UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN SANIDAD VEGETAL

MODALIDAD: PROYECTO DE DESARROLLO

Título:

"Toxicidad y eficacia de un bioinsumo a base de extracto vegetal de Verbenaceae Essential Oil para el control de ácaros (*Oligonychus sp*.) del cultivo de aguacate".

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Magíster en Sanidad Vegetal

Autor:

Muñoz Cachago Mauro Daniel

Tutor:

Ing. Jácome Mogro Emerson Javier, PhD.

LATACUNGA –ECUADOR

2024

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de Titulación Toxicidad y eficacia de un bioinsumo a base de extracto vegetal de Verbenaceae Essential Oil para el control de ácaros (*Oligonychus sp*.) del cultivo de aguacate" presentado por Muñoz Cachago Mauro Daniel, para optar por el título magíster en Sanidad Vegetal.

CERTIFICO

Que dicho trabajo de investigación ha sido revisado en todas sus partes y se considera que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación para la valoración por parte del Tribunal de Lectores que se designe y su exposición y defensa pública.

Latacunga, mayo, 13, 2024

.....

Titulo. Emerson Jácome Mogro PhD

CC.: 0501974703

APROBACIÓN TRIBUNAL

El trabajo de Titulación: (escribir el título del trabajo de titulación en tipo oración), ha sido revisado, aprobado y autorizada su impresión y empastado, previo a la obtención del título de Magíster en Ciencias Veterinarias; el presente trabajo reúne los requisitos de fondo y forma para que el estudiante pueda presentarse a la exposición y defensa.

Latacunga, mayo, 13, 2024

Ing. Paolo Chasi Mg.
0502409725
Presidente del tribunal

Ing. Francisco Chancusig, Mg
0501883920
Lector 2

Ing. Eliana Granja Guerra, Mg.
1718126301
Lector 3

DEDICATORIA

Dedicado a mi familia por quienes sigo adelante
en busca de seguir superándome y alcanzando
metas cada día más grandes.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la Universidad Técnica del Cotopaxi, A mi tutor de tesis, a mis compañeros y docentes quienes son parte importante de este trabajo, ya que me he visto en la obligación de volver a aprender en un ámbito nuevo para mí y he aprendido de grandes profesionales del campo.

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Quien suscribe, declara que asume la autoría de los contenidos y los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación.

Latacunga, mayo, 13, 2024

Quím. Mauro Daniel Muñoz Cachago

1718014176

RENUNCIA DE DERECHOS

Quien suscribe, cede los derechos de autoría intelectual total y/o parcial del presente trabajo de titulación a la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Latacunga, mayo, 13, 2024

Quím. Mauro Daniel Muñoz Cachago

1718014176

AVAL DEL PRESIDENTE

Quien suscribe, declara que el presente Trabajo de Titulación: “Toxicidad y eficacia de un bioinsumo a base de extracto vegetal de Verbenaceae Essential Oil para el control de ácaros (*Oligonychus sp*.) del cultivo de aguacate” contiene las correcciones a las observaciones realizadas por los miembros del tribunal en la predefensa.

Latacunga, mayo, 13, 2024

……

Ing. Wilman Paolo Chasi Vizuete Mg.C

CC: 0502409725

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN SANIDAD VEGETAL

Título: "Toxicidad y eficacia de un bioinsumo a base de extracto vegetal de Verbenaceae Essential Oil para el control de ácaros (*Oligonychus sp*.) del cultivo de aguacate".

Autor: Muñoz Cachago Mauro Daniel

Tutor: Jácome Mogro Emerson PhD.

RESUMEN

Los bioinsumos a base de extractos vegetales son propuestas interesantes para el control de plagas por su menor impacto ambiental y apoyo para el manejo de resistencia de las plagas, por ello el presente trabajo plantea caracterizar un biosinsumo a base de extracto vegetal de Verbenaceae Essential Oil comercial a través de Cromatografia de Gases-masas y establecer el nivel de control del producto a distintas concentraciones 0, 1, 2 y 3 mL/L, sobre ácaros (*Oligonychus perseae),* identificados en hojas de aguacate a nivel del laboratorio con un seguimiento en el tiempo a 0, 24, 48 y 72 horas después de la aplicación por atomización y el efectos sobre los estadios de desarrollo de estos tetraníquidos; huevos, ninfas y adultos. Los resultados obtenidos permitieron identificar que el principal componente de este extracto comercial es el timol con un contenido promedio determinado en las muestras de materia prima del 24,59%, con el cual se prepara el bioinsumo y se determina por el mismo método cromatográfico en 3 muestras de producto un valor promedio de 13,2 g/L de timol. Los resultados de la acción acaricida son: a 1 mL/L se alcanza un 46% de muerte promedio a 2 mL/L 78% y a 3 mL/L un 86% de muerte a las 24 horas después de la aplicación finalmente se determina que el mejor tratamiento es a 2 mL/L en los estadios de huevos, ninfas y adultos alcanzando valores sobre el 97% datos que verifican la acción acaricida del bioinsumo a base de extracto vegetal comercial Verbenaceae Essential Oil.

PALABRAS CLAVE: Ácaros; *Oligonychus;* Bioinsumo; Timol; Verbenaceae; Aguacate.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN SANIDAD VEGETAL

Title: "Toxicity and effectiveness of a bioinput based on plant extract of Verbenaceae Essential Oil for the control of mites (Oligonychus sp.) in avocado crops."

Author: Muñoz Cachago Mauro Daniel
Tutor: Jácome Mogro Emerson PhD.

ABSTRACT

Bioinputs based on plant extracts are interesting proposals for pest control due to their lower environmental impact and support for the management of pest resistance, therefore this work proposes to characterize a bioinput based on commercial Verbenaceae Essential Oil plant extract. through Gas-mass Chromatography and establish the level of control of the product at different concentrations 0, 1, 2 and 3 mL/L, on mites (Oligonychus perseae), identified on avocado leaves at the laboratory level with follow-up in the time at 0, 24, 48 and 72 hours after application by spraying and the effects on the development stages of these tetranychids; eggs, nymphs and adults. The results obtained allowed us to identify that the main component of this commercial extract is thymol with an average content determined in the raw material samples of 24.59%, with which the bioinput is prepared and determined by the same chromatographic method in 3 product samples an average value of 13.2 g/L of thymol. The results of the acaricidal action are: at 1 mL/L, an average death rate of 46% is achieved, at 2 mL/L, 78% and at 3 mL/L, an average death rate of 86% is achieved. At 24 hours after application, it is finally determined that the best treatment is 2 mL/L in the egg, nymph and adult stages, reaching values over 97%, data that verify the acaricidal action of the bioinput based on commercial plant extract Verbenaceae Essential Oil.

KEYWORDS: Mites; Oligonychus; Bioinput; Thymol; Verbenaceae; Avocado.

Yo, Rueda Flores Mayra Alexandra con cédula de identidad número: 0503401101 Licenciada en Ciencias de la Educación Mención Ingles con número de registro de la SENESCYT: 1020-14-1262388; **CERTIFICO** haber revisado y aprobado la traducción al idioma inglés del resumen del trabajo de investigación con el título: "Toxicidad y eficacia de un bioinsumo a base de extracto vegetal de Verbenaceae Essential Oil para el control de ácaros (*Oligonychus sp.*) del cultivo de aguacate" de Muñoz Cachago Mauro Daniel, aspirante a magister en Sanidad Vegetal.

Latacunga, mayo, 13, 2024

Rueda Flores Mayra Alexandra
0503401101

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN 1

1.1. Justificación 2

1.2. Planteamiento del problema 5

1.3. Hipótesis o preguntas de investigación 6

1.4. Objetivos de la Investigación 6

1.4.1. Objetivo General 7

1.4.2. Objetivos Específicos 7

2. CAPÍTULO II: FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA 8

2.1. Antecedentes 8

2.2. Aguacate 9

2.2.1. Descripción 9

2.2.2. Morfología 10

2.2.3. Taxonomía 11

2.2.4. Problemas fitosanitarios en aguacate 11

2.3. Ácaros en el cultivo de aguacate 12

2.3.1. Taxonomía 13

2.3.2. Distribución 13

2.3.3. Biología 14

2.3.4. Daño en el cultivo 15

2.3.5. Identificación de ácaros tetraníquidos 16

2.3.5.1. Identificación morfológica 17

2.3.6. Control de ácaros 18

2.3.7. Herramientas biotecnológicas para el control de ácaros 19

2.4. Extractos vegetales 19
2.5. Bioinsumos 21
2.5.1. Caracterización del bioinsumo 21
2.5.2. Métodos de cuantificación del activo 22
3. CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS 23
3.1. Modalidad o enfoque de la investigación 23
3.2. Tipo de investigación: 24
3.3. Población y muestra. 24
3.4. Métodos teóricos y empíricos para emplear. 24
3.5. Técnicas e instrumentos: 25
3.5.1. Identificación y Cuantificación del activo por Cromatografía de gases-Espectrometría de masas (GC/MS) 25
3.5.2. Método para evaluación de ensayos de eficacia con acaricidas 25
3.5.3. Variables adicionales para considerar 25
3.6. Diseño experimental 25
3.7. Parte Experimental 27
3.7.1. Materiales, equipos, reactivos y sustancias 27
3.7.2. Procedimiento 28
3.7.2.1. Identificación de la plaga 28
3.7.2.2. Caracterización del activo del extracto comercial 28
3.7.2.3. Evaluación de ensayos de eficacia acaricida del bioinsumo 29
4. CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 30
4.1. Identificación de la especie de ácaros que afecta al cultivo de aguacate en la Sierra Centro del Ecuador. 30
4.1.1. Identificación fotográfica del modo de vida de la plaga 30

4.1.2. Identificación con claves taxonómicas..... 33
4.2. Caracterización del extracto vegetal que presenta actividad acaricida. 34
4.2.1. Caracterización del activo en el extracto de crudo..... 34
4.2.2. Caracterización del contenido de activo neto en el bioinsumo:..... 36
4.3. Determinación de la acción acaricida de un bioinsumo a base de un extracto vegetal. 36
4.3.1. Repetibilidad del método de determinación de acción acaricida. 37
4.3.2. Efecto acaricida del bioinsumo a base de extractos vegetales 39
4.4. Discusión 45
5. CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... 47
5.1. CONCLUSIONES..... 47
5.2. RECOMENDACIONES 48
6. CAPÍTULO VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 49
7. ANEXOS 60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de los ácaros hasta el género Oligonychus. **13**

Figura 2. Zonas de distribución de ácaros del género Oligonychus reportadas: A Distribución de O. perseae reportado para el cultivo de aguacate. B Distribución de O. punicae reportado para el cultivo de aguacate. **14**

Figura 3. Ciclo de vida de Oligonychus perseae. **15**

Figura 4. Ácaros reportados en el cultivo de aguacate. Daño causado por ácaros en aguacate: A) O. punicae individuos en el haz de hojas de aguacate. B) O. perseae en el envés de hojas de aguacate **16**

Figura 5. Herramientas de intervención y orden de prioridad para el control de ácaros **18**

Figura 6. Clasificación de los extractos en diferente polaridad de solvente. **20**

Figura 7. Factores que influyen en el proceso de obtención de un extracto vegetal.. **20**

Figura 8. Sección de resultados del informe del Laboratorio de Entomología de Agrocalidad **33**

Figura 9. Resultados de informe de corridas cromatográficas: A) Resultado muestra 1. B) Resultado muestra 2. ..... **35**

Figura 10. Cromatogramas con pico representativo de timol: A) Muestra 1. B) Muestra 2 ..... **35**

Figura 11. Contenido de activo en el producto final: A) Muestra 1, B) Muestra 2 y C) Muestra 3. ..... **36**

Figura 12. Comportamiento de general promedio de los individuos vivos (ácaros en huevos, ninfas y adultos en el tiempo y por dosis. **37**

Figura 13. Gráfico de Barras de error de las medias de las repeticiones del experimento **39**

Figura 14. Gráfico de Barras de error de las medias de las dosis probadas en el experimento **41**

Figura 15. Gráfico de líneas Individuos vivos versus tiempo, dosis y estadios **43**

Figura 16. Estimación de efectos con los datos obtenidos: A) Diagrama de importancia de predictor de efectos. B) Comportamiento de distribución de los datos. C) Esquema de efectos sobre la variable Individuos vivos. **44**

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. LMR establecidos para la comercialización de aguacate a nivel mundial. **4**

Tabla 2. Factores en estudio: a) Niveles establecidos y b) Tiempo (Está de revisar ya que no hay un esquema que resuelva lo que se tiene en los resultados **26**

Tabla 3. Coeficientes de prueba de contrastes ortogonales (no se observa en los resultados) **26**

Tabla 4. Codificación de tratamientos, parece que los tiempos no son un factor ya que los tratamientos se conforman de la interacción, revisar **27**

Tabla 5. Materiales y Equipos **27**

Tabla 6. Sustancias y Reactivos **28**

Tabla 7. Resultados del análisis estadístico de la repetibilidad del método de evaluación de acción acaricida **38**

Tabla 8. Resultados del Análisis de Varianza y Evaluación de Polinomios Ortogonales **40**

Tabla 9. Análisis de Varianza para todas las variables que tienen efectos sobre los ácaros vivos Variable Individuos vivos Normalizada. **42**

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A. Datos recopilados según el diseño del experimento. **60**

ANEXO B. Informe Laboratorio de Entomología Agrocalidad. **61**

ANEXO C. Protocolo de ensayo **64**

ANEXO D. Certificado de análisis del estándar analístico de timol **68**

ANEXO E. Informe de resultados del extracto puro comercial **69**

ANEXO F. Picos cromatográficos de muestras de extracto vegetal. **71**

ANEXO G. Informe de resultados activo en el Bioinsumo acaricida. **73**

ANEXO H. Certificado de análisis del extracto comercial usado **75**

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1. Colonia de Oligonychus yothersi en aguacate Hass. A) Detalle de los ácaros en la colonia. B) Ácaros en diferentes estados y sus respectivas exuvias. **31**

Fotografía 2. Colonia de como arañas cristalinas (Oligonychus perseae): A) Araña cristalina en su nido cubierto de tela de araña. B) Daño en hojas de aguacate. **32**

Fotografía 3. Colonias de arañita cristalina en muestras hojas de aguacate: A) Hojas de aguacate de cultivo comercial Pimampiro, Imbabura. B) Muestra de hojas usadas en el estudio, Quito, Pichincha. C) Nidos de ácaros observados en la muestra a 4X. **32**

Fotografía 4. Oligonychus perseae – Adultos y huevos en hoja de aguacate. **33**

1. CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN

El presente trabajo en su capítulo 1 justifica el estudio considerando la importancia de aportar con herramientas que se puedan usar para el control de ácaro, así mismo da a conocer que la forma en la cual se evalúa el daño de los ácaros en el cultivo de aguacate están muy relacionados a la especie, también se determina la importancia comercial que tiene el cultivo de aguacate y con ello la relevancia del estudio en este cultivo. En el segundo capítulo se fundamenta el estudio con la información científica disponible, detallando y describiendo conceptos clave para el entendimiento del tema de estudio como son las generalidades del cultivo de aguacate, los caros del cultivo de aguacate y como se usan nuevas herramientas biotecnológicas como son los bioinsumos a base de extractos vegetales como alternativas de control para plagas. En el capítulo 3 se detalla las fases del estudio partiendo de la identificación de la especie de ácaros, caracterizando el ingrediente activo de un bioinsumo formulado con un extracto vegetal comercial Verbenaceae Essential Oil, mismo que se usa en una prueba de control de ácaros presentes en hojas del cultivo de aguacate, considerando en su diseño experimental, 4 dosis de prueba, 4 tiempos de evaluación y 3 estadios de desarrollo de ácaros, en un ensayo a nivel de laboratorio siguiendo un análisis de varianza de un modelo lineal general. En el capítulo 4 se da a conocer los resultados del estudio definiendo la especie de caros determinada en las muestras de hojas de aguacate con el apoyo del servicio de identificación entomológica de Agrocalidad, se logra caracterizar que el activo principal en las muestras del extracto comercial como en el formulado del

bioinsumo acaricida que es el timol y con ello se da paso a la determinación de la eficacia del control de ácaros del producto probado. Con ello en el Capítulo 5 se una logra definir una dosis recomendada para escalado a nivel de aplicaciones en campo en el cultivo de aguacate, la especie de ácaros de hojas de aguacate y la necesidad de extender el reconocimiento con el fin de recopilar información que pueda ser entregada a los agricultores de aguacate para mejorar sus herramientas de monitoreo y control y finalmente determinar que el bioinsumo a base de extracto vegetal si tiene un control acaricida en los estadios de huevos, ninfas y adultos, el mismo que se considera como ventaja con una mínima carga de toxicidad ambiental, fitotoxicidad y riesgo para la salud del ser humano aportando al desarrollo de nuevas herramientas para el control de plagas.

1.1. Justificación

El aguacate "*Persea americana*" ha venido experimentando un aumento de la demanda en los mercados internacionales por lo cual algunos países han aumentado su superficie cultivada, con el fin de dirigir la oferta a destinos atractivos como Estados Unidos, Europa y Asia y China. El crecimiento es tal que las importaciones son del orden del 250%, pasando de 154 toneladas en 2012, a 25000. toneladas en 2016 y que va en aumento hasta la actualidad (Arias et al., 2018).

Un ejemplo a nivel regional del crecimiento abrupto de la exportación de esta fruta es Perú que según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura FAO (2021), paso de 81 mil toneladas en 2011 a 540 mil toneladas en 2021, con un crecimiento del 650% en la exportación de esta fruta en tan solo 10 años. En este sentido Ecuador también se ha visto seducido hacia el negocio del aguacate y actualmente cuenta con aproximadamente 7000 hectáreas de aguacate de las cuales unas 2000 hectáreas de aguacate Hass de exportación (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2022).

El aguacate ha alcanzado estos niveles de comercialización ya que es una fruta muy apetecida que se utiliza para consumo humano y además su aceite es un insumo importante para la industria de cosméticos y farmacéutica (Madero y Castro, 2019).

Dentro de las principales plagas que afectan al cultivo de aguacate y que representan una amenaza para su rendimiento ya que las infestaciones severas que pueden llegar a secar el follaje o manchar los frutos están los ácaros de la familia *Tetranychidae*, en especial los del género *Oligonychus*, que se depositan en la hoja, principalmente a lo largo de las nervaduras por el haz o envés de las hojas dependiendo de la especie, donde provoca un daño mecánico que se manifiesta por manchas, los mismos que se distribuyen e incrementan por toda la hoja hasta llegar a ocasionar un daño total del follaje de las hojas de la planta hospedera (Coria y Ayala, 2010).

El impacto económico de las infestaciones ácaros se debe a que provoca una caída importante de hojas disminuyendo así la capacidad fotosintética y por ende el crecimiento de frutos y otros órganos de la planta, además este momento puede ser propicio a caer en los efectos de los golpes de sol, en ataques severos se puede llegar a una reducción del 50% de la producción total. (Valderrama, 2014). Para establecer el umbral de acción para el control de ácaros es importante establecer la especie establecida en el cultivo ya que la forma de ocasionar daño a la planta es distinta a pesar de pertenecer a una misma familia Tetranychidae y compartir características morfológicas generales similares.

Según Álvarez, (2020), el control de ácaros generalmente se ejecuta dentro de los Planes de Manejo Integrado de Plaga (MIP), que utilizan los métodos físicos, biológicos y químicos, teniendo una respuesta rápida con el ultimo en donde se emplea una serie de moléculas químicas que afecta a esta plaga con mecanismos específicos de acción, sin embargo este tipo de manejo conlleva algunos efectos nocivos para el ambiente y el ser humano por lo cual se han establecido algunos LMR que se deben respetar para la comercialización de la fruta de aguacate, lo que complica aún más un

manejo químico efectivo sobre esta plaga. En la figura 1 se puede observar los LMR establecidos en Aguacate para su comercialización a nivel mundial.

Tabla 1. LMR establecidos para la comercialización de aguacate a nivel mundial.

Pesticide	MRL	Year of Adoption	Symbol	Note
Abamectin	0,01 mg/Kg	2016	-	-
Buprofezin	0,1 mg/Kg	-	-	-
Clothianidin	0,03 mg/Kg	2015	-	-
Cyprodinil	1 mg/Kg	2014	-	-
Difenoconazole	0,6 mg/Kg	2016	-	-
Endosulfan	0,5 mg/Kg	2007	-	-
Fenpyroximate	0,2 mg/Kg	2018	-	-
Fludioxonil	1,5 mg/Kg	2019	-	-
Flupyradifurone	0,6 mg/Kg	2021	-	-
Fosetyl Al	20 mg/Kg	2018	-	-
Metalaxyl	0,2 mg/Kg	-	-	-
Methoxyfenozide	0,7 mg/Kg	2010	-	-
Pyraclostrobin	0,2 mg/Kg	2019	-	-
Spinetoram	0,3 mg/Kg	2018	-	-
Spirodiclofen	0,9 mg/Kg	2015	-	-
Spirotetramat	0,4 mg/Kg	2016	-	-
Sulfoxaflor	0,15 mg/Kg	2022	-	-
Tebufenozide	1 mg/Kg	2004	-	-
Thiabendazole	15 mg/Kg	2003	Po	-
Thiamethoxam	0,5 mg/Kg	2015	-	-

Po: The MRL accommodates post-harvest treatment of the commodity.

T: The MRL/EMRL is temporary, irrespective of the status of the ADI, until required information has been provided and evaluated.

Fuente: Codex Alimentarius (FAO - OMS, 2023)

Otro de los problemas de manejo de moléculas químicas es la generación de resistencia de los ácaros principalmente debido al corto ciclo de vida (ciclo biológico), abundante descendencia y su reproducción por arrenotoquia, lo que le confiere la capacidad de desarrollar resistencia rápidamente, casos concretos para esta familia de tetraníquidos se han dado en *T. urticuae*, donde el primer fracaso del control químico ya se produjo a principios de los años cincuenta con los órgano fosforados (OP) y desde entonces, *T. urticae* ha desarrollado resistencia a más de 30 OP y carbamatos descritos en al menos 40 países (Van Leeuwen et al., 2010).

Dentro de las propuestas que se presentan como alternativas para el manejo de la resistencia en el control de plagas está el uso de productos a base de extractos de plantas que tienen actividad insecticidas, acaricida o repelente, en este sentido hay que tomar en cuenta que adicional a controlar la plaga los insumos a base de extractos vegetales ofrecen servicios adicionales como ser soluciones con menor impacto ecológico, los humanos y los mamíferos. (Reyes et al., 2022)

1.2. Planteamiento del problema

A nivel de cultivo de aguacate de ha evidenciado una correlación entre el daño por alimentación de los ácaros y la inhibición de la fotosíntesis. El proceso de alimentación de los ácaros implica reducción del contenido de células de las hojas y, por tanto, una reducción de la clorofila de las hojas. Según Torres et al., (2023) *Oligonychus yothersi* (McGregor), que se alimenta de la superficie superior de las hojas de aguacate, puede provocar una reducción de hasta un 30 % en la actividad fotosintética de las hojas, muchas de las cuales suelen caer al suelo entre 45 y 60 días después de la infestación, que considera poblaciones promedio de 245 ácaros lo cual se puede presentar como una reducción del rendimiento del 36,45% en el cultivo. Como el área foliar dañada es acumulativa con el tiempo, aumenta a medida que crece la población local de ácaros si no existe un control de su crecimiento.

A nivel de cultivo de aguacate para establecer estrategias de control de plagas se vuelve de vital importancia determinar el umbral de acción el cual está ligado a la especie de ácaro o plaga establecido ya que la forma de daño es específica para cada especie en ello podemos nombrar a la especie *Oligonychus punicae* que afecta al haz de las hojas a diferencia de la especie *Oligonychus perseae* que ataca al envés de la hoja, así mismo las otras especies presentan características propias de su acción sobre el follaje o fruto del aguacate (Salinas et al., 2021), con ello el monitoreo, identificación, diferenciación y el daño sobre el cultivo no puede ser determinado adecuadamente.

Al establecer una forma de control que adopte estrategias de menor impacto ambiental desde la arista de los fitosanitarios no se cuenta con las herramientas idóneas como es el caso de acaricidas de baja toxicidad o a base de extractos o aceites vegetales que tengan acción establecida para ácaros de la familia Tetranychidae, esto es visible ya que en las bases de datos de los entes de control como Agrocalidad no hay registros de productos dentro de esta categoría. (AGROCALIDAD, 2023)

Por otra parte, el uso de controladores de plagas a base de extractos vegetales tiene la desventaja de ser más costosos que los sintéticos, esto debido a su costo de producción y eficacia, (Quevedo y Alférez, 2018), es por ello presentar alternativas con gran poder acaricida y costos que compitan en el mercado son retos que las empresas formuladoras analizan al momento de producir un nuevo plaguicida a base de extractos o aceites vegetales.

1.3. Hipótesis o preguntas de investigación

Ho: Los ácaros fitófagos encontrados en hojas de aguacate pueden ser controlados por un bioinsumo formulado a base de extracto vegetal de Verbenaceae Essential Oil.

Ha: Los ácaros fitófagos encontrados en hojas de aguacate no pueden ser controlados por un bioinsumo formulado a base de extracto vegetal de Verbenaceae Essential Oil.

1.4. Objetivos de la Investigación

1.4.1. Objetivo General

- Caracterizar un biosinsumo a base de extracto vegetal de Verbenaceae Essential Oil y establecer su nivel de control sobre ácaros de hojas de aguacate a nivel del laboratorio.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Identificar la especie de ácaros que afecta al cultivo de aguacate en la Sierra Centro del Ecuador.
- Caracterizar un extracto vegetal que presenta actividad acaricida.
- Determinar la acción acaricida de un bioinsumo a base de un extracto vegetal.
- Determinar una dosis efectiva del bioinsumo para el control de ácaros de hojas de aguacate.

2. CAPÍTULO II: FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. Antecedentes

A nivel del nacional solo el estudio de Terán, (2018) en su artículo de revisión sobre plagas y enfermedades de mayor importancia económica en *Persea americana Mill*, enlista a las arañas rojas *Oligonychus punicae Hirst*, como una plaga de consideración para el cultivo del aguacate ya que se distribuye por toda la hoja del hasta llegar a ocasionar daños irreversibles en la planta.

A nivel regional hay una serie de estudios que dan a conocer varias especies de ácaro en el cultivo de aguacate, Narrea et al., (2015) reporta la presencia de *Oligonychus sp*., en el cultivo de palto (aguacate) en el distrito de Cañete (Lima), así mismo en la Guía técnica del Palto presentado por Herrera y Narrea (2011), entre las plagas de manejo en este cultivo se reporta a *Oligonychus punicae* como representante principal de ácaros, en Colombia el manuela técnico de cultivo de aguacate preparado por ICA, (2009) reporta entre los ácaros de la familia tetranychidae a *Oligonychus* sp McGregor, en México con un grado mayor de especificidad donde se reconoce el daño de los tipos de ácaros en un manual para el establecimiento del cultivo del aguacate preparado por Salinas et al., (2021) reporta a la araña cristalina *Oligonychus perseae* con sus daños en el envés de las hojas y a la araña marrón *Oligonychus punicae* con daños en el haz de las hojas, por último en Ecuador en el Manual técnico para la producción de plantas injertas de aguacate (*Persea americana* Mill.) de alta calidad, preparado por Sotomayor

et al., (2019), declara como plaga presente en aguacate a la arañita roja (*Oligonichus yothersi*), que además esta reportada en bases de datos de plagas como Global Biodiversity Information Facility. Esta condición de alta variabilidad establece como compleja la determinación de la especie de acaro que ataca al cultivo de aguacate en Ecuador.

De los extractos vegetales con actividad acaricida se ha documentado que el aceite de algunas especies de Verbenaceae tiene actividad acaricida sobre todo en la especie *Tetranychus urticae* Koch (Cavalcanti et al., 2010), al ser estos de la misma familia de artrópodos que *Oligonychus*, es un punto de referencia para probar dosis de un bioinsumo que contiene este activo para que se pueda considerar como una herramienta más en el control de esta plaga en cultivo de aguacate, y se pueda incorporar dentro de los MIP al conocer los estados de control de ácaros que pueden ser ninfas, huevas o adultos.

2.2. Aguacate

El aguacate es una fruta climatérica proveniente del árbol de aguacate perteneciente a la familia de las Lauraceae, esta fruta también es conocida como palta en algunos países como Perú, el aguacate es originaria de Mesoamérica, específicamente de centro América, donde se encuentran algunas especies que pueden ser fuente de un stock genético natural (Rees et al., 2012). El aguacate se usa principalmente como verdura con un aporte muy alto de aceite, grasas vegetales principalmente ácidos grasos monoinsaturados (ácido oleico), fitoesteroles y antioxidantes fenólicos que promueven la salud (Siddiq y Uebersax, 2018).

2.2.1. Descripción

El fruto del aguacatero (*Persea americana* Mill.) generalmente se consume fresco, su delicado sabor se convierte en el complemento perfecto para acompañar los platos típicos de la cocina a nivel regional y mundial (Guerrón et al., 2022). Esta fruta y su relación con el ser humano tiene evidencia mediante pruebas de C^{14} de 10000 años A.C, el cual no muestras diferencias morfológicas a el aguacate actual, así mismo la

primera descripción de esta planta data del año 1519 por exploradores ingleses, así mismo en notas sobre la introducción del cultivo en distintos países en 1750 ya se había introducido en Indonesia, para 1809 en Brasil y para el siglo XIX ya se había iniciado la introducción en Estados Unidos. Australia, y Sudáfrica. Para 1950 esta fruta causa gran interés y desde ahí ha tomado un impulso importante a tal punto de convertirse producto de comercialización mundial que maneja un flujo de dinero por sobre los 8500 millones de dólares para 2021 según lo reportado por (FAO), 2023.

El árbol de aguacate cultivado por semilla inicia su producción los 8 a 10 años después de su siembra, por lo cual el aguacate comercializado es generalmente injertado iniciando así su producción entre el primer y el segundo año después del injerto, tomando entre aproximadamente 4 años desde su siembra para producir fruto (Siddiq y Uebersax, 2018). El árbol de aguacate tiene muchos requerimientos para su producción como son; un suelo con un pH entre 5,5 y 6,5, riego regular, fertilización regular, pero es un género que exhibe alta plasticidad adaptativa a diferentes ambientes distribuyéndose en países de clima tropical y subtropical en todo el mundo (López et al., 2022).

2.2.2. Morfología

En general, el aguacate es una especie perenne, muy vigorosa, de crecimiento erecto y puede alcanzar hasta los 30 m de altura, cuando se cultiva en plantaciones comerciales, no se deja crecer más de 5 m, para facilitar las prácticas de control fitosanitario, cosecha, poda y fertilización foliar (Criales et al., 2012). Esta especie vegetal es de tronco grueso y con hojas alargadas, con varias ramificaciones que generan un follaje denso (Pérez et al., 2015).

Las hojas están dispuestas de forma alterna, pedunculadas, brillantes, lanceolada, con base aguda, margen entero y ápice agudo. Maduras son verde mate (Criales et al., 2012). Las flores están dispuestas en racimos, diferenciadas, cada flor abre en dos momentos distintos y separados, es decir los órganos femeninos y masculinos son funcionales en diferentes tiempos, para evitar la autofecundación (Pérez et al., 2015).

Su diámetro oscila entre 0,5 a 1,5 cm cuando está completamente abierta, su color es amarillo verdoso. El ciclo floral ocurre en dos etapas. El ciclo floral puede ser afectado por la temperatura y la duración del día. (Criales et al., 2012).

El fruto es una baya, en forma de pera, de cáscara rugosa con una pulpa verde amarillenta y un hueso central muy grande. Existen aproximadamente 400 variedades, por lo que podemos encontrar frutos de formas y pesos diferentes, que pueden llegar a pesar de 150 a 350 gramos (Pérez et al., 2015). Presenta un color verde obscuro, la semilla es redondeada, la pulpa, es de color crema amarilla cuando está completamente madura. (Lemus et al. 2005, como se cita en Criales et al., 2012, p.7).

El tronco tiene alto grado de ramificaciones y su distribución es bifurcada. El color de las ramas jóvenes es rojizo, más intenso hacia el ápice. El sistema radicular es superficial, alcanza una profundidad máxima 1,50 m donde el 70 y 80% de las raíces se desarrollan en los primeros 60 cm, con un crecimiento horizontal (Criales et al., 2012).

2.2.3. Taxonomía

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Orden: Laurales
- Familia: Lauraceae
- Género: Persea
- Especie: *Persea americana* (Mill., 1768)

El aguacate pertenece a la familia de las Lauráceas, la cual está formada por 52 géneros y cerca de 3,500 especies; una de las familias más primitivas de las dicotiledóneas Garbanzo, 2010; Sánchez, 1999 citado por López et al., (2019)

2.2.4. Problemas fitosanitarios en aguacate

La fitosanidad es de vital importancia para mantener la productividad y la longevidad del árbol. Por lo general, el establecimiento y diseminación de enfermedades y plagas en un huerto de aguacate obedece a un mal manejo del cultivo, el mismo que da como resultado una reducción de la calidad de los frutos y el rendimiento de la producción,

estos problemas pueden deberse hongos fitopatógenos, plagas de insectos, virus, bacterias y ácaros.

2.3. Ácaros en el cultivo de aguacate

Los ácaros son arácnidos quelicerados que constituyen el grupo más diverso y rico en especies de los cuales se han registrado a nivel mundial cerca 54617 especies según Zhang, 2011, citado por Pérez et al., (2014). Su tamaño es generalmente microscópico, en promedio menores a 1 mm, ocupan ambientes terrestres y acuáticos: marinos, salobres y dulceacuícolas. La diversidad de los ácaros se refleja en las relaciones que establecen como son la foresia, el comensalismo y el parasitismo. En general el daño que provocan por sus quelíceros estiletiformes, pequeñas agujas punzantes, que penetran los tejidos de las plantas de las que se alimentan provocando clorosis, deformación de las áreas en crecimiento, engrosamiento y necrosis del tejido, especialmente en hojas. (Pérez et al., 2014).

Los ácaros pueden provocar daños de ligeros a severos. El manejo y control de ácaros en el cultivo de aguacate depende mucho de la especie principal que predomine como plaga ya que hay que considerar de los ácaros son plagas compuestas de varias especies, entre las que pueden existir ácaros fitófagos y ácaros entomopatógenos los cuales se encuentran descritos en el estudio de Muñoz & Rodriguez, (2014), donde tenemos por familias las siguiente: Phytoseiidae (Mesostigmata), Tetranychydae (Prostigmata), Tenuipalpidae (Prostigmata), Cheyletidae (Prostigmata), Tydeidae (Prostigmata), Ameroseiidae (Mesostigmata), Cunaxidae (Prostigmata), Ascidae (Mesostigmata), Blattisociidae (Mesostigmata), Melicharidae (Mesostigmata), Rhodacaridae(Mesostigmata), Laelapidae (Mesostigmata). Así mismo para Muñoz & Rodriguez, (2014), los ácaros fitófagos de mayor importancia y presencia son la especie *Oligonychus sp. (arañita roja),* que pertenecen a la familia de los tetraníquidos, para Terán, (2018) otra especie identificada y que origina problemas fitosanitarios es *Oligonychus punicae (arañita marrón).* Así mismo la Guía de Gestión Integrada de Plagas para el cultivo de Aguacate del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación

MAPA, (2021), determina a la especie *Oligonychus perseae (*araña cristalina) y *Oligonychus punicae* como plagas presentes que afectan a este cultivo. Por esta razón se establece una identificación taxonómica de la plaga hasta el género ya que en la referencia encontrada da como coloca como principal plaga a los ácaros del género *Oligonychus* para el cultivo de aguacate (ver Figura 1).

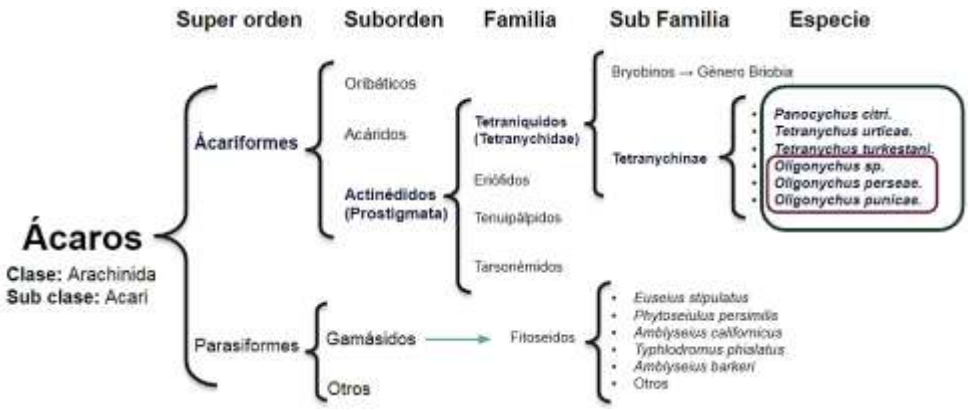


Figura 1. Clasificación de los ácaros hasta el género Oligonychus.

Fuente: (Fibia et al., 2009)

2.3.1. Taxonomía

Descripción taxonómica hasta la determinación del género tomado de (EPPO Global Database, 2023):

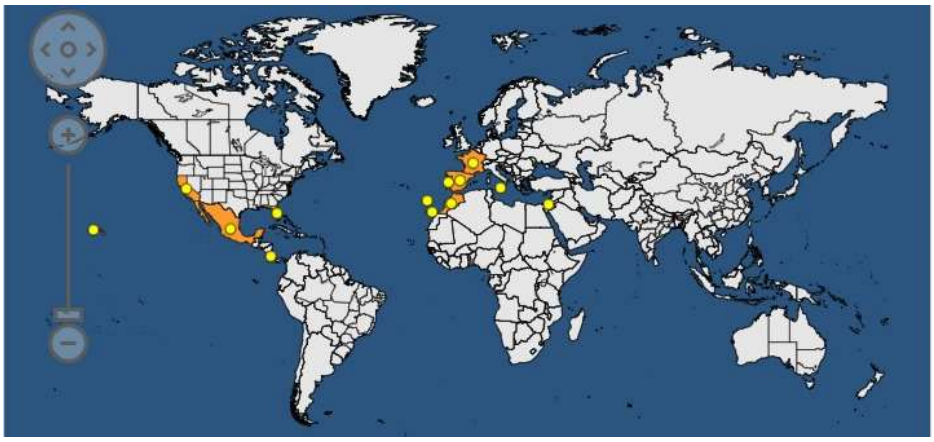
- Reino. Animalia (1ANIMK)
- Filo: Artrópodos (1ARTHP)
- Subfilo: Quelicerata (1CHELQ)
- Clase: Arácnida (1ARACC)
- Orden: Acarida (1ACARO)
- Familia: Tetraníquidos (1TETRF)
- Género: *Oligonychus* (1OLIGG)

2.3.2. Distribución

Las especies de ácaros asociadas al género Oligonychus (ver Figura 2) del cultivo de aguacate encuentran reportadas como *Oligonychus perseae* en: Mexico, Costa Rica, España, Maruecos, Portugal, Islas Canarias, Francia entre los más importantes según (EPPO Global Database, 2023), para *Oligonychus punicae* hay reportes en México y

Estados Unidos según (GBIF, 2023). Así mismo estas especies de ácaros se encuentran en otros países como Perú según Muñoz y Rodriguez, (2014), también en Colombia, Ecuador y otros países donde existe el cultivo de aguacate pero que aún no están reportados en bases de datos entomológicos.

A



B

Figura 2. Zonas de distribución de ácaros del género Oligonychus reportadas: A Distribución de O. perseae reportado para el cultivo de aguacate. B Distribución de O. punicae reportado para el cultivo de aguacate.

***Fuente**: (EPPO Global Database, 2023).*

2.3.3. Biología

Este género de ácaros pasa por cinco estados de desarrollo: huevo, larva, protoninfa, deutoninfa y adulto (ver Figura 3). Todos los estadios de vida pueden ser encontrados en la misma zona donde se alimentan, reproducen y desarrollan, El ciclo de vida a 30

°C se puede observar diferentes características de la biología de Oligonychus en función de las condiciones ambientales.

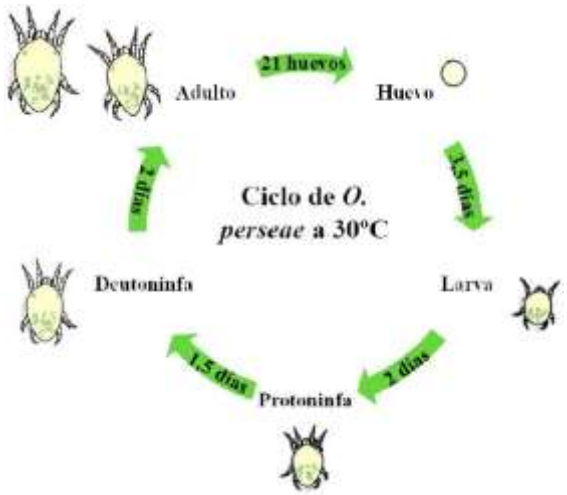


Figura 3. Ciclo de vida de Oligonychus perseae.

Fuente: (Torres et al., 2018).

2.3.4. Daño en el cultivo

Las altas densidades de ácaros (500 ácaros por hoja) debido a su alimentación, pueden causar la parcial o total defoliación de los árboles de aguacate. En los casos cuando el tejido afectado sobrepasa el 8% de la superficie foliar, hay una alta probabilidad de que ocurra una defoliación, que puede llegar a ocasionar la quemadura por sol de frutos inmaduros, su caída prematura. Este daño puede alcanzar un impacto significativo sobre el rendimiento, 20% de disminución en una tasa de infestación de 250 ácaros/hoja) (Lara, 2019)**.** El daño en el cultivo de aguacate está relacionado a la especie de ácaros (ver figura 4) que se encuentra establecida ya que tenemos dos formas de establecerse: ácaros que están presentes en el haz de las hojas donde introducen sus estiletes en los tejidos de la planta provocando manchas de color rojizo, bronceado generado por los tejidos necrosados esta característica es propia de la especie *O. punicae* (Hirst) (Imbachi et al., 2017). Por otro lado, la especie *O. perseae* se caracteriza por formar colonias en el envés de la hoja de aguacate (ver Figura 4).

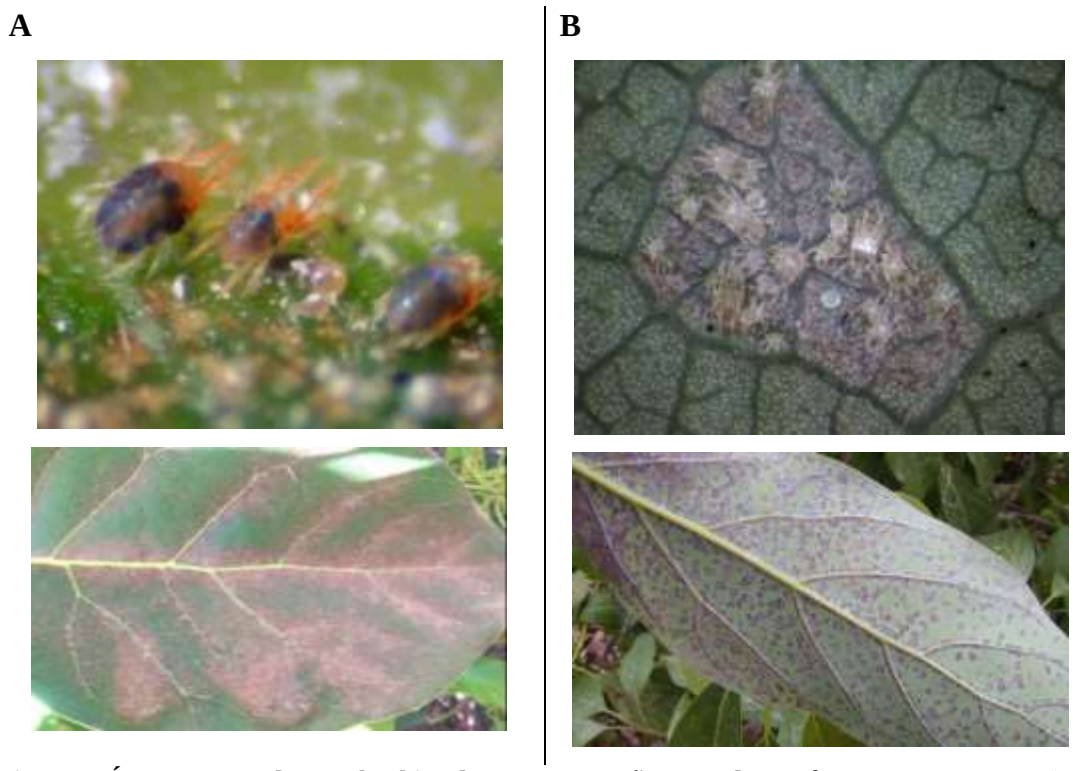


Figura 4. Ácaros reportados en el cultivo de aguacate. Daño causado por ácaros en aguacate: A) O. punicae individuos en el haz de hojas de aguacate. B) O. perseae en el envés de hojas de aguacate

Fuente: (Hernández E. , 2017)

El nido se cubre por una densa tela de araña, donde se pueden observar los diferentes estadios del ácaro. El daño que originan son manchas necróticas circulares, que se solapan (Torres et al., 2018).

2.3.5. Identificación de ácaros tetraníquidos

Los ácaros de la familia de los tetraníquidos son también llamados arañas rojas, mismos que se encuentran en una gran variedad de plantas de todas partes del mundo y afectan a cultivos que incluyen invernaderos, cultivos de campo, frutales entre otros, y es por esta razón que representan un riesgo de introducción y establecimiento como plagas. Con esta consideración a nivel mundial la importación de material vegetal es un riesgo de introducción de especies de arañas rojas que además son altamente polífagas, por lo cual las arañas rojas pueden alimentarse de las plantas vecinas, ante la ausencia de hospedantes preferidos, convirtiéndose en reservorios provisionales, las otras ventajas que tienen los ácaros para proliferar son: tienen un alto nivel de fecundidad y

crecimiento, se pueden dispersarse fácilmente a plantas hospedantes nuevas, su movilizad en el suelo o deslizándose puede alcanzar de 5 cm a 6 m / h, pueden ser transportadas por vientos utilizando su seda y principalmente pueden dispersarse por vectores como plantas, herramientas y ropa, son partenogénicas, desarrollan resistencia a los plaguicidas rápidamente y por su tamaño pueden esconderse con facilidad en grietas o depresiones en las frutas y partes de las plantas (NAPPO, 2014).

2.3.5.1.Identificación morfológica

La familia Tetranychidae incluye por lo menos 71 géneros y más de 1250 especies descritas, de las cuales las más importantes en todo el mundo pertenecen a los géneros, *Tetranychus, Eotetranychus, Oligonychus y Panonychus*. Estos géneros pueden ser identificados a través de claves taxonómicas para las especies específicas de regiones del mundo, como son: Estados Unidos (Baker y Tuttle 1994), África (Smith Meyer 1974, 1987), China (Wang 1981; Wang y Cui 1999), India (Gupta y Gupta 1994), Japón (Ehara 1964), Taiwan (Tseng 1990) y Seeman y Beard (2011), en Australia (NAPPO, 2014). Las claves taxonómicas son herramientas para identificar especies usando caracteres morfológicos para lo cual se sigue el siguiente proceso: Preparación del espécimen identificando hembras y machos de las arañas rojas los mismo que se colocan en observación con microscopios. Con los estadios inmaduros (larva, protoninfa, deutoninfa), y las hembras, solo puede identificar hasta el género. Para muchas especies de *Tetranychus* y *Oligonychus,* los machos son necesarios ya que el edeago es la característica especifica que permite la diferenciación. Para mejorar la robustez de la identificación se requiere escoger una buena cantidad de especímenes en todos los estadios para ser observados y comprobar las características morfológicas comunes y con ello determinar la especie (NAPPO, 2014).

La determinación de la especie de ácaros en el aguacate es vital su forma de establecerse en el cultivo determina el umbral de acción o intervención ante un control como plaga, como es el caso de la especie de *Oligonychus perseae*, descrito por Torres et al., (2018) donde la evaluación se realiza en hojas en el envés y si del monitoreo el

91% de las hojas muestreadas tienen presencia de formas móviles, se considerará que existe más de 50 ácaros por hoja y se necesitará realizar unas medidas de control, este método descrito no sirve para las otras especies de ácaros que afectan al aguacate partiendo del mismo hecho de que estas viven en el haz de las hojas y no en el envés.

2.3.6. Control de ácaros

Para el control se utilizan los métodos físicos, biológicos y químicos, dando una respuesta rápida con el ultimo en donde se emplea una serie de moléculas químicas que afecta a esta plaga con mecanismos específicos de acción (Álvarez, 2020). En un programa de Manejo Integrado de Plagas, las herramientas de intervención y el orden de prioridad en su elección para el control serían (ver Figura 5):

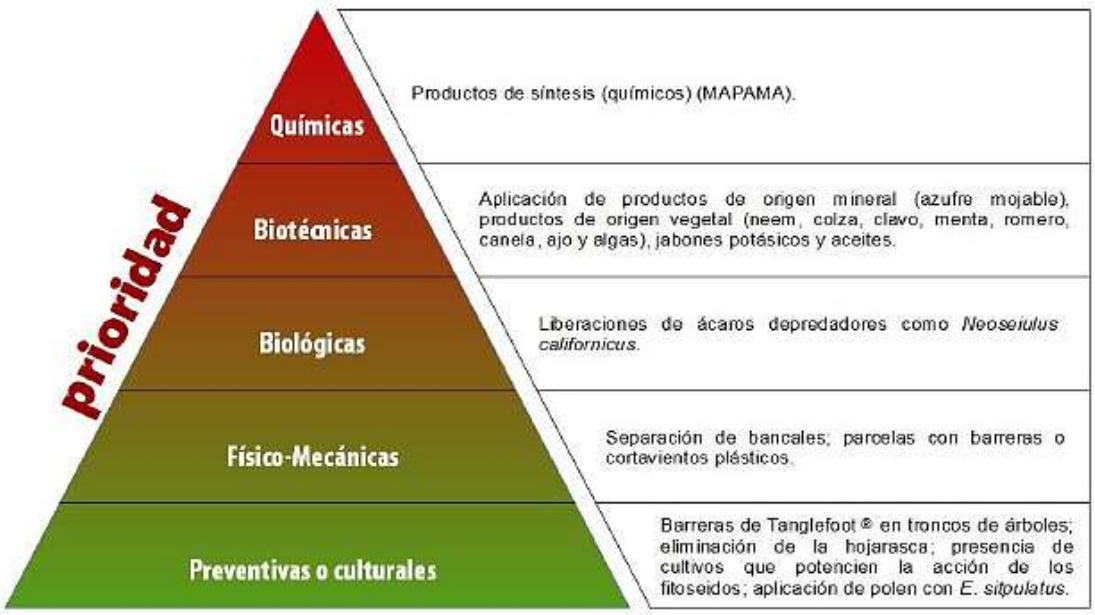


Figura 5. Herramientas de intervención y orden de prioridad para el control de ácaros

Fuente: (Torres et al., 2018)

El manejo y control de ácaros se mantiene con el criterio de establecer umbrales de intervención los mismo que obedecen a los planes de monitoreo y que están acoplados según la especie de plaga principal que afecta al cultivo.

2.3.7. Herramientas biotecnológicas para el control de ácaros

Las principales herramientas biotecnológicas disponibles son los bioinsumos o pesticidas de origen botánico, que son extractos vegetales de diferentes plantas con poder insecticida o acaricida (Rodríguez y Torres, 2019). Estos productos consideran una alternativa para controlar los límites de residuos de plaguicidas químicos permitidos (LMR) y reducir los efectos de resistencia a los plaguicidas convencionales a través de una rotación con mayor cantidad de opciones de aplicación. Dentro de esta clase de productos esta:

- Spinosad, una mezcla neurotóxica, resultados de la fermentación del actinomiceto *Saccharopolyspora spinosa* de alta toxicidad para lepidópteros y dípteros. (García et al., 2012)
- La azadiractina (un tetranorditerpenoide) extraído del árbol de neem, afecta la oviposición y el proceso de metamorfosis además que altera los procesos alimentarios en lepidópteros, homópteros, coleópteros, himenópteros, hemípteros, dípteros y tisanópteros desde dosis de 0,05 mg/mL (García et al., 2012).
- También en este grupo se considera otros compuestos extraídos como son: alicina, timol, carvacrol, en especial estos dos últimos al tener referencia sobre su actividad sobre ácaros de la familia de los tetraníquidos como lo establece en el estudio de Cavalcanti et al., (2010) con datos de LC_{50} de estos activos presentes el en aceite esencial de *Lippia sidoides.* Para el timol con LC_{50} con *Tetranychus urticae* va desde el 0,001 uL/L y para el Carvacrol el LC_{50} va desde los 0,036 uL/L en cámara de asfixia a nivel de laboratorio.

2.4. Extractos vegetales

Para Frías y Rosales, (2023), los extractos vegetales son compuestos, mezclas o moléculas obtenidas a través de un proceso extractivo que permite aislar los componentes de interés, los compuestos generalmente obtenidos se destacan los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos, estos productos son generalmente reconocidos como seguros y aprobados para el uso

en EE. UU. y la UE (Ayala et al., 2023), estos compuestos dependiendo de su polaridad pueden clasificarse en lo siguiente (ver Figura 6):

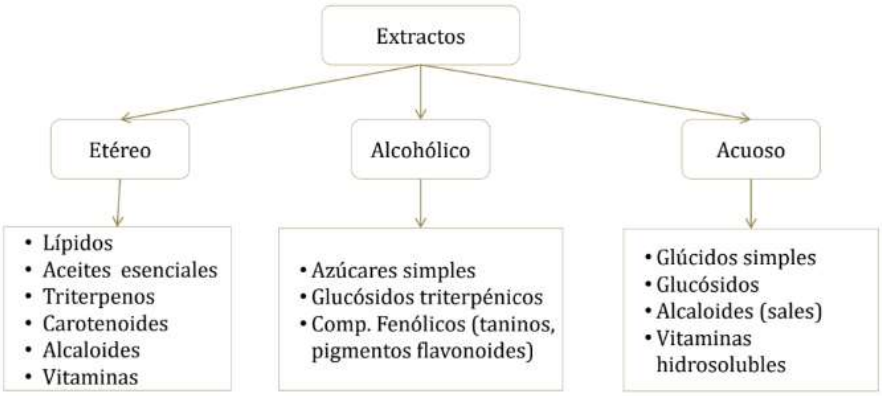


Figura 6. Clasificación de los extractos en diferente polaridad de solvente.

Fuente: (Frías y Rosales, 2023).

Los extractos vegetales pueden tener un sin número de variantes, las mismas que deben estandarizarse para obtener el mayor rendimiento de obtención del compuesto o activo, como se puede ver en la Figura 7, lo que se denomina el control de calidad que en los extractos comerciales se encuentra validado.

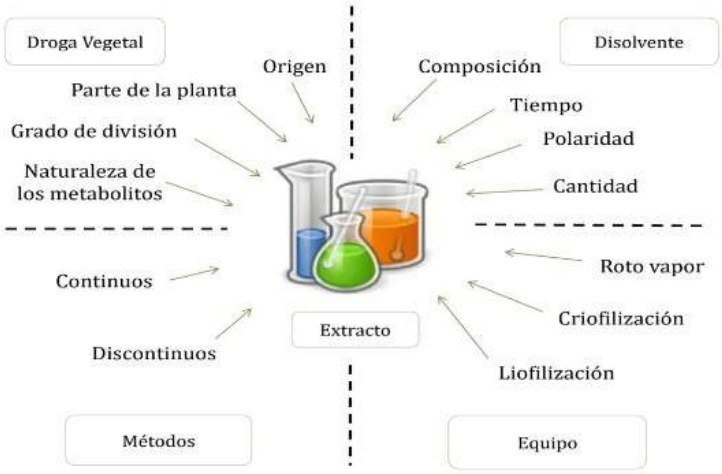


Figura 7. Factores que influyen en el proceso de obtención de un extracto vegetal.

Fuente: (Frías y Rosales, 2023)

2.5. Bioinsumos

Son productos de origen biológico que pueden ser compuestos o extractos de microorganismos o plantas, o microorganismos vivos y tienen actividad pesticida, fertilizante o inductora de la defensa vegetal, no generar impactos negativos en el ecosistema de esta forma se presentan como soluciones económicamente atractivas y ecológicamente aceptables. Los bioinsumos pueden ser clasificados desde distintos puntos de vista. Por su origen, pueden ser bioinsumos de origen vegetal o microbianos; y por su efecto sobre la planta, pueden ser clasificados como biofertilizantes y biopesticidas (Filippone y Marchese, 2018).

Los bioinsumos con actividad de biopesticida obtenidos de plantas pueden ser de diferente naturaleza química: péptidos, polisacáridos, alcaloides, esteroides, terpenoides y fenoles los cuales son de baja toxicidad para los vertebrados, de alta degradación natural y muy efectivos para controlar diversas plagas y patógenos. EL problema para considerarse para este tipo de productos es:

- La escasa información existente sobre pruebas toxicológicas,
- La variabilidad en la cantidad del ingrediente activo
- La baja estabilidad de los extractos.

Estos detalles que conlleva a que el bioinsumo debe tener una formulación estable resultado de un proceso de investigación y desarrollo. En su fase de investigación la Caracterización del producto inicia por el principio activo con sus propiedades físicas, bioquímicas y la actividad biológica. Es aquí donde toma gran importancia la definición del método de cuantificación, revisión de las condiciones para el registro y consolidando lo que se denomina el Perfil del producto (Braude et al., 2023).

2.5.1. Caracterización del bioinsumo

Inicia por la Caracterización del principio activo, definiendo su actividad biológica, la definición del método de cuantificación, la formulación y simulación de uso en campo, compatibilidad, modos de acción, eficacia en condiciones controladas y en campo,

forma de ampliación y frecuencias, concentración mínima efectiva (dosis), efecto sobre organismos benéficos usados en manejo integrado del cultivo y costos de producción y aplicación (Braude et al., 2023).

2.5.2. Métodos de cuantificación del activo

La cromatografía de gases-espectrometría de masa (CG-Masas) es una técnica que constituye una herramienta para separar, identificar y cuantificar los componentes volátiles y semivolátiles de mezclas complejas como es el caso de los aceites esenciales usados para la formulación de bioinsumos (Hernández y Velásquez, 2018). Para la identificación de los componentes de la muestra se utilizan bibliotecas digitales, que corresponden a fuentes digitales con datos de masas espectrales de moléculas específicas que pueden ser parte de los componentes principales de aceites de esenciales de diferentes plantas. Las ventajas de usar la técnica de CG-Masas es: manejar un sistema con alta sensibilidad, adquisición de datos rápidamente y proceso confiable, y bajo costo en relación con el gasto de reactivos y tiempo (Martínez y Ricaldi, 2014).

3. CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de investigación detallado a continuación consta de tres partes:

1. En la primera, se trata de una identificación del ácaro de una muestra de hojas de aguacate.
2. En la segunda, parte se ejecuta una caracterización de un extracto vegetal que es ingrediente principal de un bioinsumo con acción acaricida.
3. En la tercera, se establece el efecto de control del bioinsumo a distintas dosis de dilución sobre tres estadios de desarrollo de ácaros identificados en aguacate (huevos, ninfas y adultos).

3.1. Modalidad o enfoque de la investigación

El presente trabajo se sustenta bajo un enfoque CUANTITATIVO que mantiene un paradigma POSITIVISTA que se aprecia en la medición magnitudes corroborados por una apreciación estadística (Bernedo y Yucra, 2020). De esta manera se puede describir el efecto de un bioinsumo a base de un extracto vegetal en distintas concentraciones sobre la mortalidad de los distintos estadios de desarrollo del principal tipo de ácaro encontrado en hojas de aguacate.

3.2. Tipo de investigación:

El presente trabajo está definido como una INVESTIGACIÓN EXPLICATIVA ya que el estudio experimental se concibe en la manipulación de variables independientes lo cual permite comprobar hipótesis que explican un fenómeno determinado (Ramos, 2020). Considerando este alcance esta investigación busca definir el efecto que tiene el bioinsumo sobre los distintos estadios del ácaro de hojas de aguacate a distintas concentraciones.

3.3. Población y muestra.

La muestra está definida como:

1. La muestra cruda de extracto vegetal de nombre Verbenaceae Essential Oil, corresponde materia prima comprada a un proveedor en china especializado en extractos vegetales la misma que se determinó el activo.
2. La población estudiada corresponde a ácaros presentes en muestras de hojas de aguacate con síntomas de infestación (manchas en forma de pecas), las mismas que son tomadas de una planta de aguacate de jardín ubicado en la provincia de Pichincha, al nororiente del cantón Quito, parroquia de Yaruquí, comuna Chinangachí.

3.4. Métodos teóricos y empíricos para emplear.

- La identificación de la plaga se basó en la observación directa al estéreo microscopio y uso de claves taxonómicas.
- La determinación del activo del extracto vegetal se basó en métodos instrumentales como CROMATOGRAFÍA GASES-MASAS.
- La evaluación de la eficacia sobre el control de ácaros empleo el método descrito por (Fernández et al., 2010), que se sustenta en el conteo directo del organismo al inicio de la prueba y conteos posteriores.

3.5. Técnicas e instrumentos:

3.5.1. Identificación y Cuantificación del activo por Cromatografía de gases-Espectrometría de masas (GC/MS).

GC/MS es la técnica para el análisis de moléculas orgánicas pequeñas y volátiles, misma que permite el análisis de compuestos, como su capacidad para separar mezclas complejas, cuantificar e identificar analitos (Luczaj et al., 2019).

3.5.2. Método para evaluación de ensayos de eficacia con acaricidas

Se aplica el conteo directo del organismo al inicio de la prueba y conteos posteriores permiten valorar el efecto de control en el tiempo. Se establece una comparación con un testigo absoluto sin tratar para establecer la real reducción de la población de la plaga. El conteo se puede realizar sobre adultos, ninfas, huevos, dependiendo del tipo de acaricida o del estadio más relevante. El análisis estadístico estará basado en el número de individuos encontrados y la variación de la población en el tiempo. Para realizar este método se requiera la identificación del género y especie de la plaga a controlar, con el respectivo reconocimiento taxonómico. (Fernández et al., 2010).

Las variables para evaluar son: Mortalidad de adultos, huevos y ninfas

Mortalidad de adultos y ninfas: conteo de individuos con movilidad.

Mortalidad de huevos: conteo de huevos de color cristalino brillante, lo cual es un indicador de viabilidad. (Rodríguez y Torres, 2019)

3.5.3. Variables adicionales para considerar

- Factor: Estadio de la plaga (huevos, ninfas, adultos de forma general) Factor
- Factor: Repeticiones del diseño completo (para evaluar la repetibilidad del método)

3.6. Diseño experimental

Evaluación del efecto del bioinsumo a base del extracto vegetal Verbenaceae Essential Oil, se establece el siguiente modelo experimental:

Tabla 2. Factores en estudio: a) Niveles establecidos y b) Tiempo (Está de revisar ya que no hay un esquema que resuelva lo que se tiene en los resultados

	Factores	
	CONCENTRACIÓN	TIEMPO (Horas)
Niveles	Testigo (0 ml/l)	0
	Baja (1 mL/L)	24
	Media (2 mL/L)	48
	Alta (3 mL/L)	72

Se realizo un arreglo factorial (4x4) en un diseño con 3 repeticiones y 4 réplicas separadas en bloques por estadios de desarrollo de los ácaros, huevos, ninfas y adultos. Para el análisis de estos datos se ejecuta un Análisis de Varianza y se determina la repetibilidad del método de determinación de acción acaricida, adicionalmente se ejecutó un análisis de Polinomios Ortogonales para establecer el comportamiento de la curva respecto a la interacción de los individuos vivos versus dosis del bioinsumo usando los siguientes coeficientes (ver Tabla 3) y para evaluar los efectos del tiempo, la dosis y el estadio de desarrollo del ácaro se emplea un Análisis de varianza anidado, donde se consolidan todos los factores y niveles que intervienen en el diseño experimental.

Tabla 3. Coeficientes de prueba de contrastes ortogonales (no se observa en los resultados)

Coeficientes de contraste				
	Dosis (mL/L)			
Contraste	0	1	2	3
Lineal	-3	-1	1	3
Cuadrático	1	-1	-1	1
Cúbico	-1	3	-3	1

Fuente: (Caballar, 2017).

Las concentraciones se codifican como se muestra en la tabla 4 para ejecutar el ensayo:

Tabla 4. Codificación de tratamientos, parece que los tiempos no son un factor ya que los tratamientos se conforman de la interacción, revisar

	Tiempo (horas)			
Dosis (cc/L)	0	24	48	72
0,0 Blanco absoluto	$T0_0$	$T0_1$	$T0_2$	$T0_3$
1,0	$T1_0$	$T1_1$	$T1_2$	$T1_3$
2,0	$T2_0$	$T2_1$	$T2_2$	$T2_3$
3,0	$T3_0$	$T3_1$	$T3_2$	$T3_3$

T: Codificación de la unidad experimental (Tratamiento)

Esta codificación se ejecutará para cada bloque de análisis, huevos, ninfas y adultos de ácaros y por bloque de repeticiones completas.

El análisis de los datos obtenidos en la fase de determinación de diferencias significativas sobre la mortalidad de ácaros con las variables independientes definidas se usa el software IMB SPSS Statistics Versión 21.

3.7. Parte Experimental

3.7.1. Materiales, equipos, reactivos y sustancias

Tabla 5. Materiales y Equipos

Material y equipo	**Especificación**	**Resolución**
Balanza analítica	Rango: [0-300] g	Ap.: ± [0,001] g
Micropipetas	Rango: [0-2000] µL Rango: [0-10] µL	Ap.: ± [2] µL
Cronometro	Rango: [0-24] h	Ap.: ± [1] s
Vasos de precipitación	Rango: [0-100] mL	Ap.: ± [10] mL
Estufa	Rango: [5-50] °C	Ap.: ± [1] °C
termohigrómetro	Rango: [0-100] %	Ap.: ± [1] %
Estéreo microscopio	Marca 2x, 4x	
Cajas Petri 90 x 15 mm	Dimensiones: 90 x 15 mm	
Papel filtro		
Lupa de exploración entomológica	60x	
Papel absorbente		

Caja Petri Hojas de rosas frescas Estilete de disección Fundas Ziploc Papel hidro sensible Atomizador Balones aforados	Rango [100-500] mL	Ap.: ± [0,1] mL

Los reactivos y sustancias usados en el presente estudio son:

Tabla 6. Sustancias y Reactivos

Sustancia y Reactivos	Descripción
Bioinsumo acaricida	Muestra de extracto comercial
Agua Destilada	Tipo 1
Thymol (grado analítico) ANEXO D	Marca Sigma-Aldrich 98,5% pureza
Extracto de vegetal Verbenaceae Essential Oil ANEXO H	

3.7.2. Procedimiento

3.7.2.1. Identificación de la plaga

La muestra de hojas se tomó de un árbol de 2 años de jardín que presentaba síntomas similares a los observados en cultivos comerciales de aguacate, se envió muestras de hojas al laboratorio de entomología de la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario AGROCALIDAD donde su uso claves taxonómicas para su identificación.

3.7.2.2. Caracterización del activo del extracto comercial

Se tomo muestras del extracto comercial disponibles, se envió muestras al laboratorio OSP de la Universidad Central del Ecuador, donde se validó el método de determinación del activo por Cromatografía de Gases-Masas (Cromatógrafo de la marca YOUNG IN Chromass) usando un estándar grado analítico del activo Thymol al 98,5 % de la marga Sigma-Aldrich. Posterior a la corrida el estándar analítico, se corrió la muestra del extracto detectándose el contenido de activo.

3.7.2.3. Evaluación de ensayos de eficacia acaricida del bioinsumo

Se preparó un protocolo (ver ANEXO C), para la evaluación de efectos del bioinsumo a base del extracto vegetal se empleó agua destilada para la preparación de las soluciones, cajas Petri de 90 x 15 mm, papel filtro, atomizador, bolones aforados de 100 mL, vasos de precipitación, micropipetas de [0-2000] µL ± 2 µL, Estéreo microscopio, papel filtro, estilete para disección, Papel hidrosensible y lupa de exploración entomológica. El procedimiento de esta etapa es la siguiente: De árboles donde se tomó la muestra para identificación taxonómica de la plaga se toma hojas con muestra de la incidencia de ácaros, usando la lupa de exploración entomológica (hojas con pecas visibles en el envés), luego cortar y colocarlo en fundas ziploc en las cuales previamente se haya colocado algodón humedecido, cortar secciones de hojas con presencia de individuos en tamaños de 20 x 10 mm realizar el conteo de huevos, ninfas y adultos. Asignar cada a cada tratamiento 3 secciones de hojas y colocar sobre una caja Petri con papel filtro previamente mojado adicionalmente colocar un pedaso de 20 x 10 mm de papel hidrosensible como indicador de mojado. Preparar soluciones a las concentraciones especificadas de los tratamientos (0,0, 1,0, 2,0, 3,0) mL/L en balones aforados, tomar en el atomizador las soluciones y atomizar sobre las hojas asegurando un mojado completo con el cambio de color del papel hidrosensible colocado en la caja Petri. Cerrar la caja Petri y mantener a una temperatura no inferior a los 15 °C, realizar los conteos de individuos vivos a las 24 horas, 48 horas y 72 horas después de la aplicación**.**

4. CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

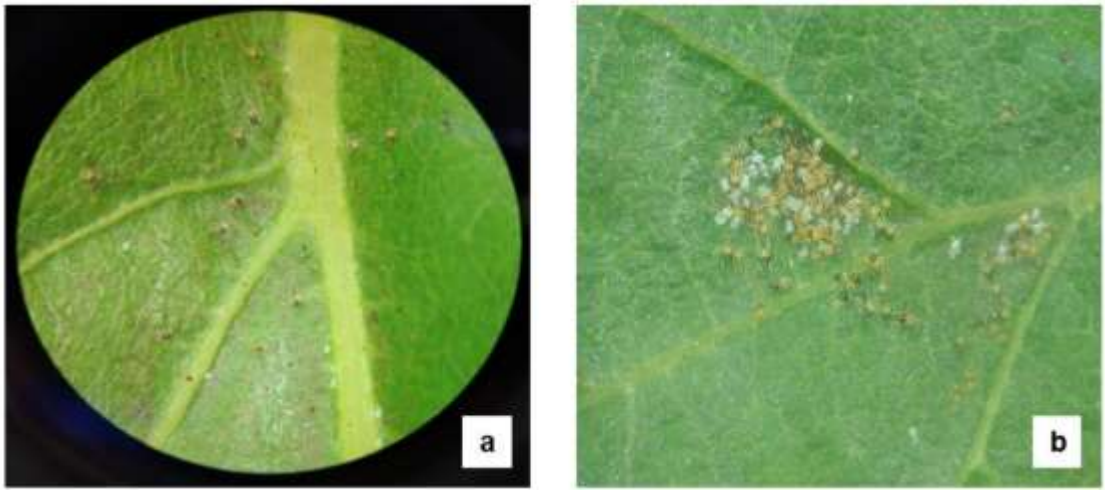
Resultado: Se presentan de forma detallada los resultados obtenidos de acuerdo con cada uno de los objetivos específicos propuestos. Importante a tener en cuenta que estos resultados deben ser estrictamente interpretados y explicados para un buen entendimiento de los mismos.

4.1. Identificación de la especie de ácaros que afecta al cultivo de aguacate en la Sierra Centro del Ecuador.

Se describió a la plaga considerando los siguientes criterios:

4.1.1. Identificación fotográfica del modo de vida de la plaga

A nivel regional los ácaros descritos para el cultivo de aguacate representan varias especies que se diferencias específicamente por su modo de vida y efecto sobre el cultivo. En ecuador en cultivo de aguacate solo se tiene registro y reporte de una especie de ácaro en aguacate que es *Oligonychus yothersi* (GBIF, 2023) (ver Fotografía 1), asociado al cultivo de aguacate, el cual no coincide con los síntomas a lo detectado en la muestra y cultivos observados.

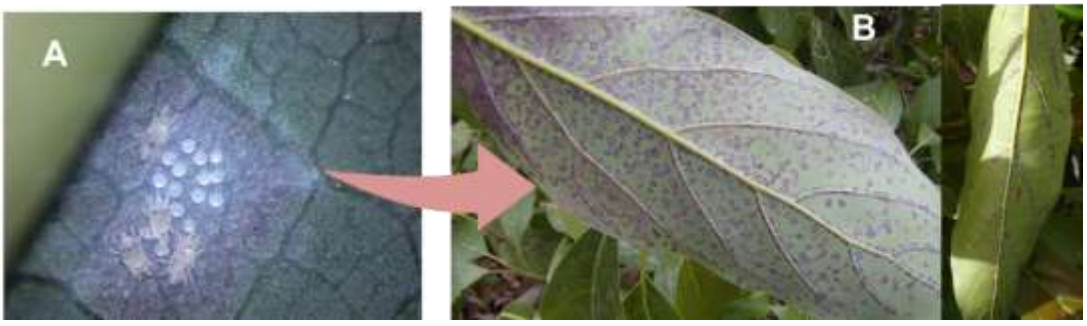


Fotografía 1. Colonia de Oligonychus yothersi en aguacate Hass. A) Detalle de los ácaros en la colonia. B) Ácaros en diferentes estados y sus respectivas exuvias.

Fuente*:* (Lagos, 2023).

O. yothersi se alimenta en el haz de las hojas, afecta los parámetros fisiológicos del tejido foliar y como respuesta a su alimentación provoca un color rojizo en las hojas, y a su vez decoloración por alto estrés oxidativo (Lagos, 2023). Los daños de este ácaro sobre las hojas de aguacate no corresponden a los síntomas encontrados en los cultivos de las zonas Sierra norte, Imbabura, Pimanpiro, ni tampoco coinciden con los síntomas encontrados en la muestra de hojas de aguacate usado para el estudio de la Sierra Centro, Pichincha, Quito. Por lo cual se indujo a evaluar otra posibilidad de especie no reportada.

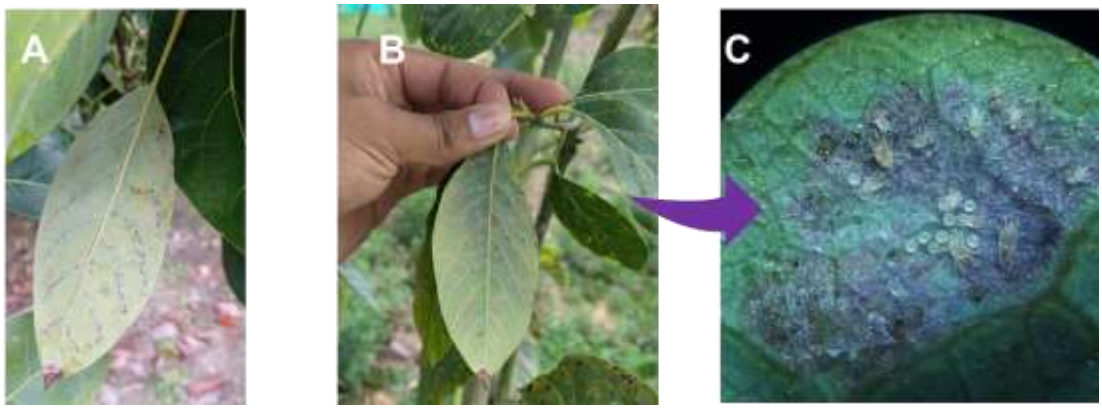
Por su forma de establecerse sobre las hojas, se pudo dar indicios de la especie de ácaro que se está estudiando, ya que en la infestación es común encontrar los nidos junto al nervio central, esta especie conocida vulgarmente como arañas cristalinas (*Oligonychus perseae)* (ver Fotografía 2), comen en colonias o nidos protegidas bajo una densa tela de araña. (Torres et al., 2018).



Fotografía 2. Colonia de como arañas cristalinas (Oligonychus perseae): A) Araña cristalina en su nido cubierto de tela de araña. B) Daño en hojas de aguacate.

Fuente: (Torres et al., 2018).

La alimentación de esta especie de ácaros produce decoloraciones pardas de forma circular similares a pecas coincidiendo con los nidos y que, en función de la severidad del daño, pueden apreciarse hasta en el haz. (Torres et al., 2018). En la muestra de hojas de aguacate usadas en este estudio y en los cultivos visitados en la zona aguacatera de Imbabura se encontró los mismos síntomas descritos para *O. perseae.* (ver Fotografía 3).



Fotografía 3. Colonias de arañita cristalina en muestras hojas de aguacate: A) Hojas de aguacate de cultivo comercial Pimampiro, Imbabura. B) Muestra de hojas usadas en el estudio, Quito, Pichincha. C) Nidos de ácaros observados en la muestra a 4X.

Fuente: *(Muñoz, 2023)*

4.1.2. Identificación con claves taxonómicas

Las muestras de hojas de aguacate infestadas se enviaron a el Laboratorio de Reconocimiento Entomológico de Agrocalidad y con el uso de claves taxonómicas se obtuvo el siguiente resultado en el Informe de Laboratorio de Entomología de Agrocalidad N°: LN-E-E23-196 (ver Figura 8), para más detales ver ANEXO B.

RESULTADOS DEL ANÁLISIS

Método: PEE/E/02 Observación directa al estéreo microscópio y uso de claves taxonómicas.

CÓDIGO DE LABORATORIO	CÓDIGO DE CAMPO	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	NOMBRE COMÚN
E-23-1227	Desarrollo hojas aguacate	Arachnida	Trombidiformes	Tetranychidae	*Oligonychus*	*Oligonychus perseae*	Ácaros
				Phytoseiidae	*Euseius*	*Euseius sp.*	
				Tydeidae	*Tydeus*	*Tydeus sp.*	

Figura 8. Sección de resultados del informe del Laboratorio de Entomología de Agrocalidad

Fuente: (Mariño, 2023).

Este resultado se valida con los anexos enviados en el mismo informe, que corresponde a fotografías de la plaga (ver Fotografía 4).

Fotografía 4. Oligonychus perseae – Adultos y huevos en hoja de aguacate.

Fuente: (Mariño, 2023).

La plaga observada en cultivos comerciales y en la muestra pudo ser identificada como *O. perseae,* según los resultados del estudio entomológico emitido por AGROCALIDAD, los otros ácaros adicionalmente identificados en el mismo informe no causan daño significativo al cultivo, de hecho, uno de los ácaros reconocidos es depredador natural (*Euseius sp.*) de *O. perseae,* por lo cual no son de importancia para este estudio. Mas detalles del informe están disponibles en la sección de Anexos (ver Anexo B).

4.2. Caracterización del extracto vegetal que presenta actividad acaricida.

El componente principal del extracto de Verbenaceas contiene algunos componentes que han mostrado acción de control sobre ácaros, que se ha descrito en estudios como el de Cavalcanti et al. (2010), en específico los aceites esenciales sobre *Tetranychus urticae* Koch del cual se estableció los LC_{50} para el extracto puro y los componentes aislados identificados. En este estudio para determinar los componentes se ejecutó un análisis químico usando la técnica de Cromatografía de Gases-Masas, metodología que se replicó en este estudio, usando como analito de interés al **Thymol** ya que en el mismo estudio aparece como el principal componente del extracto de Verbenaceas. La caracterización del activo se lo realizo tanto en la muestra cruda donde se validó el método como en la muestra del bioinsumo ya formulado.

4.2.1. Caracterización del activo en el extracto de crudo

Se realizó la corrida cromatográfica de dos muestras del extracto vegetal (ver Figura 9) con los resultados datos para (para más detalles ver ANEXO E):

A

PARÁMETROS (PERFIL CROMATOGRÁFICO)	UNIDAD	RESULTADO	METODO
TIMOL	%	23.33	CROMATOGRAFÍA GASES-MASAS

B

PARÁMETROS (PERFIL CROMATOGRÁFICO)	UNIDAD	RESULTADO	METODO
TIMOL	%	25.85	CROMATOGRAFÍA GASES-MASAS

Figura 9. Resultados de informe de corridas cromatográficas: A) Resultado muestra 1. B) Resultado muestra 2.

Fuente: (Robles, Informe de Resultados - INF. No.2023-0317-1-2, 2023).

Los resultados corresponden a los siguientes Cromatogramas que muestran el pico del timol validado con el estándar analítico (ver Figura 10), más detalles ver ANEXO F:

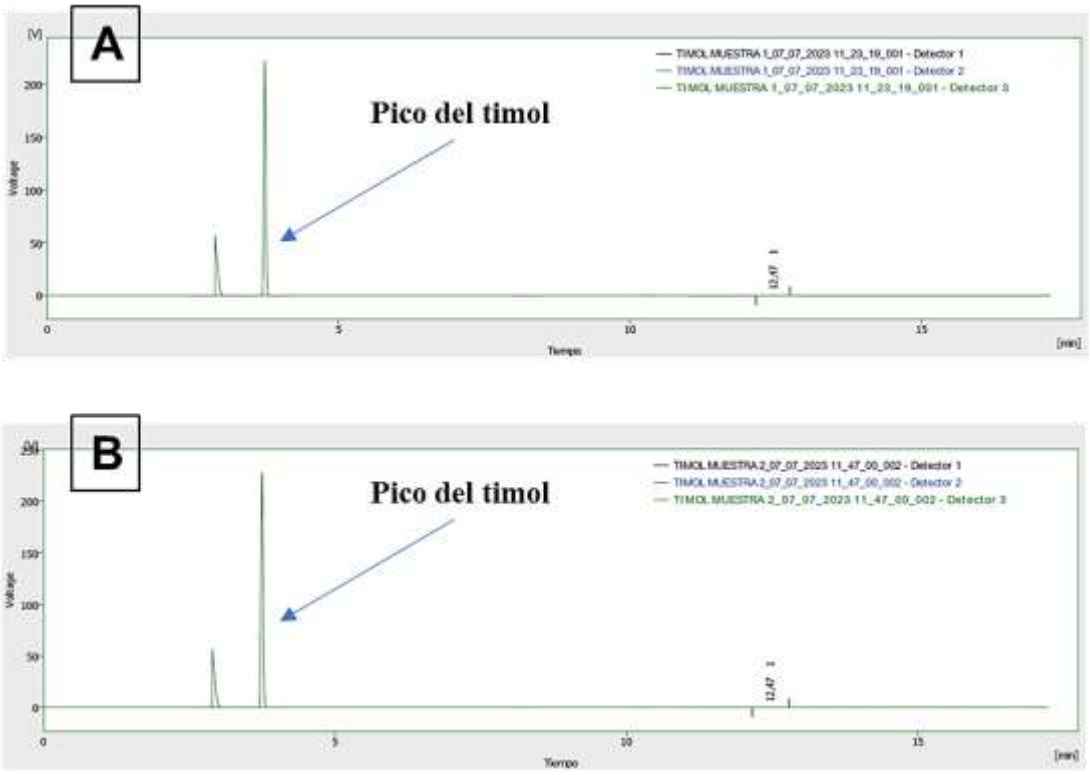


Figura 10. Cromatogramas con pico representativo de timol: A) Muestra 1. B) Muestra 2

Fuente: (Robles, Informe de Resultados - INF. No.2023-0317-1-2, 2023)**.**

4.2.2. Caracterización del contenido de activo neto en el bioinsumo:

Se formuló el bioinsumo de tal forma que alcance un contenido de activo del 1,8 % masa sobre volumen, partiendo del dato de las muestras cuantificadas, pero en la realidad los excipientes, la formulación y los procesos de fabricación hacen que este contenido pueda variar casi siempre reduciendo del valor teórico por lo cual se cuantificó en el producto final en tres muestras donde se obtuvo los siguientes resultados (ver Figura 11) más detalles ver ANEXO G:

A

PARÁMETROS (PERFIL CROMATOGRÁFICO)	UNIDAD	RESULTADO	METODO
CONTENIDO DE TIMOL	g/l	13,7	CROMATOGRAFÍA DE GAS

3: Datos proporcionados por el cliente y de su responsabilidad.

B

PARÁMETROS (PERFIL CROMATOGRÁFICO)	UNIDAD	RESULTADO	METODO
CONTENIDO DE TIMOL	g/l	13.0	CROMATOGRAFÍA DE GAS

3: Datos proporcionados por el cliente y de su responsabilidad.

C

PARÁMETROS (PERFIL CROMATOGRÁFICO)	UNIDAD	RESULTADO	METODO
CONTENIDO DE TIMOL	g/l	13.0	CROMATOGRAFÍA DE GAS

3: Datos proporcionados por el cliente y de su responsabilidad.

Figura 11. Contenido de activo en el producto final: A) Muestra 1, B) Muestra 2 y C) Muestra 3.

Fuente: (Robles, 2024)

Con estos datos se pudo promediar que el contenido de activo promedio de las muestras del bioinsumo es de 13,2 g/L o 1,32% masa volumen considerando que la densidad es aproximadamente 1 gramo por litro.

4.3. Determinación de la acción acaricida de un bioinsumo a base de un extracto vegetal.

El arreglo datos obtenidos del experimento (ver Anexo 1), permitió validar los procedimientos experimentales y los resultados del ensayo de control de ácaros a distintas concentraciones como de describe a continuación. Los datos promedio obtenidos para los individuos vivos en el tiempo y las distintas dosis se puede observar (ver Figura 12).

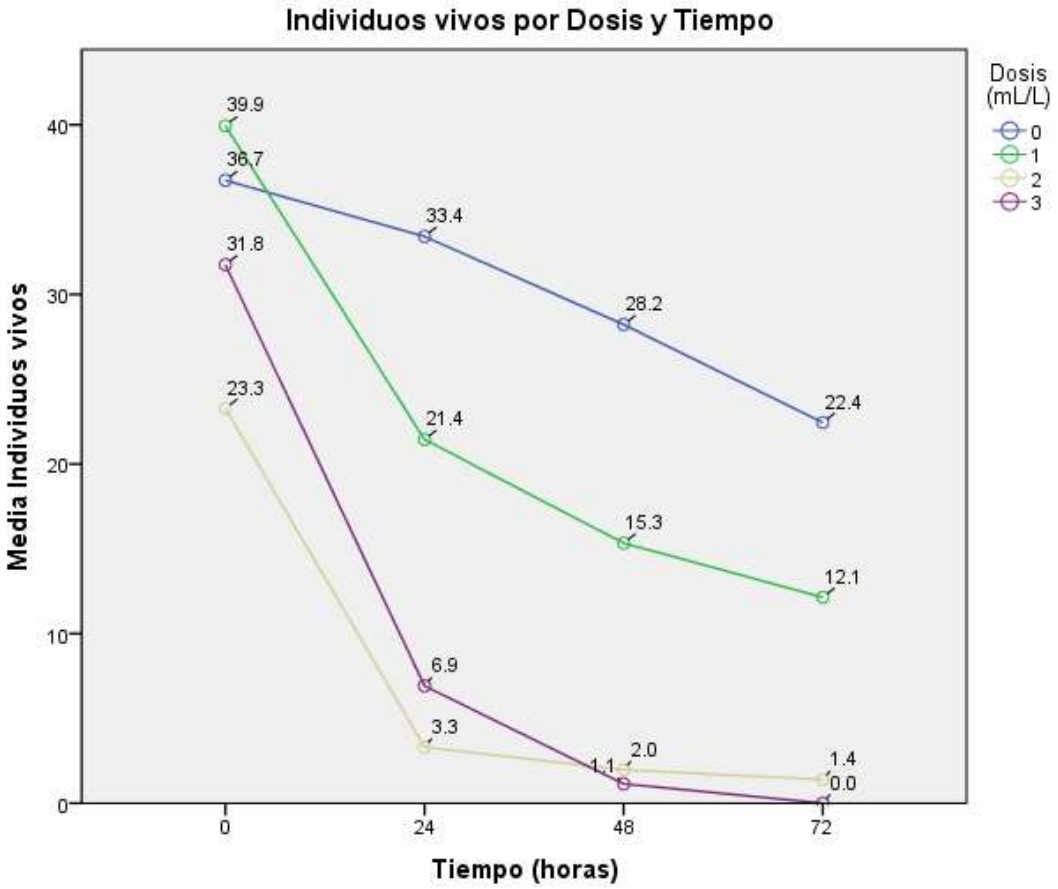


Figura 12. Comportamiento de general promedio de los individuos vivos (ácaros en huevos, ninfas y adultos en el tiempo y por dosis.

4.3.1. Repetibilidad del método de determinación de acción acaricida.

Este criterio permite identificar el grado de acuerdo entre los resultados obtenidos utilizando el mismo método, en idénticos materiales, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, usando el mismo equipo y en un corto intervalo de tiempo en distintos momentos (Aguirre et al., 2016).

Para ellos se estableció un Análisis de Varianza ANOVA agrupado en 4 réplicas de diseño completo del experimento con variable dependiente Normalizada obtenido del **número de individuos vivos** con los siguientes resultados.

Tabla 7. Resultados del análisis estadístico de la repetibilidad del método de evaluación de acción acaricida

Prueba de homogeneidad de varianzas

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Individuos vivos Normalizados	Basado en la media	0,429	3	572	0,733

ANOVA

Individuos vivos Normalizado

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0,933	3	0,311	0,365	0,779
Dentro de grupos	487,965	572	0,853		
Total	488,898	575			

HSD Tukey[a]

Repeticiones	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
2	144	2,6186
1	144	2,6498
4	144	2,6882
3	144	2,7257
Sig.		0,759

El análisis de varianza ejecutado al 95% de confianza nos da como resultado que no existe una diferencia significativa en las repeticiones del Diseño completo del ensayo ejecutados ya que la probabilidad p 0,978 es mayor que el valor de significancia 0,05. El resultado se valida con el gráfico de barras de error de medias de la variable individuos vivos (ver Figura 13).

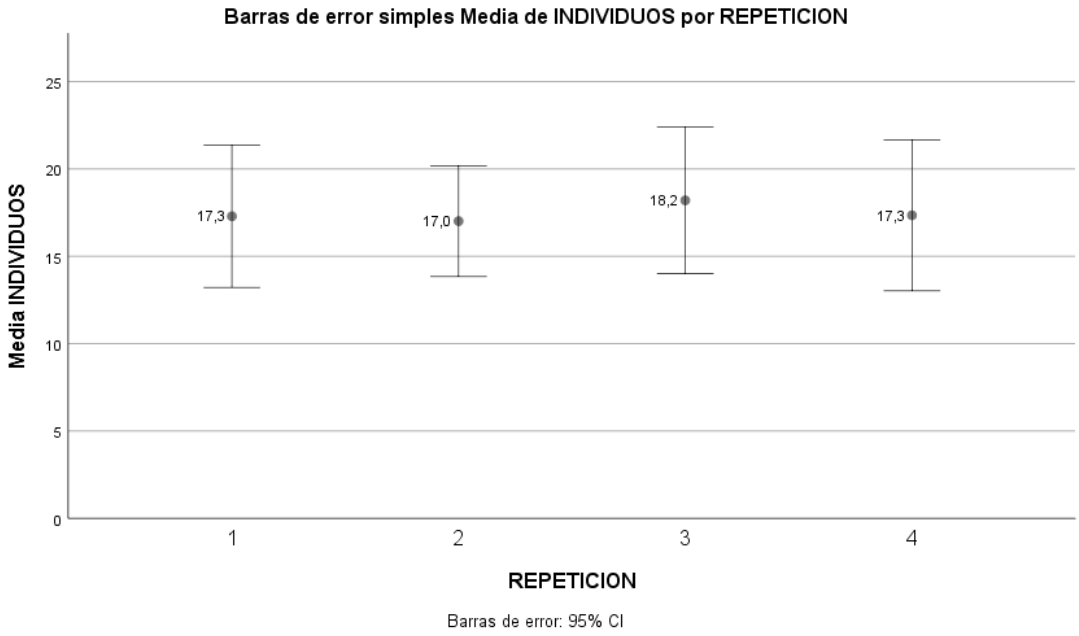


Figura 13. Gráfico de Barras de error de las medias de las repeticiones del experimento

El gráfico de barras de error muestra claramente que los datos de las repeticiones de solapan casi en casi su totalidad lo cual permite conocer que el método mantiene un similar comportamiento en todas las repeticiones al obtener los datos, con ellos se puede dar por validado el método para determinar la acción acaricida del producto analizado.

4.3.2. Efecto acaricida del bioinsumo a base de extractos vegetales

La forma en la que se ejecutó el ensayo permitió dilucidar una dependencia de la mortalidad de los ácaros con el tiempo factor que se sumó al análisis estadístico como una covariable y de esta forma determinar las siguientes relaciones:

1. Efecto del bioinsumo acaricida a distintas concentraciones y una evaluación de polinomios ortogonales.

Para este punto en el análisis de varianza se restringe variables independientes para trabajar con un solo factor que es la DOSIS y poder realizar la evaluación de polinomios ortogonales, obteniendo lo siguiente (ver tabla 8):

Tabla 8. Resultados del Análisis de Varianza y Evaluación de Polinomios Ortogonales

ANOVA

Variable: Individuos vivos Normalizado

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	Del modelo (Dosis)	124,308	3	41,436	65,008	,000
	Término lineal	110,142	1	110,142	172,800	,000
	Término cuadrático	9,424	1	9,424	14,786	,005
	Término cúbico	4,742	1	4,742	7,440	,004
Dentro de grupos		364,590	572	0,637		
Total		488,898	575			

Individuos vivos

HSD Tukey[a]

Dosis (mL/L)	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
2	144	2,2254		
3	144	2,2524		
1	144		2,8600	
0	144			3,3446
Sig.		0,992	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Los resultados del análisis estadístico con una significancia del 95% permite conocer que:

A) Existe una diferencia significativa (Probabilidad calculada < 0,05) respecto al factor DOSIS (el efecto acaricida varía en función de la dosis).

B) Existe una alta significancia al evaluar el polinomio ortogonal lineal (Probabilidad calculada muy inferior a < 0,05)

C) Existe una alta diferencia significativa al evaluar el polinomio ortogonal cuadrático (Probabilidad calculada < 0,05).

D) Existe una diferencia significativa al evaluar el polinomio ortogonal cúbico (Probabilidad calculada < 0,05).

E) En la prueba Tukey se observa que a la dosis de 2 y 3 existe una igualdad en el efecto sobre los individuos vivos (Probabilidad calculada > 0,05), datos en los cuales no hay diferencia significativa.

Estos resultados permiten interpretar que a las distintas dosis hay diferencia sobre el número de individuos vivos determinados y la tendencia de los individuos vivos y la dosis tiene un arreglo aproximadamente lineal, así mismo la prueba Tukey nos permite identificar la diferencia en las dosis observando que entre 2 y 3 no hay diferencia y la curva tiende cambiar de tendencia, estos resultados se pueden visualizar en el gráfico de medias de la variable individuos vivos (ver Figura 14).

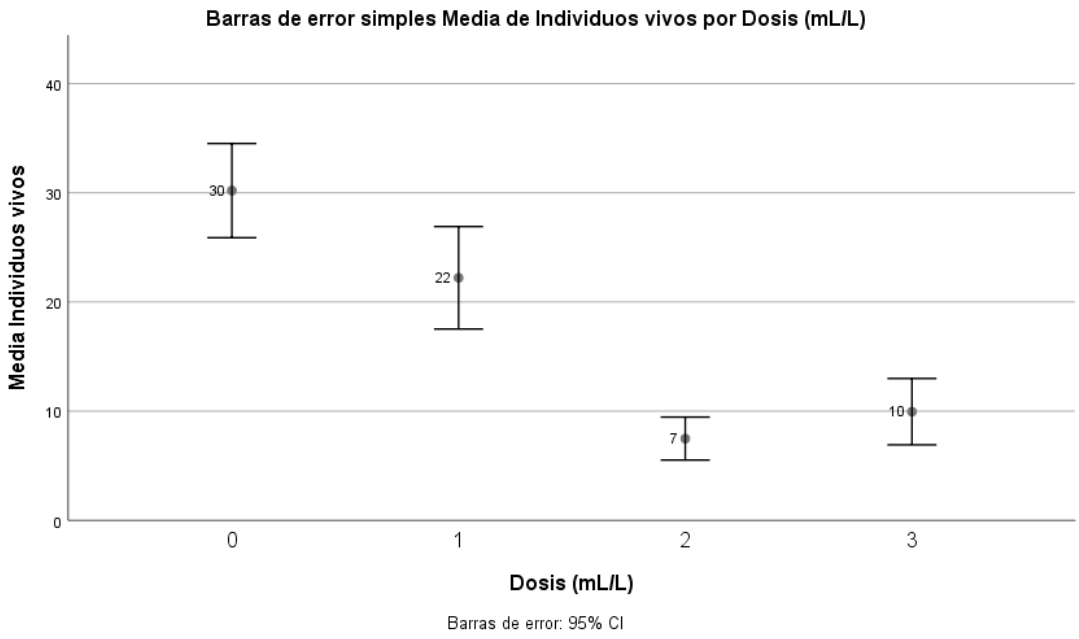


Figura 14. Gráfico de Barras de error de las medias de las dosis probadas en el experimento

Con el análisis gráfico también se logra interpretar que a mayor dosis mayor efecto del bioinsumo sobre el control de ácaros siendo la dosis 2 la de mayor efecto.

2. Efecto de la acción acaricida sobre los estadios de desarrollo de los ácaros y el tiempo.

Para esta sección se desarrolló un análisis de varianza anidado, obteniendo los siguientes resultados (ver Tabla 9):

Tabla 9. Análisis de Varianza para todas las variables que tienen efectos sobre los ácaros vivos Variable Individuos vivos Normalizada.

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Individuos vivos Normalizado

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	264,290a	4	66,072	167,969	0,000
Intersección	1832,345	1	1832,345	4658,194	0,000
TIEMPO	110,142	1	110,142	280,002	0,000
DOSIS	103,273	1	103,273	262,540	0,000
ESTADIO	50,875	2	25,438	64,668	0,000
Error	224,608	571	0,393		
Total	4596,934	576			
Total corregido	488,898	575			

a. R al cuadrado = ,541 (R al cuadrado ajustada = ,537)

Estos datos permiten apreciar lo siguiente:

A) El modelo completo presenta una diferencia con alta significancia (Probabilidad calculada muy inferior a < 0,05).

B) La variable TIEMPO presenta una diferencia con alta significancia (Probabilidad calculada muy inferior a < 0,05).

C) La variable DOSIS presenta una diferencia con alta significancia (Probabilidad calculada muy inferior a < 0,05).

D) La Variable ESTADIO presenta una diferencia con alta significancia (Probabilidad calculada muy inferior a < 0,05).

Los resultados permiten establecer que en función del TIEMPO hay un cambio en la cantidad de individuos vivos, se verifica el efecto de las DOSIS y el efecto de los ESTADIOS, sugiriendo que el experimento es altamente sensible a estas variables, lo que se puede observar al comparar las curvas de las medias discernida por la variable ESTADIOS (ver Figura 15).

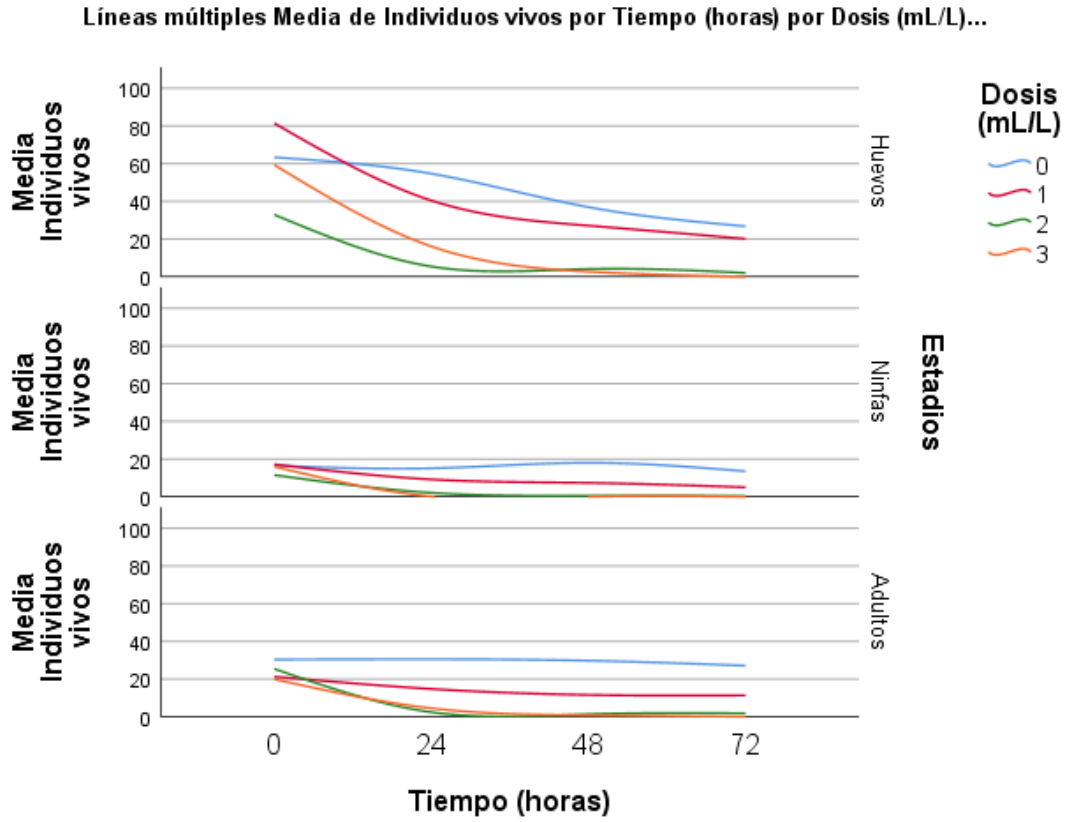


Figura 15. Gráfico de líneas Individuos vivos versus tiempo, dosis y estadios

El gráfico muestra claramente que la tendencia es en todos los casos la disminución de los individuos vivos en función del tiempo y la dosis, no se puede discernir completamente la diferencia entre estadios ya que los individuos vivos eran muy variables en cada nivel de este factor. De forma adicional se ejecuta una de estimación de efectos a fin de determinar el peso de los efectos de las variables analizadas sobre el número de individuos vivos (ver Figura 16).

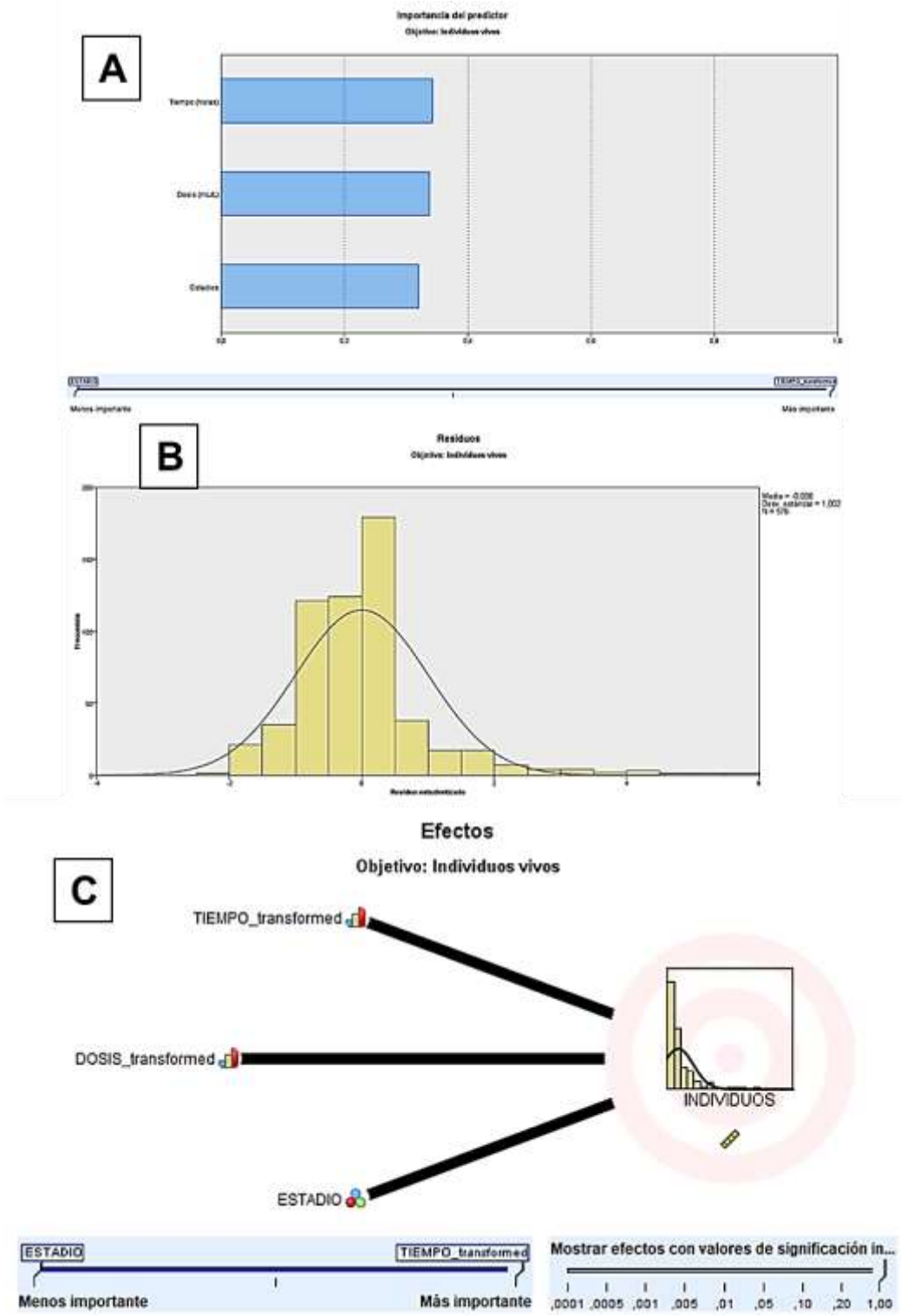


Figura 16. Estimación de efectos con los datos obtenidos: A) Diagrama de importancia de predictor de efectos. B) Comportamiento de distribución de los datos. C) Esquema de efectos sobre la variable Individuos vivos.

Con las figuras obtenidas del análisis estadístico fácilmente se puede observar la importancia de los variables independientes sobre la variable dependiente, en donde el mayor efecto es el tiempo seguido de la dosis y por último el estadio de los ácaros. Además, con los resultados de la tabla del análisis por MLGU nos permite reconocer que todas las variables consideradas tienen un efecto significativo sobre la cantidad de individuos vivos (ácaros en todos sus estadios). Asi mismo el análisis gráfico permite identificar que la dosis a 2 mL/L tiene el mejor efecto sobre los individuos vivos en cualesquiera estadios de desarrollo.

4.4. Discusión

Con la determinación del activo en el bioinsumo se puede establecer los ppm efectivos a las dosis probadas, en específico a 2 mL/L que es la de mejor resultados y como el bioinsumo está preparado con 13,2 g de Timol por litro obtenemos que para esa dosis los ppm efectivos son 26,4 ppm, con un control por el 90% de los individuos lo que concuerda con el estudio de Ballina et al., (2023) en donde existe un control sobre el 40% en varios estadios de desarrollo desde los 100 ppm de timol, la diferencia en los valores es relativo al método y a la especie ya que en este estudio es netamente ensayos a nivel laboratorio y el blanco biológicos es *O. perseae* y los estudios de Ballina son a nivel de invernadero en plantas infestadas manualmente con *T. urticae*, a pesar de ello la diferencia no es alta y corrobora que el timol muestra efecto en el control de ácaros de la familia de los tetraníquidos.

Los resultados del análisis estadístico permitieron validar el método aplicado para la avaluación del efecto acaricida, siendo un punto importante para tener resultados que pueden ser replicados y que se pueden extender a blancos biológicos similares y otros acaricidas que se requieran probar, de aquí que este método es referencia y las dosis efectivas a nivel de aplicaciones en cultivos puede magnificarse por las variables cobertura, posición de las hojas, efectos del ambiente y condiciones atmosféricas entre otras.

El tiempo en el avance del control de los ácaros con el producto probado es importante ya que con ello se puede establecer un momento exacto en el cual en aplicaciones a nivel comercial deben ser inspeccionadas porque el acaricida ya ha hecho su efecto y se puede diagnosticar si se requiere más aplicaciones o el control ha tenido éxito, considerando que a nivel comercial las variables pueden cambiar en su valor, pero no en la importancia de la misma. Esto se analiza así ya que Casals et al (2007), reconoció en su trabajo en los acaricidas pueden ser de rápida acción o lentos como el Azufre y su tiempo de evaluación de eficacia será distinto.

Un punto importante también es que se debe considerar identificar de forma exacta la especie de tetraníquidos como es el caso del aguacate, de al menos 4 especies que pueden afectar a este cultivo dos difieren mucho en su forma de establecerse sobre la planta, una especie (*O. punicae)* en el as de las hojas y otra especie (*O. perseae)* en el envés de las hojas generando un daño diferenciado y así mismo su forma de determinar los umbrales de acción en función de la severidad del daño serán exclusiva para cada especie

Con los resultados obtenidos las aplicaciones comerciales son viables y se puede validar la eficacia del bioinsumo acaricida a base de extracto vegetal del verbenáceas, tanto para estadios iniciales como huevos, pasando por ninfas y adultos, lo cual brinda una nueva herramienta para el control de plagas y permite diversificar los productos disponibles como acaricidas y reducir el riesgo de efectos de resistencia de las plagas.

5. CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- El bioinsumo a base de extracto vegetal de Verbenacea Essential Oil, contiene timol en su composición, mismo que al probarlo sobre ácaros de hojas de aguacate a nivel de laboratorio muestra un control a las dosis probadas.
- En las muestras de hojas de aguacate usadas en el estudio se pudo determinar que la especie de ácaro que lo afecta es *Oligonychus perseae*, mismo que genera síntomas similares a los encontrados en cultivos comerciales.
- El extracto vegetal de Verbenacea Essential Oil contiene timol y el producto terminado fabricado con este extracto en los ensayos a nivel de laboratorio contiene 13,2 gramos por litro de este metabolito secundario, determinados por Cromatografía de Gases-Masas.
- El bioinsumo acaricida mostro efectos sobre el control de los ácaros ya que muestra diferencias significativas versus el tratamiento a 0 mL/L (blanco absoluto), tanto en los estadios de huevos, ninfas y adultos.
- La dosis que mayor eficacia en mostrar el control de ácaros de hojas de aguacate es a 2 mL/L, la cual alcanza una mortalidad del 97% en los estadios de huevos, ninfas y adultos.

5.2. RECOMENDACIONES

- La identificación de las especies de plagas que afectan al cultivo de aguacate debe estar enfocada en apoyar a la diferenciación de los modos de establecerse en el cultivo, la forma en la que se presenta el daño y en base a ello se establecen los umbrales de acción, ya que los criterios de incidencia y daño entre cada especie son diferentes, y sobre todo así se apoya al agricultor a diferenciar las plagas de los organismos benéficos.
- Los componentes de los extractos de verbenáceas son varios y en este trabajo al menos de dilucido uno que presenta efectos sobre la mortalidad de los ácaros, pero también hay reportes de repelencia que pueden estar ligados a otros metabolitos del mismo tipo de extracto y ello puede ser un plus de este tipo de extractos vegetales que se deberían validar en investigaciones y sacar el máximo provecho a este tipo de volátiles de origen vegetal.
- Por los resultados obtenidos del efecto favorable que tiene el extracto comercial de verbenáceas incluido en un bioinsumo acaricida, permiten recomendar el uso del producto para su desarrollo en campo con el fin de aportar con una nueva herramienta para el control los ácaros en aguacate y que se puede extender en pruebas y ensayos para el control de ácaros de la familia de los tetraníquidos en otros cultivos de interés como rosas y frutales.
- Se recomienda continuar con este tipo de investigaciones ya que la pequeña empresa ecuatoriana con su investigación puede llegar a presentar resultados muy importantes que beneficia a la matriz productiva del país y se aporta con herramientas más amigables a los agricultores para el control de plagas.
- Los extractos de verbenáceas como aceites esenciales por su contenido de timol son una alternativa para pruebas de control de ácaros de la familia de los tetraníquidos, este tipo de ensayo se debe extenderse a extractos etanólicos u otros que puedan ser replicados por los agricultores y puedan usar estos extractos como alternativas para el control de plagas

6. CAPÍTULO VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROCALIDAD. (2023). *Dirección de orgánicos.* Lista informativa nacional de insumos de marca comercial permitidos para la producción orgánica: https://www.agrocalidad.gob.ec/direccion-de-organicos/

Aguirre, D., Guzmán, J., Medina, S., Molina, N., y Saavedra, N. (2016). Evaluación de la repetibilidad y reproducibilidad en la determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas bajo la NMX-AA-030-SCFI-2001 Y PROY-NMX-AA 030/2-SCFI-2010. *Química Hoy*, *5*(4), 10-13. https://doi.org/https://quimicahoy.uanl.mx/index.php/r/article/download/100/75/72#:~:text=Repetibilidad%2D.,un%20corto%20intervalo%20de%20tiempo.

Álvarez, L. (2020). *Efectividad biológica de tres plaguicidas en el control de Oligonychus punicae en aguacate de Coatepec Harinas, estado de México.* Tesis como requisito parcial para obtener el título de Ingeniero Fitosanitario, Universidad Autónoma del Estado de Morelios , Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc, Morelios. http://riaa.uaem.mx/xmlui/bitstream/handle/20.500.12055/3319/AAMLRS01.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Areas, A., Barba , T., Bastidas, K., y Heredia, M. (2022). Boletín Situacional Cultivo de Aguacate. *Ministerio de Agricultura y Ganadería*. Ecuador: Coordinación

General de Información Nacional Agropecuaria. https://fliphtml5.com/ijia/frkv/basic

Arias, F., Montoya, C., y Velásquez, O. (2018). Dinámica del mercado mundial de aguacate. *Revista Virtual Universidad Católica del Norte*(55), 22-35. https://doi.org/https://doi.org/10.35575/rvucn.n55a2

Ayala, J., Baruzzi, F., Pinto, L., y Tapia, M. (2023). Plant Antimicrobials for Food Quality and Safety: Recent Views and Future Challenges. *Foods*, *12*(2315), 1-39. https://www.mdpi.com/2304-8158/12/12/2315?utm_campaign=journnews_ccbj_foods&utm_medium=social_journ&utm_source=facebook

Ballina, H., Calvo, L., Hernández, E., Herrera, A., Latournerie, L., Ruiz, A., . . . Sánchez, Á. (2023). Efecto del Aceite Esencial de Lippia origanoides Kunth y dos de sus compuestos Orgánicos Volátiles sobre Tetranychus urticae Koch (Acari: Tetranychidae) y Bemisia tabaci Genn (Hemiptera: Aleyrodidae) en invernadero. *Tropical and Subtropical Agroecosystems, 26*(80), 1-14. https://doi.org/https://www.researchgate.net/publication/373505929_EFECTO_DEL_ACEITE_ESENCIAL_DE_Lippia_origanoides_Kunth_Y_DOS_DE_SUS_COMPUESTOS_ORGANICOS_VOLATILES_SOBRE_Tetranychus_urticae_Koch_Acari_Tetranychidae_Y_Bemisia_tabaci_Genn_Hemiptera_Aleyrodidae_EN_INV

Bernedo, L., y Yucra, T. (2020). Epistemología e Investigación Cuantitativa. *Revista de Investigación Científica IGOBERNANZA, 3*(12), 107-120. https://doi.org/https://igobernanza.org/index.php/IGOB/article/view/88/471

Braude, H., Bullor, L., Casavola, V., Carbajal, N., Cotes, A., Monzón, J., y Risopoulos, J. (2023). *Bioinsumos Oportunidades de Inversión en America Latina* (Vol. 9). Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/6f0feb21-441d-4662-aed5-03085a951d90/content

Caballar, M. (2017). *Enfoque Goemétrico en el Análisis Estadístico Multivariante.* Trabajo de Fin de Grado, Univerisdad de Sevilla, Facultad de Matemáticas, Sevilla. https://idus.us.es/handle/11441/63206

Casals, P., Flores, A., Silva, G., y Tapia, M. (2007). Susceptibilidad de Tetranychus urticae Koch (Acari: Tetranychidae) Colectada en Primula obconica Hance y Convolvulus arvensis L. a Acaricidas. *Agricultura Técnica, 67*(2), 219-224. https://doi.org/https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0365-28072007000200014&script=sci_arttext&tlng=en

Castro, G., y Valle, J. (2022). *Agentes microbianos asociados al cultivo de aguacate (Persea americana Mill) en la finca El Plantel 2020.* Trabajo de grado, Universidad Nacional Agraria , Facultad de Agronomía, Managua. https://repositorio.una.edu.ni/4629/1/tnh20c355.pdf

Cavalcanti, S., Niculau, E., Blank, A., Câmara, C., Araújo, I., y Alves, P. (2010). Composition and acaricidal activity of Lippia sidoides essential oil against two-spotted spider mite (Tetranychus urticae Koch). *Bioresource Technology, 101*, 829-832. https://doi.org/https://sci-hub.hkvisa.net/10.1016/j.biortech.2009.08.053

Collantes, R., y Rodríguez, A. (2022). Artrópodos Plaga en Agroecosistemas de Aguacate y Mandarina en el Valle de Cañete, Lima, Perú. *SCIENTIA Journal of Basic Science and Technology, 32*(1), 16-22. https://revistas.up.ac.pa/index.php/scientia/article/view/2883/2561

Coria, V., y Ayala, A. (2010). *Manejo De Ácaros Del Aguacate En México.* INIFAP Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agricolas y Pecuarias. https://www.researchgate.net/publication/280769003

Criales, D., Vásquez, C., y Norato, C. (2012). *Manejo fitosanitario del cultivo del aguacate Hass (Persea americana Mill) - Medidas para la temporada invernal* . Bogotá: Produmedios. Ministro de Agricultura y Desarrollo Rural - Instituto Colombiano Agropecuario: https://www.ica.gov.co/getattachment/4b5b9b6f-ecfc-46e1-b9ca-b35cc1cefee2/-

EPPO Global Database. (2023). *Oligonychus*. https://gd.eppo.int/taxon/OLIGPA

FAO - OMS. (2023). *Codex Alimentarius*. Normas Internacionales de los Alimentos FI 0326 - Aguacate (palta): https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/commodities-detail/es/?c_id=130

FAO. (2021). *FAOSTAT*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO): https://www.fao.org/faostat/es/#data/TCL/visualize

FAO. (2023). *FAOSTAT*. Cultivos y productos de ganadería: https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL/visualize

Fernández, R., Trapero, A., y Domínguez, J. (2010). *Experimentación en Agricultura.* Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. https://doi.org/https://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/1337160941EXPERIMENTACION.pdf

Fibia, J., Campos, J., y Martínez, M. (2009). Los ácaros de los cítricos. *Dossier Técnic*(36), 15-19. https://ruralcat.gencat.cat/documents/20181/4633080/DT36_cast.pdf/36ad4ed9-a37a-46d0-b9b0-d64b0a583963

Filippone, M., y Marchese, M. (2018). Bioinsumos: componentes claves de una agricultura sostenible. *Revista agronómica del Noroeste Argentino*, *38*(1), 9-21. https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/92661/CONICET_Digital_Nro.ee07db96-c339-4b9d-a335-62213099a55c_A.pdf?sequence=2yisAllowed=y

Frías, M., y Rosales, M. (2023). *Farmacognosia Principios Básicos* (Primera Edición ed.). Universidad Juárez del Estado de Durango. https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=zw73EAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA3&dq=farmacognocia+tipos+de+extractos&ots=Dd719vuXri&sig=Euj8ewhjklIvTi4hHwR_xMcuDEA#v=onepage&q=farmacognocia%20tipos%20de%20extractos&f=false

García, C., González, M., y Cortez, E. (2012). Uso de enemigos naturales y biorracionales para el control de plagas de maíz. *Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable*, *8*(3), 57-70.

https://www.uaim.edu.mx/webraximhai/Ej-25barticulosPDF/6%20GARCIA-GUTIIRREZ.pdf

GBIF. (2023). *GBIF Backbone Taxonomy Oligonychus punicae (Hirst, 1926)*. Global Biodiversity Information Facility: https://www.gbif.org/es/species/2130589

GBIF. (2023). *Global Biodiversity Information Facility*. Oligonychus yothersi (McGregor, 1914): https://www.gbif.org/occurrence/1019107877

Guerrón, A., Viera, W., y Campaña, D. (2022). Aplicación de índices vegetales (banda roja e infrarrojo cercano) en plantaciones de aguacate. *Siembra*, *9*(1), 1-12. https://doi.org/https://doi.org/10.29166/siembra.v9i1.3371

Hernández, D., Mata, M., y Vázquez, M. (2018). Extracción, análisis y efecto antimicrobiano de aceites esenciales. *Investigación en el Sistema de Educación Superior Tecnológica del Estado de Veracruz.* Veracruz: Instituto Tecnológico Superior de Xalapa. https://www.academia.edu/download/72046562/2018_INVESTIGACION_EN_EL_SISTEMA_DE_EDUCACION_SUPERIOR_TECNOLOGICA_EN_EL_ESTADO_DE_VERACRUZ_Final_1_.pdf#page=146

Hernández, E. (2017). La araña cristalina Oligonychus perseae . *Jornada El cultivo del Aguacate Cabildo de La Palma.* La Palma: Instituto Canario de Investigaciones Agrarias. http://www.canalagrariolapalma.com/pdf/Aguacate%20la%20ara%C3%B1a%20cristalina.pdf

Hernández, L., y Velásquez, Y. (2018). *Araña cristalina del aguacate. Identificación, biología, daños y control.* AgroCabildo. https://doi.org/https://www.agrocabildo.org/publica/publicaciones/subt_327_acaro.pdf

Herrera, M., y Narrea, M. (2011). *Guía Técnica "Manejo Integrado de Palto"*. Universidad Nacional Agraria la Molina. https://www.agrobanco.com.pe/pdfs/capacitacionesproductores/palto/Guia_Tecnica_de_Palto.pdf

ICA. (2009). *Manual técnico Cultivo de aguacate.* Instituto Colombiano Agropecuario. https://sioc.minagricultura.gov.co/Aguacate/Normatividad/Paquete%20Tecnologico%20Aguacate.pdf

Imbachi, K., Estrada, E., y Equihua, A. (2017). Biología de Oligonychus punicae (Hirst, 1926) (Acari:Tatranichydae) en Persea americana CV. Hass en condiciones de Laboratorio. *Memorias del V Congreso Latinoamericano del Aguacate.* Guzmán,: Instituto de Fitosanidad. Programa de Entomología y Acarología - Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. https://www.avocadosource.com/journals/memorias_vcla/2017/memorias_vcla_2017_pg_078.pdf

IRAC. (2009). *Método de prueba de susceptibilidad IRAC*. Insecticide Resistence Action Committee: https://irac-online.org/methods/panonychus-ulmi-tetranychus-species-adults/

Lagos, Y. (2023). *Estudios básicos de Neoseiulus californicus (McGregor) (Phytoseiidae) agente potencial de control de Oligonychus yothersi (McGregor) (Tetranychidae) en Persea americana Mill. variedad hass.* Tesis de Maestía en Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias . https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/83403

Lara, A. (2019). *Análisis espacial de las poblaciones de Oligonychus perseae (Tuttle, Baker y Abatiello) y Araptus schwarzi (Blackman) en el cultivo de aguacate en el Estado de México.* Tesis Doctoral, Universidad Autónoma del Estado de Mexico, Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, México. http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/105203/TESIS%20VERO.pdf?sequence=1&isAllowed=y

López, C., García, A., y Martinez, H. (2019). *Caracterización in situ morfológica y físico-química de aguacates nativos (Persea americana Mill) en dos localidades de la región Huista, Huehuetenango.* Programa Consorcios Regionales de Investigación Agropecuaria CRIA: https://www.icta.gob.gt/publicaciones/Informes%20Finales%20IICA-

CRIA%202020/18%20AGUACATE/Caracterizaci%C3%B3n-CUNOROC-CL%C3%B3pez/Caract%20Aguacate-CUNOROC.pdf

López, Y., Murcia, N., Romero, Y., y Martínez, M. (2022). Caracterización morfológica de aguacates criollos donadores de semilla de tres zonas en Colombia. *Revista Chapingo. Serie horticultura, 108*(2), 93. https://doi.org/https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2021.06.010

Luczaj, W., Gegotek, A., Bielawska, K., y Skrzydlewska, E. (2019). *Técnicas de separación y Espectrometría de Masas en Ciencias de la Vida*. Departamento de Química Analítica, Universidad Médica de Białystok: https://www.umb.edu.pl/photo/pliki/projekty_umb/aac/aaclifesci-e-materials_es.pdf

Madero, B., y Castro, C. (2019). "Comportamiento del mercado internacional sobre el consumo de aguacate", Revista Observatorio de la Economía Latinoamericana. *Observatorio de Economía Latinoamericana*, 1-5. https://www.eumed.net/rev/oel/2019/04/mercado-internacional-aguacate.html

Mariño, A. (2023). *Informe de Diagnóstico LN-E-E23-196.* Informe de Diagnóstico, AGROCALIDAD, Laboratorio de Entomología, Quito. https://drive.google.com/file/d/1_FU4EA60P6YdwrTB_U_G8M-9WvGrvsWv/view?usp=sharing

Martínez , A., y Ricaldi, J. (2014). Cromatografía de gases-espectrometría de masas de compuestos fitobioactivos del aceite esencial de Saturejaincana. *Apuntes De Ciencia & Sociedad, 4*(2), 280-287. https://doi.org/https://journals.continental.edu.pe/index.php/apuntes/article/view/246/281

McGraw, B., Koppenhöfer, A., Kostromytska, O., Wu, S., y Alm, S. (2022). Insecticidal Activity of a Petroleum-Derived Spray Oil and an Organosilicone Surfactant on Listronotus maculicollis (Kirby) Adults in Laboratory and Greenhouse Bioassays. *Insects, 13*, 1032. https://doi.org/https://doi.org/10.3390/insects13111032

Ministerio de Agricultura y Ganadería. (julio de 2022). *MAG impulsa la producción de aguacate, para desarrollar el campo de Imbabura*. https://www.agricultura.gob.ec/mag-impulsa-la-produccion-de-aguacate-para-desarrollar-el-campo-de-imbabura/#:~:text=En%20el%20pa%C3%ADs%20est%C3%A1n%20sembradas,para%20m%C3%A1s%20de%2014.400%20personas.

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación MAPA. (2021). *Guía de Gestión Integrada de Plagas para el cultivo de Aguacate.* Madrid, España: Secretaría General Técnica. https://cpage.mpr.gob.es/

Muñoz, J., y Rodriguez, A. (2014). Ácaros asociados al cultivo de aguacate (Persea americana Mill) en la Costa Central del Perú. *Agronomía Costarricense, 38*(1), 215-221. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0377-94242014000100015

NAPPO. (2014). *PD 03: Identificación morfológica de las arañas rojas (Tetranychidae) que afectan a las frutas importadas.* Ontario, Canada: Secretaría de la Organización Norteamericana de Protección a las Plantas. https://nappo.org/download_file/view/1306/747

Narrea, M., Valle, C., Quispe, R., Bascones, R., y Vila, E. (2015). Distribución poblacional de la arañita roja Oligonychus sp. (Acari:tetranychidae), sobre árboles del palto (Persea americana Miller) en Lima, Perú. *VIII Congreso Mundial de la Palta.* Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina. https://www.avocadosource.com/WAC8/Section_03/NarreaCangoM2015.pdf

Pérez, S., Ávila, G., y Coto, O. (2015). EL AGUACATERO (Persea americana MIill). *Cultivos Tropicales, 36*(2), 111-123. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193239249016

Pérez, T., Guzmán, C., Montiel, G., Paredes, R., y Rivas, G. (2014). Biodiversidad de ácaros en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad, 85*, 399-407. https://revista.ib.unam.mx/index.php/bio/article/view/1045

Quevedo, L., y Alférez, M. (2018). *Efecto de la aplicacion de extractos vegetales sobre la población de insectos plaga en el cultivo de soya (Glycine max).* Trabajo de

investigación, Universidad de los Llanos, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Villavicencio. https://repositorio.unillanos.edu.co/bitstream/handle/001/1358/EFECTO%20DE%20LA%20APLICACI%C3%93N%20DE%20EXTRACTOS%20VEGETALES%20SOBRE%20LA....pdf?sequence=3&isAllowed=y

Ramos, C. (2020). Los Alcances de una Investigación. *Ciencia América, 9*(3), 1-6. https://doi.org/http://201.159.222.118/openjournal/index.php/uti/article/view/336/621

Rees, D., Farrell, G., y Orchard, J. (2012). *Crop Post-Harvest: Science and Technology: Perishables.* Blackwell Publishing Ltd. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781444354652.ch8

Reyes, F., Heinz, R., Olazaran, F., Ordaz, S., Méndez, J., y Chacón, J. (2022). Evaluation of Ethanolic Powdered Extract of Magnolia tamaulipana Vazquez against Oligonychus punicae Hirst (Trombidiformes: Tetranychidae). *Plants, 11*, 1711. https://doi.org/https://doi.org/10.3390/plants11131711

Robles, D. (2023). *Informe de Resultados - INF. No.2023-0317-1-2.* Quito: Laboratorio de Servicios y Productos OSP de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador.

Robles, D. (2024). *Informe de Resulatdos - INF. No. 2023-0616-1-3.* Laboratorio de Servicios y Productos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador.

Rodríguez, F., y Torres, S. (2019). *Evaluación de biopesticidas comerciales para el control de ácaros de la familia Tetranychidae, una plaga de Lafoensia acuminata (Ruiz & Pav.) DC. (Myrtales: Lythraceae).* Trabajo de grado, Universidad Nacional Abierta y a Distancia - UNAD, Escuela de Ciencias Agrícolas Pecuarias y del Medio Ambiente - ECAPMA, Bogóta. https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/25442/%09fdrodriguezg.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Rodríguez, F., y Torres, S. (2019). *Evaluación de biopesticidas comerciales para el control de ácaros de la familia Tetranychidae, una plaga de Lafoensia*

acuminata (Ruiz & Pav.) DC. (Myrtales: Lythraceae). Trabajo de grado, Universidad Nacional Abierta y a Distancia - UNAD, Escuela de Ciencias Agrícolas Pecuarias y del Medio Ambiente - ECAPMA, Bogotá. https://repository.unad.edu.co/handle/10596/25442?show=full

Salinas, D., Cruz, A., Peraza, A., Valenzuela, B., Calderón, C., Sandoval, E., . . . Magallanes , M. (2021). *Manual para el establecimiento del cultivo de aguacate en la zona centro norte de Sinaloa.* CODESIN. https://doi.org/https://codesin.mx/file/4/128_Manual%20del%20Aguacate%20-%2017%2011%202021%20.pdf_1637099646.pdf

Siddiq, M., y Uebersax, M. (2018). *Handbook of Vegetables and Vegetable Processing.* John Wiley & Sons Ltd. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781119098935.ch22

Sotomayor, A., Viera, W., Viteri, P., Posso, M., Racines, M., González, A., . . . Villavicencio, A. (2019). *Manual técnico para la producción de plantas injertas de aguacate (Persea americana Mill.) de alta calidad Manual Nº 108.* INIAP. https://doi.org/https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5344

Terán, N. (2018). *Reconocimiento y control de plagas y enfermedades de mayor importancia económica en Persea americana Mill: Revisión sistemática.* Artículo de revisión, Universidad Politécnica Salesiana, Quito. https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/61842495/Art_rev_Persea_americana_Mill_Teran_Natalia20200120-4810-hkts2o-libre.pdf?1579572128=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DReconocimiento_y_control_de_plagas_y_enf.pdf&Expires=1697684790&Signatur

Torres, E., Álvarez, C., del Pino , M., Wong, M., Boyero, J., Hernández, E., y Vela, J. (2023). Economic Impact of the Persea Mite in Spanish Avocado Crops. *Agronomy*, *16*(668), 2-17. https://doi.org/https://doi.org/10.3390/agronomy13030668

Torres, E., Perera, S., Ramos, C., Álvarez, C., Carnero, A., Boyero, J., . . . Hernández, E. (2018). *Avances en el Manejo Integrado de Oligonychus Perseae Tuttle,*

Baker & Abatiello en Canarias . Instituto Canario de Investigaciones. https://doi.org/https://www.icia.es/icia/download/publicaciones/Manejo_integrado.pdf

Valderrama, J. (2014). *Eficiencia de tres tipos de detergentes (aniónicos) en el control de arañita marron oligonychus punicae (acari, tetranychidae) en palto variedad hass.* Tesis para optar por el Titulo de Ingeniero Agrónomo, Universidad privada Antenor Orrego, Facultad de Ciencias Agrarias, Trujillo. http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/20.500.12759/862/1/REP_ING.AGRON_JHONAR.VALDERRAMA_EFICIENCIA.TRES.TIPOS.DETERGENTES.ANI%c3%93NICOS.CONTROL.ARA%c3%91ITA.MARRON.OLIGONYCHUS.PUNICAE.ACARI.TETRANYCHIDA.PALTO.VARIEDAD.HASS.pdf

Van Leeuwen, T., Vontas , J., Tsagkarakou, A., Dermauw, W., y Tirry, L. (2010). Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite Tetranychus urticae and other important Acari: A review. *Insect Biochemistry and Molecular Biology, 40*, 563-572. https://doi.org/https://sci-hub.hkvisa.net/10.1016/j.ibmb.2010.05.008

7. ANEXOS

ANEXO A. Datos recopilados según el diseño del experimento.

			REPETICIONES															
			R1				R2				R3				R4			
	Tiempo		T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3
HUEVOS	0	M1	111	142	15	69	44	112	45	36	138	119	39	69	139	152	27	65
		M2	26	70	58	78	61	75	24	21	31	102	26	47	21	36	36	66
		M3	46	28	9	41	57	36	47	36	40	28	48	87	46	77	21	97
	24	M1	110	93	11	10	38	62	9	17	126	69	1	27	117	69	2	28
		M2	27	25	6	11	55	52	0	7	22	5	10	25	13	9	2	4
		M3	37	5	0	9	52	16	15	10	33	26	7	19	26	54	3	26
	48	M1	95	72	8	0	28	49	5	0	82	61	0	2	70	68	0	4
		M2	17	3	4	0	29	3	0	0	14	22	9	13	6	19	1	6
		M3	26	3	0	0	46	22	15	3	14	3	5	2	16	0	2	2
	72	M1	74	24	0	0	23	40	2	0	78	41	0	0	65	57	0	0
		M2	6	0	2	0	13	19	0	0	3	6	6	0	5	30	0	0
		M3	22	4	0	0	17	16	7	0	13	4	7	0	2	0	0	0
NINFAS	0	M1	20	33	15	10	16	45	16	3	29	22	8	6	25	12	17	13
		M2	8	17	14	30	13	3	3	10	6	12	14	14	14	9	10	17
		M3	19	1	9	17	15	13	11	10	26	28	10	22	7	11	11	40
	24	M1	12	12	10	0	11	30	2	0	24	17	0	0	19	10	0	0
		M2	19	16	0	0	19	2	1	0	6	5	0	0	12	1	0	0
		M3	17	0	1	2	14	6	7	0	18	2	0	0	10	9	4	0
	48	M1	8	9	0	0	12	36	2	0	22	22	0	0	51	18	0	0
		M2	14	0	0	0	29	0	1	0	2	0	0	0	14	0	0	0
		M3	26	0	0	0	9	3	2	0	19	0	0	0	10	0	1	0
	72	M1	17	14	0	0	3	18	0	0	5	18	0	0	3	10	0	0
		M2	10	0	0	0	35	0	0	0	3	0	0	0	29	0	0	0
		M3	21	0	0	0	16	0	4	0	19	0	0	0	1	0	0	0
ADULTOS	0	M1	13	27	26	26	17	39	41	13	17	37	53	22	31	25	37	25
		M2	26	19	13	16	30	20	14	12	52	21	24	10	37	10	20	19
		M3	38	3	16	17	44	5	30	13	22	10	17	20	37	9	14	45
	24	M1	11	26	10	0	18	34	6	8	17	33	0	2	24	13	0	14
		M2	29	19	0	8	31	24	1	0	43	9	0	2	51	3	0	0
		M3	44	0	4	5	46	4	5	0	26	7	1	10	26	5	2	5
	48	M1	21	29	6	0	18	41	1	0	21	29	0	0	26	10	1	9
		M2	37	1	0	0	25	2	2	0	46	16	0	0	38	4	0	0
		M3	51	0	0	0	42	3	5	0	22	4	0	0	7	0	1	0
	72	M1	64	28	9	0	20	52	5	0	4	29	0	0	24	9	0	0
		M2	41	0	0	0	46	7	0	0	25	0	2	0	36	0	0	0
		M3	40	2	0	0	32	5	5	0	23	4	1	0	4	0	0	0

ANEXO B. Informe Laboratorio de Entomología Agrocalidad.

AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA Vía Interoceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del MAGAP, Tumbaco - Quito Teléf.: 02-3828-860 ext. 2050	PGT/E/09-FO01
		Rev. 7
	INFORME DE DIAGNÓSTICO	Hoja 1 de 1

Informe N°: LN-E-E23-196
Fecha emisión Informe: 14/08/2023

DATOS DEL CLIENTE

Persona o Empresa solicitante[1]: Mauro Muñoz
Dirección[1]: Barrio Chinangachi
Persona de contacto[1]: No informa
Teléfono[1]: 0995508436
Correo Electrónico[1]: mdmc1992@gmail.com
Provincia[1]: Pichincha **Cantón[1]:** Quito **Parroquia[1]:** Yaruquí
N° Factura/Documento: 026-19278
N° Orden de Trabajo: E-23-CGLS-01148

DATOS DE LA MUESTRA:

Tipo de muestra[1]: Material Vegetal	**Conservación de la muestra[1]:** Natural	
Hospedero[1]: Aguacate	**Variedad[1]:** Criollo	
	Órgano afectado[1]: Hojas	
	Estado Fenológico[1]: Desarrollo Vegetativo	
	Edad[1]: 2 años	
Actividad de origen[1]: Privado		
País[1]: Ecuador		
Provincia[1]: Pichincha	**Coordenadas[1]:**	**X:** No informa
Cantón[1]: Quito		**Y:** No informa
Parroquia[1]: Yaruquí		**Altitud:** No informa
Responsable de toma de muestra[1]: Mauro Muñoz		
Fecha de toma de muestra[1]: 03/08/2023	**Fecha de inicio del análisis:** 04/08/2023	
Fecha de recepción de la muestra: 04/08/2023	**Fecha de finalización del análisis:** 14/08/2023	

PRODUCTO PARA EXPORTACIÓN/ IMPORTACIÓN:

País de Destino[1]: No informa	**País de Origen[1]:** No informa
Peso[1]: No informa	**Lote/buque[1]:** No informa
Marca[1]: No informa	**Permiso Fitosanitario[1]:** No informa

RESULTADOS DEL ANÁLISIS

Método: PEE/E/02 Observación directa al estéreo microscópio y uso de claves taxonómicas.

CÓDIGO DE LABORATORIO	CÓDIGO DE CAMPO	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	NOMBRE COMÚN
E-23-1227	Desarrollo hojas aguacate	Arachnida	Trombidiformes	Tetranychidae	*Oligonychus*	*Oligonychus perseae*	Ácaros
				Phytoseiidae	*Euseius*	*Euseius* sp.	
				Tydeidae	*Tydeus*	*Tydeus* sp.	

Analizado por: Dra. Elsa Liliana Melo
Observaciones: Los resultados se aplican a la muestra cómo se recibió.
Revisado por: Ing. Adriana Mariño
Anexo Gráficos:

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha.
Está prohibida la reproducción total o parcial de este informe sin autorización del Laboratorio.
[1] Datos suministrados por el cliente: El laboratorio no se responsabiliza por esta información.

AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA Vía Interoceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del MAGAP, Tumbaco - Quito Teléf.: 02-3828-860 ext. 2050	PGT/E/09-FO01
		Rev. 7
	INFORME DE DIAGNÓSTICO	Hoja 1 de 1

Figura 1. *Oligonychus perseae* – Adultos y huevos en hoja de aguacate

Figura 2. *Euseius sp.* – Hembra y macho en placa

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha.
Está prohibida la reproducción total o parcial de este informe sin autorización del Laboratorio.
[1] Datos suministrados por el cliente: El laboratorio no se responsabiliza por esta información.

Figura 3. *Tydeus* sp. – En placa

Anexo Documentos: No aplica

ADRIANA DEL CONSUELO MARIÑO FRIAS

Ing. Adriana del Consuelo Mariño Frias
Responsable Técnico,
Laboratorio de Referencia Nacional
Entomología y Malacología

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha.
Está prohibida la reproducción total o parcial de este informe sin autorización del Laboratorio.
[1] Datos suministrados por el cliente: El laboratorio no se responsabiliza por esta información.

ANEXO C. Protocolo de ensayo

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI	PROTOCOLO DE ENSAYOS

PRODUCTO/S EVALUADO/S: ACARICIDA ORGÁNICO
ACCIÓN: Acaricida Orgánico (ácaros aguacate)
CULTIVO: Aguacate.

TITULO	Prueba de eficacia de acción acaricida (acaro en aguacate)
OBJETIVO	• Verificar la eficacia de acción acaricida del bioinsumo a base de extracto vegetal (Verbenaceae Essential Oil), en hojas de plantas de aguacate. • Verificar eficacia de acción adulticida, ninficida y ovicida del bioinsumo a base de extracto vegetal (Verbenaceae Essential Oil), en hojas de plantas de aguacate.
UBICACIÓN DEL ENSAYO	Quito – Carcelen
TIPO DE CULTIVO	CONVENCIONAL X ORGÁNICO ☐ OTROS ☐
TIPO DE APLICACIÓN/CONDICIONES DE APLICACIÓN	ÁREA ☐ TERRESTRE X OTROS ☐(especifique): _____ Condiciones adicionales: _____
ESCALA DE APLICACIÓN	COMERCIAL☐ SEMI-COMERCIAL X PARCELA ☐ DEMOSTRATIVA ☐ Otra (especifique): Experimental de prueba
DATOS AGROMETEOROLÓGICOS	• Precipitación: No aplica • Temperatura: Ambiente • Altitud: No aplica • Zona de vida: Muestras de hojas con incidencia de ácaros tomado de la zona de Pichincha, Quito, Yaruquí. • Otros: No aplica
CARACTERIZACIÓN DEL CULTIVO	• Verificar el estado inicial de la infestación por ácaros, definir la plaga de ácaros principal. • Verificar el estado de cualquier otra plaga o problema sobre las hojas muestra que pueden afectar la percepción en la toma de datos.
CARACTERÍSTICAS DE PRODUCTOS A EVALUAR	Bioinsumo a base de extracto vegetal (Verbenaceae Essential Oil)**:** Anexo BT del producto en desarrollo.
CRONOGRAMA	Realizar al menos 1 aplicaciones simulando condiciones de aplicación en campo con total cobertura.

Actividad	# días DDA*	Observaciones
1ra Evaluación + Aplicación	0	Instalación ensayo, identificación, marcación, verificación de incidencia.
2da Evaluación	1	Identificación, marcación, verificación de incidencia.
3ra Evaluación	3	Identificación, marcación, verificación de incidencia.

*DDA: Días después de la aplicación

CONDICIONES DEL ENSAYO

El ensayo de eficacia se puede realizar determinado un porcentaje de control de los individuos (ácaros), a distintas dosis, vs un tratamiento un blanco absoluto, con lo cual puede seguir el siguiente esquema de tratamientos.

Factor y niveles establecidos para la prueba de eficacia acaricida

Factor	Niveles	Dosis mL/L	CODIFICACIÓN
Concentración	Testigo	0,0	ACALI-0
	Baja	1,0	ACALI-1

	Media 2,0 ACALI-2 Alta 3,0 ACALI-3 **Codificación de tratamientos** **Tratamiento / Descripción / Dosis (cc/L)** T0 ACALI-0 0,0 T1 ACALI-1 1,0 T2 ACALI-2 2,0 T3 ALCALI-3 3,0 *Condiciones de mezcla: debe ser usado sin coadyuvantes.* *Se realizará las soluciones o mezclas en agua destilada.*
EVALUACIÓN EFICACIA	- ***Método para evaluación de ensayos de eficacia con acaricidas*** Se aplica el conteo directo del organismo al inicio de la prueba y conteos posteriores permiten valorar el efecto de control en el tiempo. Se establece un contraste con un testigo absoluto sin tratar para establecer la real reducción de la población de la plaga. El conteo se puede realizar sobre adultos, inmaduros, posturas, dependiendo del tipo de acaricida o del estadio más relevante. El análisis estadístico estará basado en el número de individuos encontrados y la variación de la población en el tiempo. Para realizar este método se requiera la identificación del género y especie de la plaga a controlar, con el respectivo reconocimiento taxonómico. (Fernández et al., 2010). Las variables a evaluar son: Mortalidad de adultos, huevos y ninfas **Mortalidad de adultos y ninfas:** conteo de individuos con movilidad. **Mortalidad de huevos:** conteo de huevos de color cristalino brillante, lo cual es un indicador de viabilidad. (Rodríguez y Torres, 2019) **Variables adicionales para considerar:** • Estado de las hojas • Numero de hojas • Mojado de follaje • Estadio de la plaga (huevos, ninfas, adultos de forma general)
DISEÑO DEL EXPERIMENTO	Se realizarán 4 repeticiones por tratamiento, se aleatorizará en bloques. **Codificación de tratamientos y repeticiones.** BLOQUE 1 - REPETICIÓN 1 **Tratamiento / Descripción / Unidad experimental / Unidad de muestreo** T0 ACALI-0 1 3 T1 ACALI-1 2 3 T2 ACALI-2 3 3 T3 ACALI-4 4 3 BLOQUE 2 - REPETICIÓN 2 **Tratamiento / Descripción / Unidad experimental / Unidad de muestreo** T0 ACALI-0 5 3 T1 ACALI-1 6 3 T2 ACALI-2 7 3 T3 ACALI-4 8 3

BLOQUE 3 - REPETICIÓN 3

Tratamiento	Descripción	Unidad experimental	Unidad de muestreo
T0	ACALI-0	9	3
T1	ACALI-1	10	3
T2	ACALI-2	11	3
T3	ACALI-4	12	3

BLOQUE 4 - REPETICIÓN 4

Tratamiento	Descripción	Unidad experimental	Unidad de muestreo
T0	ACALI-0	13	3
T1	ACALI-1	14	3
T2	ACALI-2	15	3
T3	ACALI-4	16	3

Nota: Las unidades de muestreo corresponden a las hojas usadas por unidad experimental.

SUSTANCIAS MATERIALES Y EQUIPOS UTILIZADOS

- Agua
- **Bioinsumo a base de extracto vegetal (Verbenaceae Essential Oil)**
- Marcador
- Etiquetas
- Cajas Petri
- Atomizador
- Papel filtro
- Agua destilada
- Balones aforados
- Balanza analítica.
- Hojas de aguacate con ácaros.
- Micropipetas
- Papel hidro sensible
- Guantes
- Vasos de precipitación
- Fundas ziploc
- Pinzas pipetas de plástico
- Lupa de exploración entomológica
- Estereomicroscopio
- Marcador
- Papel secante
- Pincel de punta

PROCEDIMIENTO

Recolección de muestra:

- De árboles donde se tomó la muestra para identificación taxonómica de la plaga tomar hojas con muestra de la incidencia de ácaros, usar la lupa de exploración entomológica si es necesario. (hojas con pecas visibles en el envés)
- Cortar hojas desde el peciolo y colocarlo en fundas ziploc en las cuales previamente se haya colocado algodón humedecido.
- Usar las hojas recién cortadas para las evaluaciones
- Tomar una hoja y con la lupa de exploración entomológica realizar el conteo de huevos, ninfas y adultos.
- Usar las hojas que al menos tengan 10 individuos vivos y huevos.

	• Asignar cada a cada tratamiento al menos 3 hojas y colocar sobre una caja Petri con algodón previamente mojado. • Para los tratamientos, preparar soluciones a las concentraciones dadas en balones aforados. • Tomar en un atomizador las soluciones preparadas y atomizar sobre las hojas asegurando un mojado completo. Usar como indicador un trozo de papel hidro sensible junto a la hoja. • Cerrar la caja Petri y mantener las cajas a una temperatura no inferior a los 15 grados centígrados • Para las evaluaciones contar los individuos adultos y ninfas móviles y los huevos viables con ayuda del estereomicroscopio o la lupa. • Realizar la primera evaluación pasada las 3 hojas después de la aplicación • Realizar la segunda evaluación a las 24 horas DDA • Realizar la segunda evaluación a las 48 horas DDA • Realizar la segunda evaluación a las 72 horas DDA • Realizar el mismo procedimiento con el blanco absoluto. • Recolectar los datos para su análisis.
INFORMACIÓN TÉCNICA ADICIONAL DEL PRODUCTO	• Boletín Técnico Bioinsumo a base de extracto vegetal (Verbenaceae Essential Oil)
RECOMENDACIONES ADICIONALES	• Asegurar el completo cubrimiento del follaje en todos los tratamientos con las mezclas preparadas.

Anexos.

- No aplica.

Elaborado por:	Revisado y Aprobado por:
Mauro Muñoz Fecha: 2023-09-11	Ing. Emerson Jácome Fecha: 2023-09-11

ANEXO D. Certificado de análisis del estándar analístico de timol

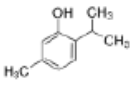
Sigma-Aldrich.

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA
Website: www.sigmaaldrich.com
Email USA: techserv@sial.com
Outside USA: eurtechserv@sial.com

Certificate of Analysis

Product Name:
Thymol - ≥98.5%

Product Number:	**T0501**
Batch Number:	**SLCK1317**
Brand:	SIGMA
CAS Number:	89-83-8
MDL Number:	MFCD00002309
Formula:	C10H14O
Formula Weight:	150.22 g/mol
Quality Release Date:	16 DEC 2021
Recommended Retest Date:	MAY 2024



Test	Specification	Result
Appearance (Color)	Colorless to White	White
Appearance (Form)	Powder or Crystals	Powder
Solubility (Color)	Colorless	Colorless
Solubility (Turbidity) 50 mg/ml, EtOH	Clear	Clear
1H NMR Spectrum	Conforms to Structure	Conforms
Purity (HPLC)	≥ 98.5 %	99.9 %

Brian Dulle, Supervisor
Quality Assurance
St. Louis, Missouri US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

ANEXO E. Informe de resultados del extracto puro comercial

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

ÁREA DE QUÍMICA FARMACEÚTICA
INFORME DE RESULTADOS

INF. No.2023-0317-1-1

SOLICITADO POR:[3]	GLOBAL I-TECH GLOBALI-TECH CIA LTDA
DIRECCIÓN DEL CLIENTE: [3]	PICHINCHA/QUITO/COTOCOLLAO/Av. ELOY ALFARO E4-62 Y CALLE N74-C
MUESTRA DE: [3]	ACEITE ESENCIAL
DESCRIPCIÓN: [3]	ACEITE ESENCIAL 1
LOTE: [3]	LSE99%20220817
FECHA DE ELABORACIÓN: [3]	--------
FECHA DE VENCIMIENTO: [3]	--------
FECHA DE RECEPCIÓN:	27/06/2023/2023
HORA DE RECEPCIÓN:	14:30
FECHA DE ANALISIS:	DEL 28/06 AL 10/07/2023
FECHA DE EMISIÓN DEL INFORME	11/07/2023
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	CARACTERÍSTICO
OLOR:	CARACTERÍSTICO
ESTADO:	SÓLIDO
CONTENIDO:	25 ml
OBSERVACIONES:	LOS RESULTADOS QUE CONSTAN EN EL PRESENTE INFORME SE REFIEREN A LA MUESTRA ENTREGADA POR EL CLIENTE AL OSP.
MUESTREADO POR:	EL CLIENTE

INFORME

PARAMETROS (PERFIL CROMATOGRÁFICO)	UNIDAD	RESULTADO	METODO
TIMOL	%	23.33	CROMATOGRAFÍA GASES-MASAS

3: DATOS PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE Y DE SU RESPONSABILIDAD.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

ÁREA DE QUÍMICA FARMACEÚTICA
INFORME DE RESULTADOS

INF. No.2023-0317-1-2

SOLICITADO POR:[3]	GLOBAL I-TECH GLOBALI-TECH CIA LTDA
DIRECCIÓN DEL CLIENTE: [3]	PICHINCHA/QUITO/COTOCOLLAO/Av. ELOY ALFARO E4-62 Y CALLE N74-C
MUESTRA DE: [3]	ACEITE ESENCIAL
DESCRIPCIÓN: [3]	ACEITE ESENCIAL 2
LOTE: [3]	LSE99%20230217
FECHA DE ELABORACIÓN: [3]	-------
FECHA DE VENCIMIENTO: [3]	-------
FECHA DE RECEPCIÓN:	27/06/2023/2023
HORA DE RECEPCIÓN:	14:30
FECHA DE ANÁLISIS:	DEL 28/06 AL 10/07/2023
FECHA DE EMISIÓN DEL INFORME	11/07/2023
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	CARACTERÍSTICO
OLOR:	CARACTERÍSTICO
ESTADO:	SÓLIDO
CONTENIDO:	25 ml
OBSERVACIONES:	LOS RESULTADOS QUE CONSTAN EN EL PRESENTE INFORME SE REFIEREN A LA MUESTRA ENTREGADA POR EL CLIENTE AL OSP.
MUESTREADO POR:	EL CLIENTE

INFORME

PARÁMETROS (PERFIL CROMATOGRÁFICO)	UNIDAD	RESULTADO	METODO
TIMOL	%	25.85	CROMATOGRAFÍA GASES-MASAS

3: DATOS PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE Y DE SU RESPONSABILIDAD.

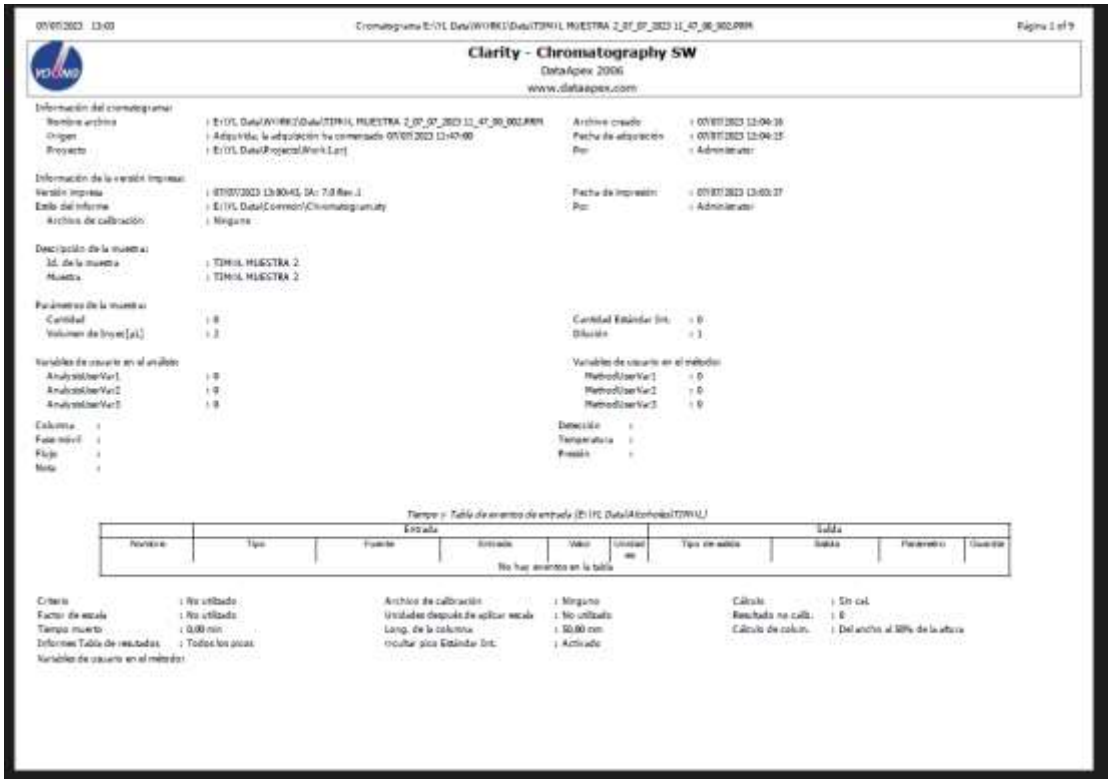
DARWIN CRISTOBAL ROLDAN ROBLES

B.F. DARWIN ROLDÁN ROBLES – MSc.
RESPONSABLE AREA QUÍMICA FARMACEÚTICA

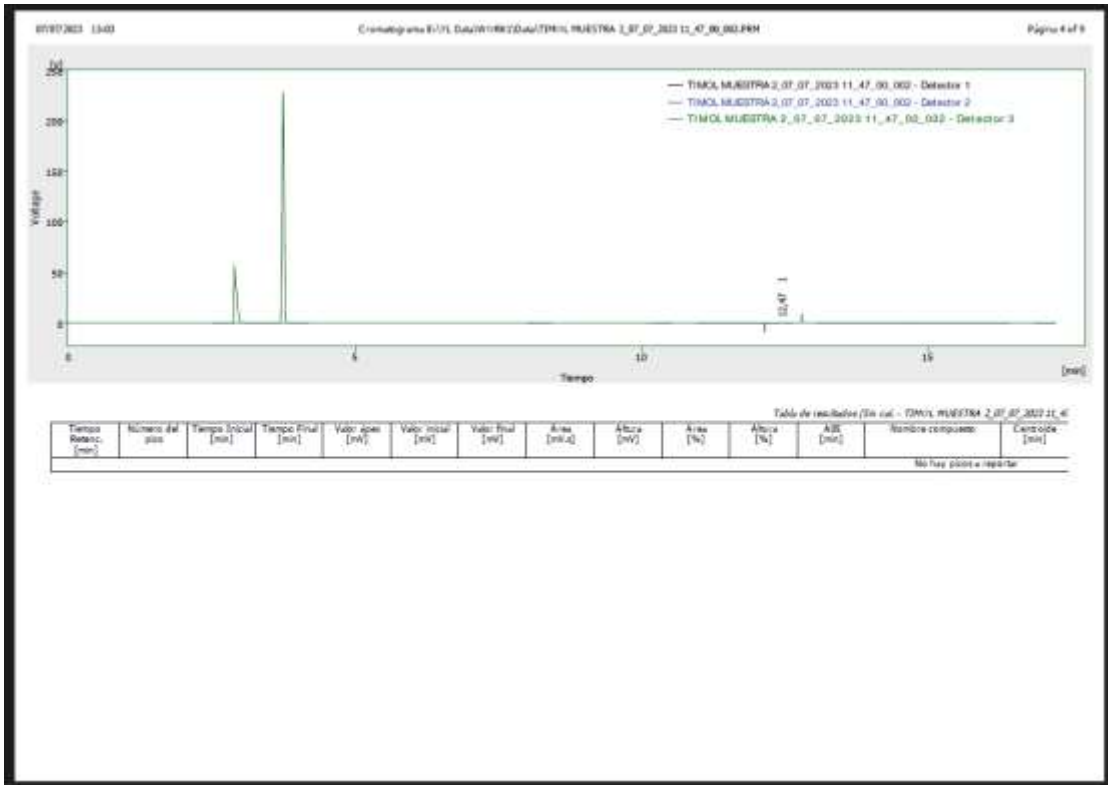
R-GO-01-17

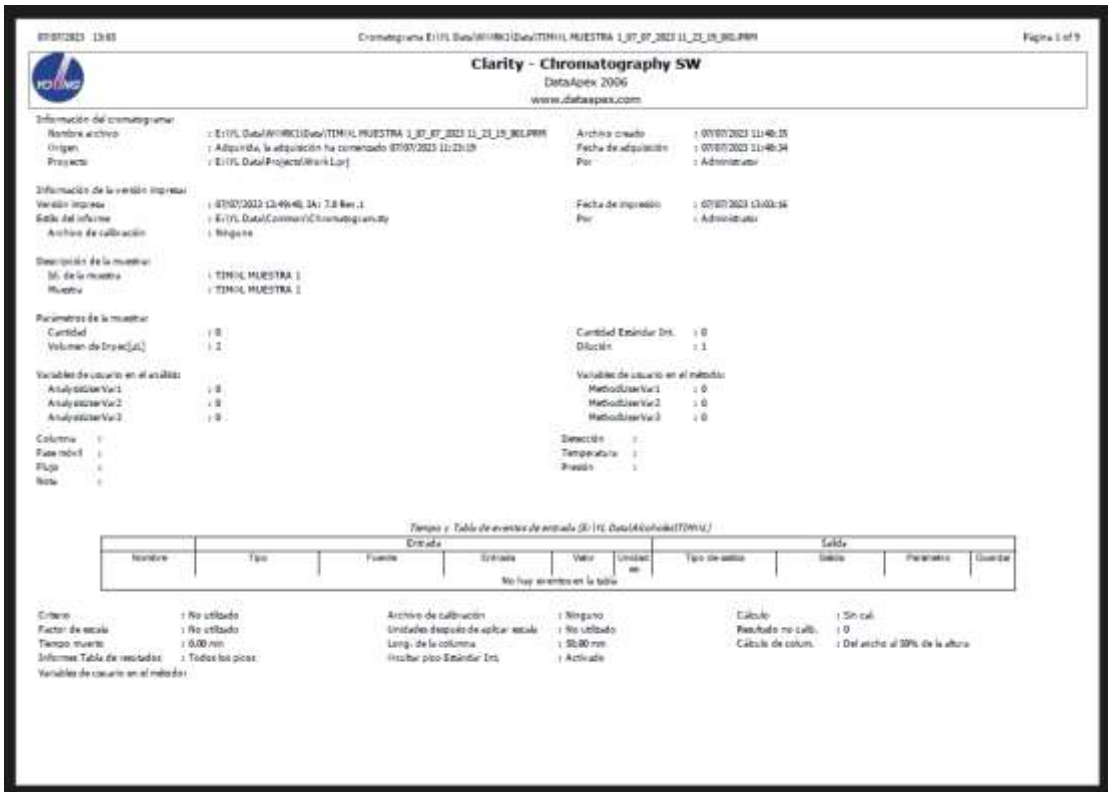
Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gatto Sobral- Teléfonos: 2502-262 / 2502-456, ext. 15,18,21,31,33
Teléfono: 3216740 - E-mail: fcq.osp@uce.edu.ec

ANEXO F. Picos cromatográficos de muestras de extracto vegetal.



Clarity - Chromatography SW
DataApex 2006
www.dataapex.com





07/07/2023 13:03 Cromatograma E:\YL Data\WORK1\Data\TIMOL MUESTRA 1_07_07_2023 11_23_19_001.PRM Página 1 of 9

Clarity - Chromatography SW
DataApex 2006
www.dataapex.com

Información del cromatograma:
Nombre archivo : E:\YL Data\WORK1\Data\TIMOL MUESTRA 1_07_07_2023 11_23_19_001.PRM
Origen : Adquirida, la adquisición ha comenzado 07/07/2023 11:23:19
Proyecto : E:\YL Data\Project\Work1.qtr
Archivo creado : 07/07/2023 11:48:35
Fecha de adquisición : 07/07/2023 11:48:34
Por : Administrator

Información de la versión impresa:
Versión impresa : 07/07/2023 13:49:48, 3A+ 7.8 Rev.1
Estilo del informe : E:\YL Data\Common\Chromatogram.sty
Archivo de calibración : Ninguno
Fecha de impresión : 07/07/2023 13:03:16
Por : Administrator

Descripción de la muestra:
Id. de la muestra : TIMOL MUESTRA 1
Muestra : TIMOL MUESTRA 1

Parámetros de la muestra:
Cantidad : 0
Volumen de Inyec[uL] : 2
Cantidad Estándar Int. : 0
Dilución : 1

Variables de usuario en el análisis:
AnalysisUserVar1 : 0
AnalysisUserVar2 : 0
AnalysisUserVar3 : 0

Variables de usuario en el método:
MethodUserVar1 : 0
MethodUserVar2 : 0
MethodUserVar3 : 0

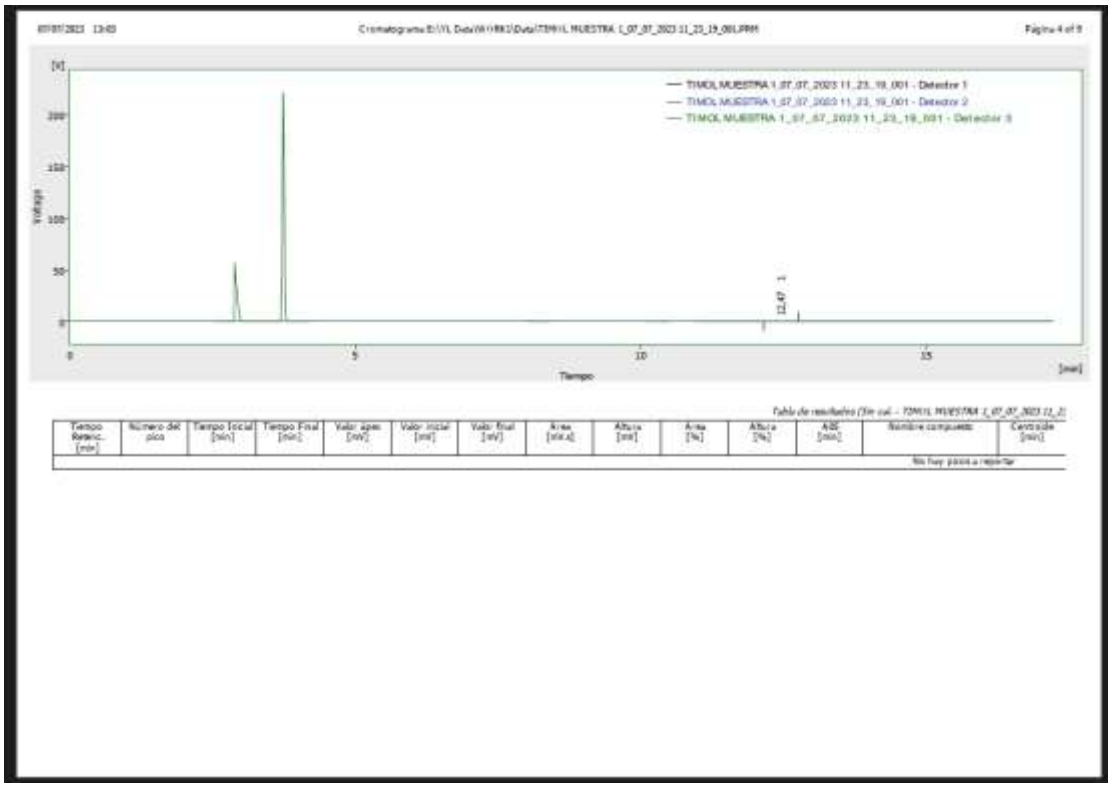
Columna :
Fase móvil :
Flujo :
Nota :
Detección :
Temperatura :
Presión :

Tiempo y Tabla de eventos de entrada (E:\YL Data\Advanced\TIMOL)

Entrada						Salida			
Nombre	Tipo	Fuente	Entrada	Valor	Unidades	Tipo de salida	Salida	Parámetro	Guardar
No hay eventos en la tabla									

Criterio : No utilizado
Factor de escala : No utilizado
Tiempo muerto : 0,00 min
Informes Tabla de resultados : Todos los picos
Archivo de calibración : Ninguno
Unidades después de aplicar escala : No utilizado
Long. de la columna : 50,00 mm
Ocultar pico Estándar Int. : Activado
Cálculo : Sin cal.
Resultado no calib. : 0
Cálculo de colum. : Del ancho al 50% de la altura

Variables de usuario en el método:



07/07/2023 13:03 Cromatograma E:\YL Data\WORK1\Data\TIMOL MUESTRA 1_07_07_2023 11_23_19_001.PRM Página 4 of 9

Tabla de resultados (Sin cal. - TIMOL MUESTRA 1_07_07_2023 11_2)

Tiempo Retenc. [min]	Número del pico	Tiempo Inicial [min]	Tiempo Final [min]	Valor apex [mV]	Valor inicial [mV]	Valor final [mV]	Área [mV.s]	Altura [mV]	Área [%]	Altura [%]	ASE [min]	Nombre compuesto	Centroide [min]
No hay picos a reportar													

ANEXO G. Informe de resultados activo en el Bioinsumo acaricida.

INFORME DE RESULTADOS
ÁREA QUÍMICA FARMACEÚTICA

INF. No. 2023-0616-1-3

SOLICITADO POR[3]:	GLOBALCHEM QUÍMICOS INDUSTRIALES Y AGRÍCOLAS CIA LTDA		
DIRECCIÓN DEL CLIENTE[3]:	PICHINCHA/QUITO/COTOCOLLAO/CALLE N74C E4-62 Y AVENIDA ELOY ALFARO		
MUESTRA DE[3]:	[=]ODUCTO QUÍMICO		
DESCRIPCIÓN[3]:	BLOCK MIT CIDT 120-231030-00		
LOTE: [3]	-------		
FECHA DE ELABORACIÓN: [3]	------	FECHA DE VENCIMIENTO: [3]	--------
FECHA DE RECEPCIÓN:	05/01/2024	HORA DE RECEPCIÓN:	12:21
FECHA DE ANÁLISIS:	DEL 09 AL 19/01/2024		
FECHA DE EMISIÓN DEL INFORME:	22/01/2024		
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA			
COLOR:	CARACTERÍSTICO	OLOR:	CARACTERÍSTICO
ESTADO:	LÍQUIDO	CONTENIDO:	30 ml
OBSERVACIONES:	Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP		
MUESTREADO POR:	EL CLIENTE		

RESULTADOS

PARÁMETROS (PERFIL CROMATOGRÁFICO)	UNIDAD	RESULTADO	METODO
CONTENIDO DE TIMOL	g/l	13.7	CROMATOGRAFÍA DE GAS

3: Datos proporcionados por el cliente y de su responsabilidad.

INFORME DE RESULTADOS
ÁREA QUÍMICA FARMACEÚTICA

INF. No. 2023-0616-1-2

SOLICITADO POR[3]:	GLOBALCHEM QUÍMICOS INDUSTRIALES Y AGRÍCOLAS CIA LTDA		
DIRECCIÓN DEL CLIENTE[3]:	PICHINCHA /QUITO/COTOCOLLAO/CALLE N74C E4-62 Y AVENIDA ELOY ALFARO		
MUESTRA DE[3]:	[=]ODUCTO [=]UÍMICO		
DESCRIPCIÓN[3]:	BLOCK MIT CIDT55 230727-00		
LOTE: [3]	-------		
FECHA DE ELABORACIÓN: [3]	------	FECHA DE VENCIMIENTO: [3]	--------
FECHA DE RECEPCIÓN:	05/01/2024	HORA DE RECEPCIÓN:	12:21
FECHA DE ANÁLISIS:	DEL 09 AL 19/01/2024		
FECHA DE EMISIÓN DEL INFORME:	22/01/2024		
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA			
COLOR:	CARACTERÍSTICO	OLOR:	CARACTERÍSTICO
ESTADO:	LÍQUIDO	CONTENIDO:	30 ml
OBSERVACIONES:	Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP		
MUESTREADO POR:	EL CLIENTE		

RESULTADOS

PARÁMETROS (PERFIL CROMATOGRÁFICO)	UNIDAD	RESULTADO	METODO
CONTENIDO DE TIMOL	g/l	13.0	CROMATOGRAFÍA DE GAS

3: Datos proporcionados por el cliente y de su responsabilidad.

INFORME DE RESULTADOS
ÁREA QUÍMICA FARMACEÚTICA

INF. No. 2023-0616-1-1

SOLICITADO POR[3]:	GLOBALCHEM QUÍMICOS INDUSTRIALES Y AGRÍCOLAS CIA LTDA		
DIRECCIÓN DEL CLIENTE[3]:	PICHINCHA /QUITO/COTOCOLLAO/CALLE N74C E4-62 Y AVENIDA ELOY ALFARO		
MUESTRA DE[3]:	ODUCTO QUIMICO		
DESCRIPCIÓN[3]:	BLOCK MIT CIDT36-230516-00		
LOTE: [3]	-------		
FECHA DE ELABORACIÓN: [3]	------	FECHA DE VENCIMIENTO: [3]	--------
FECHA DE RECEPCIÓN:	05/01/2024	HORA DE RECEPCIÓN:	12:21
FECHA DE ANÁLISIS:	DEL 09 AL 19/01/2024		
FECHA DE EMISIÓN DEL INFORME:	22/01/2024		
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA			
COLOR:	CARACTERÍSTICO	OLOR:	CARACTERÍSTICO
ESTADO:	LÍQUIDO	CONTENIDO:	30 ml
OBSERVACIONES:	Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP		
MUESTREADO POR:	EL CLIENTE		

RESULTADOS

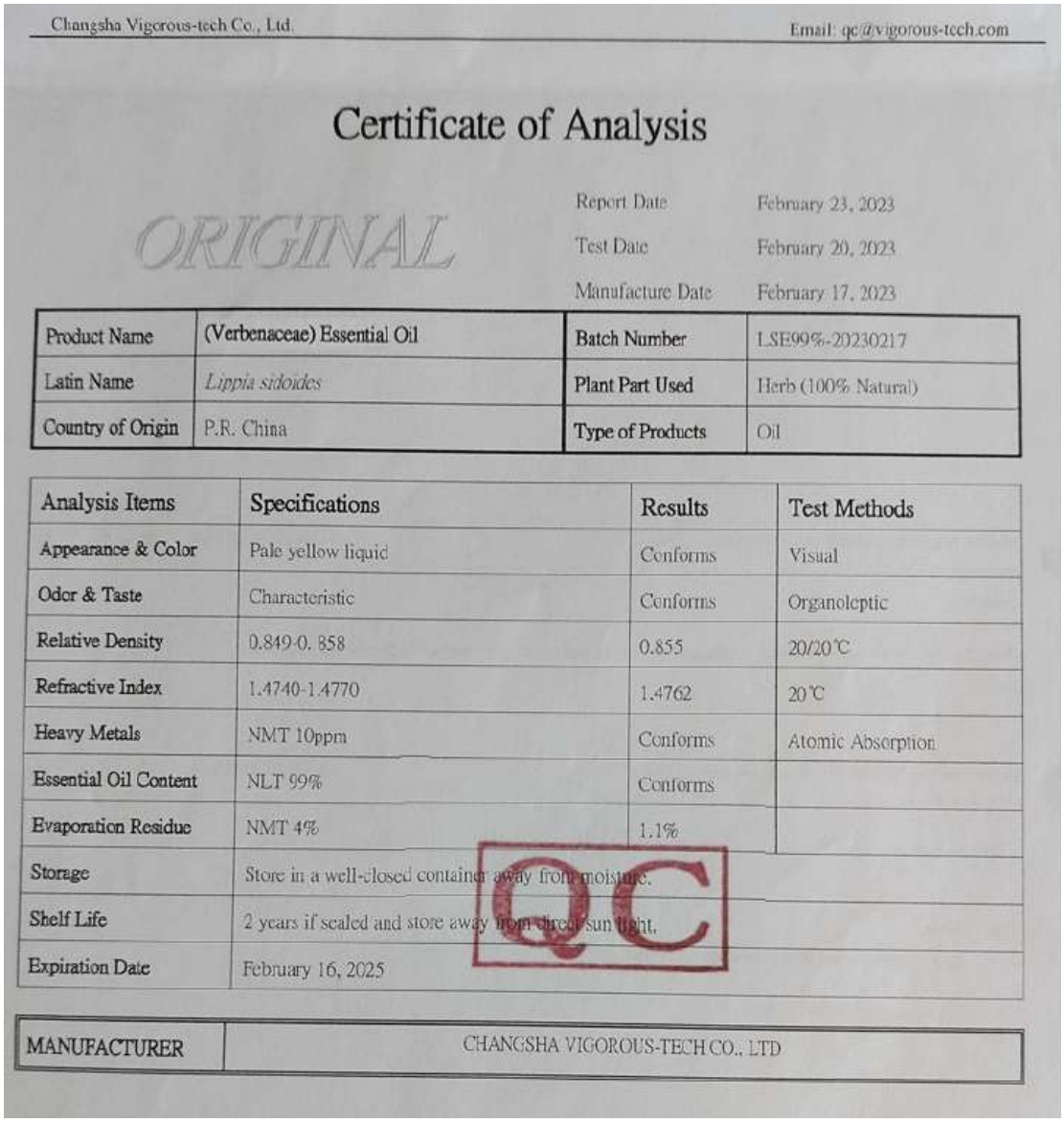
PARÁMETROS (PERFIL CROMATOGRÁFICO)	UNIDAD	RESULTADO	METODO
CONTENIDO DE TIMOL	g/l	12.9	CROMATOGRAFIA DE GAS

3: Datos proporcionados por el cliente y de su responsabilidad.

DARWIN CRISTOBAL ROLDAN ROBLES

B.F. DARWIN ROLDÁN ROBLES MSc.
RESPONSABLE DE ÁREA

ANEXO H. Certificado de análisis del extracto comercial usado.



Changsha Vigorous-tech Co., Ltd. Email: qc@vigorous-tech.com

Certificate of Analysis

ORIGINAL

Report Date February 23, 2023
Test Date February 20, 2023
Manufacture Date February 17, 2023

Product Name	(Verbenaceae) Essential Oil	Batch Number	LSE99%-20230217
Latin Name	*Lippia sidoides*	Plant Part Used	Herb (100% Natural)
Country of Origin	P.R. China	Type of Products	Oil

Analysis Items	Specifications	Results	Test Methods
Appearance & Color	Pale yellow liquid	Conforms	Visual
Odor & Taste	Characteristic	Conforms	Organoleptic
Relative Density	0.849-0. 858	0.855	20/20℃
Refractive Index	1.4740-1.4770	1.4762	20℃
Heavy Metals	NMT 10ppm	Conforms	Atomic Absorption
Essential Oil Content	NLT 99%	Conforms	
Evaporation Residue	NMT 4%	1.1%	
Storage	Store in a well-closed container away from moisture.		
Shelf Life	2 years if sealed and store away from direct sun light.		
Expiration Date	February 16, 2025		

QC

MANUFACTURER	CHANGSHA VIGOROUS-TECH CO., LTD