 conidios/ml siendo la segunda dosis la más alta y efectivas probadas a campo abierto según la prueba de monitoreo y prueba de observación en estereoscópica en el laboratorio de entomología de la Universidad Técnica de Ambato.



Aplicación: **Dosis**
 2×10^5 conidios/ ml
Cladosporium
acaropatógeno.



Aplicación: **Dosis**
 2×10^6 conidios/ ml
Cladosporium
acaropatógeno.



Parcela de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, UTA.

2.7. VARIABLE RESPUESTA

Población de ácaros.

2.9. Procesamiento de la información

La interpretación de la eficiencia de *Cladosporium sp.* se evaluó mediante el programa estadístico INFOSTAT


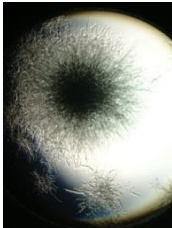


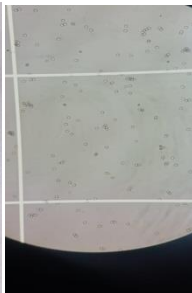
CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Obtención de cepas puras de *Cladosporium acaropatígeno* previamente extraído de 1 kg de arroz.

Se obtuvo cepas puras del hongo *Cladosporium* sp. adheridos en granos de arroz, los mismos que fueron sembrados en medio PDA (Potato Dextrose Agar), para luego ser dosificado mediante cámara Neubauer.

Tabla.8 . Crecimiento de colonias de *Cladosporium* acaropatígeno.

DESCRIPCIÓN	IMÁGEN
Muestras de colonias puras	
Vista macroscópica:	
Imagen 1: Colonias puras en medio PDA.	
Vista microscópica:	
Imagen 2: Vista de colonias fúngicas mediante microscopio electrónico, 10x.	
Imagen 3: Observación de hifas, conidios libres y conidióforos pertenecientes a <i>Cladosporium</i> sp. con lente 40x.	
Dosificación	
Número de conidios de <i>Cladosporium</i> acaropatígeno en 1 ml de solución contada sobre Cámara Neubauer	 

En la tabla 8, imagen 1 se puede observar la colonia obtenida luego de pasar por el proceso de purificación, en la cual está caracterizada principalmente por su población polvorienta y su coloración verde oliva, vista por el anverso y reverso de la caja de Petri. En las imágenes 2 y 3 se puede apreciar las hifas septadas de color verde claro y varios transparentes. **Holst (2017)** en su ensayo in vitro analizó y definió que los conidios son de forma cilíndrica, con color verde azulado crecen de manera sucesiva estando el conidio más joven al final de la cadena de las hifas del hongo de *Cladosporium acaropatógeno* corroborando la identificación en este ensayo.

García y Zavaleta (2005) en su investigación obtuvo aislados de *Cladosporium cladosporoides* en medio PDA para el aislamiento de hongos antagonistas a una temperatura de 28 °C en oscuridad para después de 24 horas ser analizada y purificada tomando con una asa metálica previamente desinfectada las colonias con mayor color característico del hongo, para luego ser removida a otra caja petri, este proceso se repite hasta obtener una colonia homogénea que represente la pureza del antagonista.

Pues de la misma manera se realizó la siembra y purificación del hongo antagonista *Cladosporium acaropatógeno* en cajas petri de 25 ml con medio PDA (Potato Dextrose Agar), con la diferencia que en los laboratorios de microbiología de la Universidad Técnica de Ambato se desarrollaron de manera más lenta pues su duración fue de 5 días la primera desinfección por consiguiente se realizó dos purificaciones, la primera a las 48 horas y 4 días después la segunda purificación, obteniendo así los aislados deseados para las dosificaciones.

Para la dosificación, es decir el conteo de conidios o esporas que están concentrados en un ml de medio líquido, se utilizó la cámara para conteo de microorganismos Neubauer, se agregó 1 ml del concentrado fúngico en la placa principal y luego colocada en el microscopio óptico con vista de 40x, se pudo apreciar 16 divisiones en las cuales se encuentra centradas las esporas para calcular mediante la fórmula de concentración.

Alcanta (2020) menciona en su proyecto sobre control de calidad de organismos entomopatógenos que la cámara Neubauer es una herramienta confiable a la hora de contar microorganismo, como conidios entomopatógenos, pues de manera similar en el presente proyecto la medición empieza desde una dilución densa la misma que imposibilita la visión, para lo cual se debe realizar diluciones seriadas, así se logra reducir 10 veces en cada proceso de dilución, disminuyendo la cantidad de soluto en una unidad de volumen..

Tabla.9 Cálculo de concentración

		<u>CONCENTRACION</u>
FÓRMULA	$\left(\frac{cel}{ml}\right) = \frac{n^{\circ} \text{ de células} * 10.000}{n^{\circ} \text{ de cuadros contados}}$	= conidios/ml
DOSIS 1	$Con \left(\frac{cel}{ml}\right) = \frac{3201 * 10.000}{16}$	= 2.000.625 2x10 ⁶ conidios/ml
DILUCIÓN 1		
DOSIS 2	$Con \left(\frac{cel}{ml}\right) = \frac{323 * 10.000}{16}$	= 201.875 2x10 ⁵ conidios/ml
DILUCIÓN 2		
DOSIS 3	$Con \left(\frac{cel}{ml}\right) = \frac{34 * 10.000}{16}$	=21.250 2x10 ⁴ conidios/ml
DILUCIÓN 3		
DOSIS 4	$Con \left(\frac{cel}{ml}\right) = \frac{4 * 10.000}{16}$	= 2500 2x10 ³ conidios/ml

3.2 Mortalidad de ácaros

3.2.1 Eficiencia de *Cladosporium sp.* definida por la mortalidad de *Tetranychus urticae* en condiciones de laboratorio.

Tabla.10. Porcentaje de mortalidad de araña roja en el cultivo de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth)

TRATAMIENTO	DIA 12
T5	64,00 a
T4	48,00 ab
T3	40,00 pc
T2	28,00 c
T1	26,00 c
CV	24,27
EE	4,47
p-valor	< 0,0001

*Valores con la misma letra de la columna no presentan diferencias significativas (Tukey 5%) EE: Error estándar, CV: Coeficiente de Variación, p – valor: Probabilidad.

Después de 12 días de la aplicación fúngica se observó que el T5 perteneciente a la dosis 2×10^6 conidios/ml y la más efectiva según la prueba de Tukey al 5% (a), alcanzó mortalidad de 64%, los ácaros mostraron coloración oscura producto de la descomposición. Mientras que el T4 presentó mortalidad del 48% (ab), a pesar de tener menor concentración que el T5 la concentración de 2×10^5 conidios/ml fue capaz de controlar 48% de la población de *T. urticae*. En el T3 con 2×10^4 conidios/ml dio como resultado mortalidad del 40% (pc) un valor alto de mortalidad pero al comparar estadísticamente con T4 y T5 demuestra que hay la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos. Finalmente la prueba de

significancia Tukey al 5% demostró que T2 con mortalidad 28% (c) y T1 con 26 % (c) no presentaron diferencias significativas entre el resto de tratamiento, T1 atribuye al testigo (tratado con agua estéril), dichos tratamientos tuvieron valores estadísticos similares pues fueron los que menos control ejercieron sobre *T. urticae*. **Guzmán (2019)** presentó resultados similares en cuanto a la eficiencia de las dosis más altas de *Cladosporium cladosporoides* siendo estas de 2×10^8 conidios*ml-1 que controló 78.19% de la población total, la concentración de 2×10^6 conidios*ml-1 controló cerca del 50% de la población de *Tetranychus urticae*, además incluyó la probabilidad de otros factores externos que puedan estar relacionados con la mortalidad tales como el traspaso de ácaros a las unidades de cría, ciclo de vida corto y debido a que la edad de los ácaros nunca es uniforme.

3.2.3 Eficiencia de *Cladosporium acaropatógeno*. definida por la mortalidad de *Tetranychus urticae* a campo abierto.

Tabla.11. Porcentaje de mortalidad – Campo.

TRATAMIENTO	DIA 12
T5	49,00 a
T4	32,00 b
T1	13,00 c
CV	27,88
EE	2,76
p-valor	< 0,0001

*Valores con la misma letra de la columna no presentan diferencias significativas (Tukey 5%) EE: Error estándar, CV: Coeficiente de Variación, p – valor: Probabilidad.

Una vez comprobado la eficiencia de *Cladosporium acaropatógeno* en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y en condiciones controladas la prueba de Tukey al 5% demostró la efectividad de los tratamientos más altas siendo éstas de 2×10^5 y 2×10^6 conidios/ml y las que mayor resultados se obtuvo en cuanto a la mortalidad de *T. urticae*.

Para la aplicación en campo abierto, el mismo que fue destinado en las parcelas de mora de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y mediante monitoreo se tomó tres plantas de *R. glaucus*,

acto seguido, se preparó 100 ml del concentrado de *Cladosporium acaropatógeno* y se roció mediante bomba manual la cantidad de 10 foliolos para cada tratamiento (T4 y T5) para el respectivo análisis.

Los foliolos fueron etiquetados individualmente de tal modo que después de 15 días constantes de observación mediante lupa 10x se constató la eficiencia del T5 con 49% de mortalidad y sobresaliendo en la variación de Tukey con la primera denominación (a), es decir que presentó diferencias estadísticas significativas sobre los demás tratamientos. Mientras que para el T4 con perteneciente a la dosis 2×10^5 conidios/ml presentó mortalidad del 32% comparado con los resultados en campo este valor se atribuye a las condiciones ambientales a campo abierto y para el testigo (T1) mostro mortalidad del 13%. Determinando de esta manera qué para el control de la araña roja mediante aplicación de *Cladosporium acaropatógeno* en campo abierto se necesita que la concentración conidial sea lo más alto posible, pues de manera similar (Guzmán, 2019) demostró en su ensayo que para el control de araña roja que es necesario dosis conidiales de hasta 2×10^8 conidios/ml para obtener alrededor del 70% de las poblaciones controladas.

3.2.5 Distribución t- Student

Tabla.12. Determinación de la mejor dosis en campo abierto con análisis de distribución t –Student.

	T4	T5
Media	32	49
Varianza	106,67	98,88888889
Observaciones	10	10
Varianza agrupada	102,7777778	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	18	
Estadístico t	-3,750	
P(T<=t) una cola	0,001	
Valor crítico de t (una cola)	1,734	
P(T<=t) dos colas	0,001	
Valor crítico de t (dos colas)	2,101	

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales.

Para la determinación de la mejor dosis en campo abierto los tratamientos fueron analizados con la técnica estadística paramétrica “T – student”, al analizar los tratamientos 4 y 5 (T4 y T5) se observó que el valor crítico ($P(T \leq t) = 2,1$) fue mayor que el valor estadístico ($t = -3,75$) de esta manera se determinó que la agresividad del T5 sobre el T4 fue considerablemente mayor, así se pudo definir que la eficiencia de *Cladosporium acaropatógeno* depende de la alta concentración conidial existente en un medio líquido para ejercer control sobre *Tetranychus urticae*.

CAPITULO IV CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

- Al concluir la presente investigación se logró conseguir cuatro diferentes dosis de *Cladosporium acaropatógeno* siendo la de 2×10^6 conidios/ml la que mayor control ejerció según las pruebas de laboratorio y de campo abierto.
- Entre las 4 dosis de 2×10^6 , 2×10^5 , 2×10^4 y 2×10^3 conidios/ml elaboradas en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias se determinó la eficiencia de un acaropatógeno a base de *Cladosporium* sp. en condiciones controladas, las dosis más altas de T4 y T5 obtuvieron mortalidad del 48% y 64% de *Tetranychus urticae* respectivamente.
- La mortalidad de *T. urticae* en campo abierto tuvo resultados del 49% y el 32% en las concentraciones más altas, la eficiencia entre los 2 tratamientos fue determinada con análisis de t–student dando como resultado el T5 = 2×10^6 conidios /ml como el mejor control de araña roja en cultivos de mora.

4.2 RECOMENDACIONES

1. Utilizar antibiótico en la preparación del medio PDA para evitar las posibles contaminaciones bacterianas existentes en el ambiente, equipos o instrumentos de laboratorio.
2. Realizar mayor cantidad de cajas con *Cladosporium* sp. purificadas para mantener la cepa activa.
3. Realizar aplicaciones bajo invernadero para registrar la actividad y agresividad de *Cladosporium acaropatógeno*.
4. Tomar en cuenta los factores externos (clima, edad del ácaro, traspaso) que provocan mortalidad de ácaros y puedan interferir en los resultados finales.

4.3 BIBLIOGRAFÍA

- Alcantara, E. (2020). Producción y calidad de conidios de cepas de entomopatógenos del género *Metarhizium anisopliae*, aislados en zonas agrícolas del estado de México. *Revista Mexicana de biodiversidad*, 91.
- Bale, S., Lenteren, V., y Bigler, F. (2008). Biological control and sustainable food production. *Philos. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B* 363:761-776.
- Bohórquez, Y. (2006). Evaluación y proyección de desarrollo tecnológico en el manejo postcosecha de mora de castilla (*Rubus glaucus Benth*). (Tesis de Maestría en Ingeniería Agrícola). Universidad Nacional de Colombia, Colombia.
- Bolaños, MM; Cardona, WA; García, MC; Zapata, YA; Beltrán, CR; Vásquez, RE; Martínez, EP; Hio, JC; Ortega, NC; Peña, AC; Bautista, LG; López, DA. 2020. Manual de recomendaciones técnicas para su cultivo en el departamento de Cundinamarca: mora (*Rubus glaucus Benth*) (en línea). Bogotá, Colombia. 91p. Disponible en http://investigacion.bogota.unal.edu.co/fileadmin/recursos/direcciones/investigacion_bogota/Manuales/13-manual-mora-2020-EBOOK.pdf
- Casaca, A. (2005). El Cultivo de la Mora. Guías Tecnológicas de Frutas y Vegetales. Costa Rica: <https://dicta.gob.hn/files/2005,-El-cultivo-de-la-mora,-G.pdf>.
- Castro, J. &. (2005). Mora (*Rubus spp*) Cultivo y Manejo Poscosecha. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Universidad de Costa Rica. Consejo Nacional De Producción. San José - Costa Rica: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-8862.pdf>

- Cevallos, L. (2020). MANEJO AGRONÓMICO DEL CULTIVO DE MORA. UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR. Milagro - Ecuador:
<https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/CEVALLOS%20BERMEO%20LUIS%20ALBERTO.pdf>
- Delgado, F. (2012). Manejo Orgánico del Cultivo de La Mora (*Rubus* sp). Universidad de Cuenca. Cuenca:
<https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3074/1/mag129.pdf>
- Fabulo, T. 2009. División de Industria Vegetal (entrevista). Florida, Universidad de Florida.
- Franco, G. &. (2000). El Cultivo de la Mora. Colombia:
https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/12792/39929_24481.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Freire, A. (2018). “PARÁMETROS BIOLÓGICOS DE *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) SOBRE CULTIVARES DE MORA (*Rubus glaucus*)(Tesis de Pregrado). Universidad Técnica de Ambato, Cevallos, Ecuador.
- Gallegos, P. (2012). Ácaros viven más en fresas, babacos, moras y flores. La Hora. Quito, Ec. Jun. 17: 7B
- Gámez-Guzmán, A; Torres-Rojas, E; Gail, A. (2019). Potential of a Cladosporium cladosporoides strain for the control of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) under laboratory conditions. Revista Agronomía Colombia. 37(1): 84-89
- García, N. (2021). Uso de Phytoseidos en el manejo integrado de *Tetranychus urticae* en ornamentales. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales:
<https://repository.udca.edu.co/handle/11158/4401>

- García, R., Zavaleta, E. (2005). Antagonismo de *Cladosporium* sp. Contra *Puccinia horiana* Henn. Causante de la Roya Blanca del Crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23(1), 79 – 86.
- González-Castro Y; Manzano-Durán O; García-Hoya O. 2019. Puntos críticos de la cadena productiva de la mora (*Rubus glaucus* Benth), en el municipio de Pamplona, Colombia. *Rev.investig.desarro.innov.*, 10 (1), 9-22
- Holst, K. (2017). Pruebas in vitro de hongos antagonistas para combatir la roya de mora en costa rica. *Agronomía Costarricense*, 41(1), 19 -32.
- ICA. (2011). Manejo Fitosanitario Del Cultivo de La Mora (*Rubus glaucus* Benth). Medidas Para la Temporada Invernal. Bogotá - Colombia: <https://www.ica.gov.co/getattachment/b7e061eb-ebd3-4f80-9518-c771712405eb/-nbsp3bmanejo-fitosanitario-delcultivo-de-la-mora.aspx>
- INIAP & MAGAP. (2016). El Cultivo De La Mora En El Ecuador. Estación Experimental Santa Catalina, Programa Nacional De Fruticultura. Quito Ecuador: <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/4878/1/iniapsc355.pdf>.
- Lema, A. (2018). ANTIBIOSIS Y ANTIXENOSIS EN DOS CULTIVARES DE FRESA (*Fragaria x ananases*) VARIEDADES FESTIVAL Y SAN ANDREAS AL ATAQUE DE (*Tetranychus urticae* Koch) (Tesis Ingeniería Agrícola). Universidad Técnica de Ambato, Cevallos, Ecuador.
- Marín, M. (2016). Evaluación de los hongos Antagonistas en plantaciones de mora. *Agronomía Costarricense*, 41(1), 7 -18.
- Montalvo, D., & Brito, &. (Diciembre, 2010). Evaluación de la Calidad de Poscosecha de las sucesiones seleccionadas de mora de castilla (*Rubus Glaucus* Benth) Provenientes

de las Provincias de Tungurahua y Bolívar. Quito:
<https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/2653/1/CD-3336.pdf>

Moreno, L., Casierra, F., y Blanke, M. (2016). Índices de crecimiento en plantas de mora (*Rubus alpinus* Macfad) bajo diferentes sistemas de poda”. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 10 (1), 28.

Ribeiro, N., Pereira, T., Abreu, L., Castro, C., y Souza, E. (2016). Microbial additives in the composting process. *Ciencia e Agrotecnologia* 41(2):159-168

Rivadeneira, M. (2012). Características botánicas, variedades y manejo del cultivo en mora. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Argentina. Argentina:

https://repositorio.inta.gob.ar/xmlui/bitstream/handle/20.500.12123/12071/INTA_CREntreRios_EEAConcordia_Rivadeneira_MF_Caracteristicas_botanicas_variedades_mora.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

Rivera, G. (2016). Evaluación de los hongos Antagonistas en plantaciones de mora. *Agronomía Costarricense*, 41(1), 7 -18.

Salto R; Gonzáles M; Gonzáles V; Cofre F; Hidalgo I; García L; Borja E. 2020. Rendimiento y atributos de calidad de mora (*Rubus glaucus* Benth) de cuatro zonas productoras de Bolívar (en línea). *Revista de Investigación Talentos* 7(2): 34-38. Consultado 24 mar. 2022. Disponible en <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:yG3w0UEBKOsJ:https://talentos.ueb.edu.ec/index.php/talentos/article/download/222/316/+&cd=2&hl=es-419&ct=clnk&gl=ec>

Sá Argola P. 2012. Gestión integrada de la araña roja *Tetranychus urticae* Koch: (Acari: Tetranychidae): optimización de su control biológico en clementinos (en línea).

- Tesis Doctoral. Valencia, España. Consultado 27 marzo 2022. Disponible en <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/17804/tesisUPV3987.pdf>
- Schiesari, L., Waichman, A., Brock, T., Adams, C., y Grillitsch, B. (2013). Pesticide use and biodiversity conservation in the Amazonian agricultural frontier. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 368:1-9.
- Verano, A. (2011). Biología de acaro (*Tetranychus urticae*) Ficha técnica: https://www.agroecologia.net/recursos/Revista_Ae/Ae_a_la_Practica/fichas/N4/ficha-revista-AE-4-insectos.pdf.
- Villalba, R. y Gutiérrez, E. (2020). Producción Limpia Cultivo de Mora (*Rubus glaucus*). <https://sioc.minagricultura.gov.co/Mora/Normatividad/9.%20Manual%20tecnico%20cultivo%20de%20la%20mora%20en%20el%20Huila.pdf>
- Viteri, P. (2012). Diferenciación morfológica, fenológica y pomológica de cultivares comerciales de mora (*Rubus glaucus Benth*). *Enfoque UTE*, 11(2), 53 – 64.
- Viteri P; Vásquez W; Viera W; Sotomayor A; Mejía P. 2016. El cultivo de la mora en Ecuador: Ecología para el desarrollo y el crecimiento. Quito, Ecuador. 20 p. Consultado 25 mar. 2022. Disponible en <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/4878/1/iniapsc355.pdf>
- Webster, P. (2006). Manejo Integrado de ácaros en el cultivo de rosas bajo invernadero. *Revista Ciencias de la Vida*, 1(4), 55 – 57.

5. ANEXOS

Figura 1. Recolección de ácaros en las parcelas de mora.



Figura 2. Establecimiento de unidades de cría de ácaros



Figura 3. Establecimiento de plantas contaminadas en campo abierto



Figura 4. Siembra y purificación de *Cladosporium acaropatígeno*.

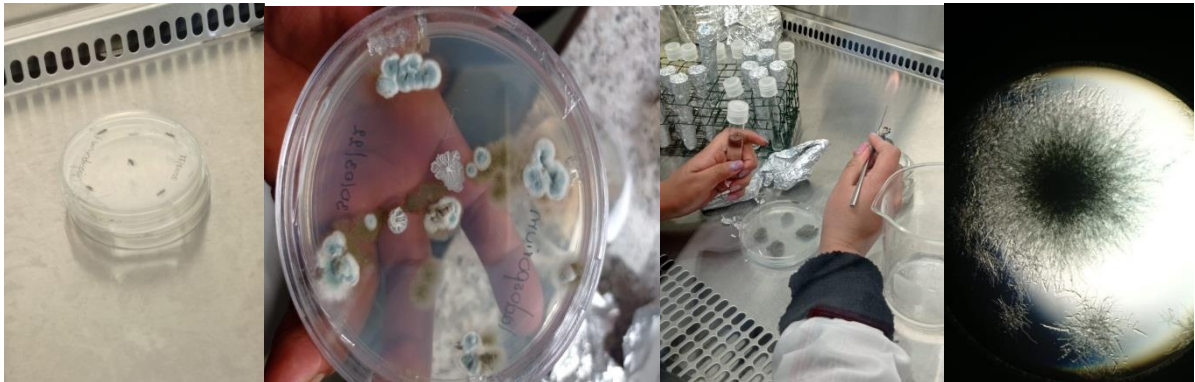


Figura 5. Elaboración de dosis

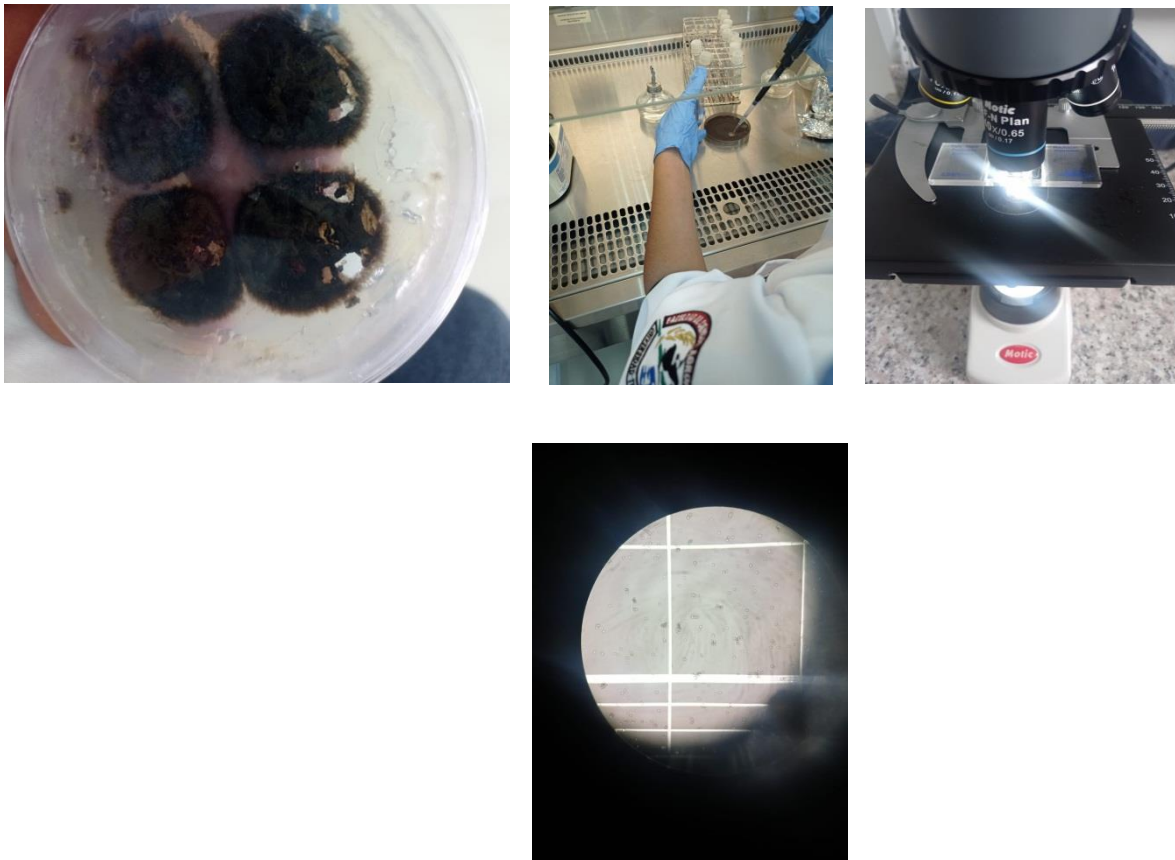


Figura 6. Aplicación de dosis en laboratorio.



Figura 7. Aplicación de dosis en campo abierto.



Figura 8. ANÁLISIS DE LA VARIANZA EN LABORATORIO

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
‡MORTALIDAD	25	0,71	0,65	24,27

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4864,00	4	1216,00	12,16	<0,0001
TRATAMIENTOS	4864,00	4	1216,00	12,16	<0,0001
Error	2000,00	20	100,00		
Total	6864,00	24			

Contrastes:

TRATAMIENTOS	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Contraste1		76,00	20,00	1444,00	1	1444,00	14,44	0,0011
Total				1444,00	1	1444,00	14,44	0,0011

Coefficientes de los contrastes:

TRATAMIENTOS	Ct.1
T1	-4,00
T2	1,00
T3	1,00
T4	1,00
T5	1,00

Test Tukey = 0.05

Error: 100,0000 gl: 20

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T5	64,00	5	4,47	A
T4	48,00	5	4,47	A B
T3	40,00	5	4,47	B C
T2	28,00	5	4,47	C
T1	26,00	5	4,47	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Figura 9. ANALISIS DE LA VARIANZA EN CAMPO

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
‡ MORTALIDAD	30	0,76	0,74	27,88

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6486,67	2	3243,33	42,51	<0,0001
TRATAMIENTOS	6486,67	2	3243,33	42,51	<0,0001
Error	2060,00	27	76,30		
Total	8546,67	29			

Test Tukey = 0.05

Error: 76,2963 gl: 27

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T5	49,00	10	2,76 A
T4	32,00	10	2,76 B
T1	13,00	10	2,76 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Figura 10. Distribución T - student

Prueba t para dos muestras
suponiendo varianzas iguales

	T4	T5
Media	32	49
Varianza	106,67	98,88888889
Observaciones	10	10
Varianza agrupada	102,7777778	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	18	
Estadístico t	-3,750	
P(T<=t) una cola	0,001	
Valor crítico de t (una cola)	1,734	
P(T<=t) dos colas	0,001	
Valor crítico de t (dos colas)	2,101	