

**UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA  
ESCUELA DE POSTGRADO  
MAESTRIA EN QUIMICA DEL MEDIO AMBIENTE**



**“DETERMINACION DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO  
ACUOSO DE SEMILLAS DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) SOBRE  
*Thrips tabaci Lindeman* (Trips) EN CULTIVOS DE CEBOLLA”.**

**Tesis presentada por la Bachiller:  
CARMEN FABIOLA AÑAMURO MAMANI**

**Para optar el grado académico de:  
Maestro en Química del Medio Ambiente**

**Asesor:  
Dr. Gonzalo Hermilio Dávila Del Carpio**

**AREQUIPA – PERU**

**2016**

## AGRADECIMIENTOS

*Agradezco en especial a Fondecyt –CONCYTEC, con el Convenio N° 016-2013, por el apoyo y la culminación del presente trabajo de investigación.*

*A la Escuela de Postgrado de la Universidad Católica de Santa María.*

*A los señores jurados por su valiosa colaboración y asesoramiento en la dirección de la presente tesis.*

*A la Ing. Judith Cuadros y empresa Farmex por las opiniones en la realización de este trabajo.*

*A todas las personas que colaboraron de cualquier manera para la culminación de este trabajo de investigación.*

## INDICE

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCION .....	1
CAPITULO I.....	14
PLANTEAMIENTO TEORICO.....	14
1.1 PROBLEMA DE LA INVESTIGACION .....	15
1.1.1 ENUNCIADO DEL PROBLEMA.....	15
1.1.2 DESCRIPCION DEL PROBLEMA .....	15
1.1.3 AREA DE INVESTIGACION.....	15
1.1.4 ANALISIS DE VARIABLES .....	15
1.1.5 TIPO DE INVESTIGACION.....	16
1.1.6 NIVEL DE INVESTIGACION.....	16
1.1.7 JUSTIFICACION DEL PROBLEMA .....	16
1.2 ANALISIS DE ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS .....	17
1.3 .....	OBJETIVOS
.....	21
1.3.1OBJETIVO GENERAL .....	21
1.3.2OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	22
1.4.....	HIPOTESIS
.....	22
<b>CAPITULO II .....</b>	<b>23</b>
<b>PLANTEAMIENTO OPERACIONAL .....</b>	<b>23</b>
2.....	INSTRUMENTOS , TECNICAS Y CAMPO DE VERIFICACION
.....	24
2.1 INSTRUMENTOS DE LABORATORIO, REACTIVOS Y EQUIPOS .....	24
2.1.1 REACTIVOS .....	24
2.1.2 MATERIAL DE LABORATORIO .....	24
2.1.3 EQUIPOS.....	25
2.1.4 OTROS.....	26
2.2 TECNICAS .....	26
2.2.1 SELECCIÓN DEL MATERIAL BIOCIDA .....	26

2.2.2	OBTENCION DEL EXTRACTO DE <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi).....	26
2.2.3	IDENTIFICACION Y CUANTIFICACION DE LOS ALCALOIDES PRESENTES EN EL EXTRACTO DE <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi) .....	27
a)	Prueba cualitativa .....	27
b)	Cuantificación de alcaloides totales .....	27
c)	Factor de referencia (Rf): .....	28
d)	Análisis Cromatográfico en Capa Fina (TLC) .....	30
2.2.4	COLECTA, MONTAJE Y DETERMINACION DE TRIPS .....	31
A)	OBTENCION DE LARVAS Y ADULTOS DE <i>Thrips tabaci Lindeman</i> .....	31
2.2.5	TRATAMIENTOS.....	31
A)	DETERMINACION DEL EFECTO BIOCIDA DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE LAS SEMILLAS DE <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi) EN EL CONTROL DE ADULTOS Y LARVAS DE <i>Thrips tabaci Lindeman</i> A ESCALA DE LABORATORIO .....	31
B)	DETERMINACION DEL EFECTO BIOCIDA DE LOS ALCALOIDES TOTALES EXTRAIDOS DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS SEMILLAS DE <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi) EN EL CONTROL DE ADULTOS Y LARVAS DE <i>Thrips tabaci Lindeman</i> A ESCALA DE LABORATORIO .....	32
2.2.6	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	33
2.2.6.1	VARIABLES DEL ENSAYO.....	34
A)	NÚMERO DE LARVAS Y ADULTOS MUERTOS.....	34
B)	EFICACIA DE CONTROL .....	34
<b>CAPITULO III.....</b>		<b>35</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSION .....</b>		<b>35</b>
3.1	OBTENCION DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE LAS SEMILLAS DE <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi).....	36
3.2	IDENTIFICACION Y CUANTIFICACION DE LOS ALCALOIDES PRESENTES EN EL EXTRACTO ACUOSO DE <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi) .....	37
3.2.1	PRUEBA CUALITATIVA .....	38
3.2.2	IDENTIFICACION.....	38
3.2.3	CUANTIFICACION .....	40
3.3	OBTENCIÓN DE LARVAS Y ADULTOS DE <i>Thrips tabaci Lindeman</i> .....	42
3.4	DETERMINACION DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS SEMILLAS DE <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi) EN EL CONTROL DE ADULTOS DE <i>Thrips tabaci Lindeman</i> A ESCALA DE LABORATORIO.....	43
A)	DESPUES DE 24 HORAS DE APLICACION .....	43

3.5 COMPARACION ENTRE LOS DIAS DE APLICACION DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS EN EL CONTROL DE ADULTOS .....	50
3.6 CONCENTRACION LETAL 50 (CL <sub>50</sub> ) DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS EN EL CONTROL DE ADULTOS .....	51
3.7 DETERMINACION DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS SEMILLAS DE <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi) EN EL CONTROL DE LARVAS DE <i>Thrips tabaci Lindeman</i> A ESCALA DE LABORATORIO .....	52
A) DESPUES DE 24 HORAS DE APLICACION .....	52
B) DESPUES DE 48 HORAS DE APLICACION .....	56
3.8 COMPARACION POR DIAS DE APLICACIÓN DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS EN EL CONTROL DE LARVAS A ESCALA DE LABORATORIO .....	59
3.9 CONCENTRACION LETAL 50 (CL <sub>50</sub> ) DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE LARVAS A ESCALA DE LABORATORIO .....	60
3.10 DETERMINACION DEL EFECTO BIOCIDA DE LOS ALCALOIDES TOTALES EXTRAIDOS DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS SEMILLAS DE <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi) EN EL CONTROL DE ADULTOS DE <i>Thrips tabaci Lindeman</i> A ESCALA DE LABORATORIO .....	61
A) DESPUES DE 24 HORAS DE APLICACION .....	62
B) DESPUES DE 48 HORAS DE APLICACION .....	65
3.11 COMPARACION POR DIAS DE APLICACION DE LOS ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS .....	68
3.12 CONCENTRACION LETAL 50 (CL <sub>50</sub> ) DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES EXTRAIDOS EN EL CONTROL DE ADULTOS .....	69
3.13 DETERMINACION DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES EXTRAIDOS DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS SEMILLAS DE <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi) EN EL CONTROL DE LARVAS DE <i>Thrips tabaci Lindeman</i> .....	71
A) DESPUES DE 24 HORAS DE APLICACION .....	71
3.14 COMPARACION POR DIAS DE APLICACION DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS .....	77
3.15 CONCENTRACION LETAL 50 (CL <sub>50</sub> ) DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS .....	79
CONCLUSIONES .....	80
SUGERENCIAS .....	82
BIBLIOGRAFIA .....	83
ANEXOS .....	96

## INDICE DE FIGURAS

- **FIGURA N°1:** EXTRACCION DE ALCALOIDES PARA TLC Y CUANTIFICACION DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi).....17
- **FIGURA N°2:** PRUEBA CUALITATIVA DEL EXTRACTO DE SEMILLAS DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) ..... 38
  - **FIGURA N°3:** IDENTIFICACIÓN DE ALCALOIDES TOTALES POR CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) ..... 39
- **FIGURA N° 4:** CUANTIFICACION DE LOS ALCALOIDES EXTRAIDOS DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) ..... 41
- **FIGURA N°5:** COMPARACION DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 24 HORAS..... 45
- **FIGURA N°6:** COMPARACION DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE ADULTOS DESPUES DE 48 HORAS ..... 36
  - **FIGURA N°7:** COMPARACION POR DIAS DE APLICACION DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS EN EL CONTROL DE ADULTOS..... 38
  - **FIGURA N°8:** COMPARACION DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO CONTRA LAS LARVAS A LAS 24 HORAS..... 57
  - **FIGURA N°9:** COMPARACION DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO CONTRA LAS LARVAS A LAS 48 HORAS..... 57
    - **FIGURA N°10:** COMPARACION POR DIAS DE APLICACION DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS EN EL CONTROL DE LARVAS ..... 47
      - **FIGURA N°11:** COMPARACION DEL EFECTO BIOCIDA DE LOS ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 24 HORAS ..... 63
  - **FIGURA N°12:** COMPARACION DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOALES EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 48 HORAS..... 66
    - **FIGURA N°13:** COMPARACION POR DIAS DE APLICACION DE LOS ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS ..... 59
  - **FIGURA N°14:** COMPARACION DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 24 HORAS ..... 72
  - **FIGURA N°15:** COMPARACION DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES CONTRA LARVAS A LAS 48 HORAS.....76
    - **FIGURA N°16:** COMPARACION POR DIAS DE APLICACION DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS..... 66

## INDICE DE TABLAS

- **TABLA N°1:** CARACTERISTICAS FISICO- QUIMICAS DE LOS EXTRACTOS OBTENIDOS ..... 36
  - **TABLA N°2:** OBTENCION DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE LAS SEMILLAS DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) ..... 37
  - **TABLA N°3:** CUANTIFICACION DE LOS ALCALOIDES EXTRAIDOS DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) ..... 40
- **TABLA N°4:** CRIANZA Y OBTENCION DE LARVAS Y ADULTOS DE *Thrips tabaci Lindeman* ..... 42
  - **TABLA N°5:** DATOS ESTADISTICOS DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO CONTROL DE ADULTOS A LAS 24 HORAS ..... 44
- **TABLA N°6:** ANOVA DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 24 HORAS ..... 44
- **TABLA N°7:** METODO TUKEY DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO CONTRA LOS ADULTOS A LAS 24 HORAS ..... 45
  - **TABLA N°8:** DATOS ESTADISTICOS DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 48 HORAS ..... 47
- **TABLA N°9:** ANOVA DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 48 HORAS ..... 48
- **TABLA N°10:** METODO TUKEY DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO CONTRA LOS ADULTOS A LAS 48 HORAS ..... 49
- **TABLA N°11:** COMPARACION ENTRE LOS DIAS DE APLICACIÓN DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS EN EL CONTROL DE ADULTOS ..... 50
- **TABLA N°12:** CONCENTRACION LETAL 50 (CL<sub>50</sub>) DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS EN EL CONTROL DE ADULTOS ..... 52
  - **TABLA N°13:** DATOS ESTADISTICOS DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE LARVAS ..... 53
- **TABLA N°14:** ANOVA DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 24 HORAS ..... 53
- **TABLA N°15:** METODO TUKEY DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 24 HORAS ..... 55
  - **TABLA N°16:** DATOS ESTADISTICOS DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 48 HORAS... 56
- **TABLA N°17:** ANOVA DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 48 HORAS ..... 57
- **TABLA N°18:** METODO TUKEY DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO CONTRA LAS LARVAS A LAS 48 HORAS ..... 58
  - **TABLA N°19:** COMPARACION POR DIAS DE APLICACION DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS EN EL CONTROL DE LARVAS ..... 59
  - **TABLA N°20:** CONCENTRACION LETAL 50 (CL<sub>50</sub>) DEL EXTRACTO ACUOSO EL CONTROL DE LARVAS A ESCALA DE LABORATORIO ..... 61

- **TABLA N°21:** DATOS ESTADISTICOS DEL EFECTO BIOCIDA DE LOS ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 24 HORAS ..... 62
- **TABLA N°22:** ANOVA DEL EFECTO BIOCIDA DE LOS ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 24 HORAS ..... 63
  - **TABLA N°23:** METODO DE TUKEY DEL EFECTO BIOCIDA DE LOS ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 24 HORAS ..... 64
- **TABLA N°24:** DATOS ESTADISTICOS DEL EFECTO BIOCIDA DE LOS ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 48 HORAS ..... 65
  - **TABLA N°25:** ANOVA DEL EFECTO BIOCIDA DE LOS ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 48 HORAS ..... 66
- **TABLA N°26:** METODO TUKEY DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 48 HORAS ..... 67
- **TABLA N°27:** COMPARACION POR DIAS DE APLICACION DE LOS DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS ..... 68
  - **TABLA N°28:** CONCENTRACION LETAL 50 (CL<sub>50</sub>) DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS ..... 70
    - **TABLA N°29:** DATOS ESTADISTICOS DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 24 HORAS ..... 71
- **TABLA N°30:** ANOVA DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 24 HORAS..... 72
- **TABLA N°31:** METODO TUKEY DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 24 HORAS..... 73
  - **TABLA N°32:** DATOS ESTADISTICOS DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 48 HORAS ..... 75
- **TABLA N°33:** ANOVA DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 48 HORAS..... 75
- **TABLA N°34:** METODO TUKEY DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES CONTRA LARVAS A LAS 48 HORAS..... 76
  - **TABLA N°35:** COMPARACION POR DIAS DE APLICACION DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS..... 78
  - **TABLA N°36:** CONCENTRACION LETAL 50 (CL<sub>50</sub>) DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS..... 79

## RESUMEN

La región de Arequipa es el mayor productor de cebolla de nuestro país, siendo una de las actividades importantes de nuestra economía y desarrollo regional. Los cultivos de cebolla pertenecientes a la familia Aliaceae, son afectados principalmente por los insectos *Thrips tabaci* Lindeman. Las hojas infestadas sufren la destrucción de las células epidérmicas de las cebollas reduciendo la capacidad fotosintética y produciendo una disminución del rendimiento en las cosechas que varía desde 18 a 60% y un 28-73% en el tamaño del bulbo.

El uso de insecticidas químicos para combatir a esta plaga ha originado problemas de residualidad, contaminación y quimioresistencia. Por lo cual el objetivo de este trabajo de investigación, es determinar el efecto biocida del extracto acuoso de *Lupinus mutabilis* sweet (Tarwi) para reducir el daño ocasionado por *Thrips tabaci* Lindeman en cultivos de cebolla (*Allium cepa*)

A partir de 80 plantas de almácigos de cebollas se implementó un criadero de *Thrips tabaci* Lindeman obteniéndose 607 larvas a los 30±5 días y 434 adultos a los 25±5 días a condiciones ambientales 23° ±2°C y una humedad relativa 25%±2%. También se cuantificaron los alcaloides totales extraídos del extracto acuoso de las semillas de *Lupinus mutabilis* sweet (Tarwi), obteniendo 0.27 g% expresados como lupanina en la primera hora de extracción, con un 0.18 g % de lupanina en la segunda hora de extracción y con 0.05 g% de lupanina en la tercera extracción.

El extracto acuoso con mayor eficiencia en el control de la plaga de insectos adultos de *Thrips tabaci* L. fue el de una concentración de 40% (P/V) de las semillas de *Lupinus mutabilis* sweet (Tarwi) que originó una mortandad de 96.67 % de éstos insectos después de 48 horas de aplicación. En el control de larvas de *Thrips tabaci* L., fue el de una

concentración de 40% (P/V) con un 100 % de mortandad, el que tuvo mayor eficacia después de 48 horas de aplicación a escala de laboratorio.

La concentración letal media (CL<sub>50</sub>) del extracto acuoso de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) en el control de adultos de *Thrips tabaci L.* fue de 6.92% (P/V) y en el control de larvas fue de 6.31% (P/V).

En cuanto al contenido de alcaloides, el tratamiento más eficiente en el control de insectos adultos de *Thrips tabaci L.* fue el A (176.86 ppm) con un 95 % de mortandad después de 48 horas de aplicación. En el control de larvas de *Thrips tabaci L.* fue el tratamiento A (176.86 ppm) con un 96.67% la que tuvo mayor eficacia después de 48 horas de aplicación a escala de laboratorio.

La concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de alcaloides totales extraídos del extracto acuoso de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) en el control de adultos de *Thrips tabaci L.* fue de 64.12 ppm y en el control de larvas fue de 19.57 ppm.

## ABSTRACT

The region of Arequipa is the largest producer of onion in our country, one of the important activities of our economy and regional development. Onion crops belonging to the family Aliaceae are mainly affected by insects *Thrips tabaci* Lindeman. Infected leaves suffer destruction of epidermal cells onions reducing photosynthetic capacity and causing a decrease in crop yield ranging from 18 to 60% and 28-73% in the size of the bulb.

The use of chemical insecticides to control this pest has caused residual problems, pollution and chemoresistance. Therefore the aim of this research is to determine the biocidal effect of aqueous extract of *Lupinus mutabilis* sweet (Tarwi) to reduce the damage caused by *Thrips tabaci* Lindeman in crops of onion (*Allium cepa*)

From 80 plants seedlings of onions a breeding ground for *Thrips tabaci* Lindeman obtained 607 larvae at  $30 \pm 5$  days and 434 adults at  $25 \pm 5$  days at ambient conditions  $23^\circ \pm 2^\circ \text{C}$  and a relative humidity was implemented  $25\% \pm 2\%$ . the total extracted alkaloids aqueous extract of seeds of *Lupinus mutabilis* sweet (Tarwi) were also counted, obtaining 0.27 g% expressed as lupanine in the first hour of extraction and 0.18 g% of lupanine in the second hour of extraction and 0.05 g% of lupanine in the third extraction.

The aqueous extract more efficiency in pest control adult insects of *Thrips tabaci* L. was a concentration of 40% (P / V) of seeds of *Lupinus mutabilis* sweet (Tarwi) which resulted in a mortality of 96.67% of these insects after 48 hours of application. In controlling *Thrips tabaci* L. larvae, was that of a concentration of 40% (w / v) with 100% mortality, which was more effective after 48 hours of application at laboratory scale.

The median lethal concentration (LC50) of the aqueous extract of seeds of *Lupinus mutabilis* sweet (Tarwi) in adult control *Thrips tabaci* L. was 6.92% (P / V) and larval control was 6.31% (P / V).

As for the content of alkaloids, the most efficient treatment in controlling adult insects of *Thrips tabaci* L. was the A (176.86 ppm) with 95% mortality after 48 hours of application.

In the control of Thrips tabaci larvae was L. treatment A (176.86 ppm) 96.67% with greater efficiency which was 48 hours after application laboratory scale.

The median lethal concentration (LC50) of total alkaloids extracted from the aqueous extract of seeds of Lupinus mutabilis sweet (Tarwi) in controlling L. Thrips tabaci adults was 64.12 ppm and larval control was 19.57 ppm.



## INTRODUCCION

La región de Arequipa es el mayor productor de cebolla de nuestro país, siendo una de las actividades importantes de nuestra economía y desarrollo regional. Según la Gerencia de Agro de la Asociación de Exportadores (ADEX), las cebollas peruanas fueron exportadas a 19 países en el año 2014, dentro los cuales cuatro países (EE.UU., Colombia, Países Bajos y España) concentran en forma conjunta el 95% del total de las exportaciones.<sup>85</sup>

Los cultivos de cebolla perteneciente a la familia Aliaceae, son afectados principalmente por los insectos *Thrips tabaci* Lindeman. Esta plaga prefiere vivir en las hojas centrales, causando daños directos a la planta reduciendo la capacidad fotosintética<sup>61, 112, 115</sup> Las hojas infestadas destruyen las células epidérmicas de las cebollas causando una apariencia plateada o amarillenta. Por tal motivo, existe una disminución del rendimiento en las cosechas que varía desde 18 a 60% y un 28-73% en el tamaño del bulbo.<sup>47</sup>

Actualmente, los insecticidas químicos constituyen el principal mecanismo de control de plagas y enfermedades en cultivos de cebolla<sup>41</sup>. Los principios activos de los pesticidas químicos más usados para esta plaga son del tipo: fenilpirazol (Regent), spinosinas (Spintor), piretroides (cipermetrina), organofosforado (clorpirifos, diazinon, entre otros). El uso de estos insecticidas ha originado problemas de residualidad, contaminación y quimioresistencia.<sup>7, 58</sup>

En el presente trabajo de investigación, se propone darle valor a los procesos de lavado del *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) que contienen alcaloides quinozilidínicos que pueden ser recuperados y extraídos para ser utilizados como un agente biocida contra la plaga *Thrips tabaci* Lindeman en cultivos de cebolla en nuestra región, que representa una alternativa natural que beneficiará a los agricultores urbanos con una producción más eficiente, más segura para su salud y la de sus familias y a su vez respetuosa con el medio ambiente, los entornos urbanos y sus comunidades.



## 1.1 PROBLEMA DE LA INVESTIGACION

### 1.1.1 ENUNCIADO DEL PROBLEMA

“Determinación del efecto biocida del extracto acuoso de semillas de *Lupinus mutabilis* sweet (Tarwi) sobre *Thrips tabaci* Lindeman (Trips) en cultivos de cebolla”.

### 1.1.2 DESCRIPCION DEL PROBLEMA

### 1.1.3 AREA DE INVESTIGACION

El presente proyecto de investigación se encuadra en el área de Ciencias Biológicas en la Línea Entomología Agrícola y Aplicada.

### 1.1.4 ANALISIS DE VARIABLES

TIPO DE VARIABLES		INDICADORES
<b>INDEPENDIENTE</b>	La semillas de <i>Lupinus mutabilis</i> sweet (Tarwi) procedentes de Ilave del departamento de Puno.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La composición química de <i>Lupinus mutabilis</i> sweet (Tarwi).</li> <li>• La concentración de los componentes extraídos (alcaloides totales).</li> </ul>
<b>DEPENDIENTE</b>	Efecto biocida de los extractos acuosos sobre los insectos <i>Thrips tabaci</i> Lindeman a escala de laboratorio.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Porcentaje de Mortandad de <i>Thrips tabaci</i> Lindeman</li> </ul>
<b>INTERVINIENTE</b>	Tratamientos a diferentes concentraciones. Concentración de alcaloides totales. Concentración letal 50 (CL <sub>50</sub> ).	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Porcentajes</li> <li>• Concentración mg/mL</li> </ul>

### 1.1.5 TIPO DE INVESTIGACION

El trabajo de investigación será de estudio cuali y cuantitativo, experimental, de campo, prospectivo y longitudinal.

- **Cuantitativo:** se evaluará la concentración y la capacidad biocida de *Lupinus mutabilis sweet (Tarwi)*.
- **Experimental:** porque se controlarán las variables e indicadores durante el estudio en el laboratorio donde se realiza el trabajo.
- **De campo:** porque se realizará en un laboratorio de investigación y en las zonas de cultivo.
- **Prospectivo:** porque se realizará a partir de la fecha de cuando se apruebe el proyecto de investigación.
- **Longitudinal:** porque se realizará a través del tiempo a partir del comienzo del trabajo de investigación.

### 1.1.6 NIVEL DE INVESTIGACION

El nivel del trabajo de investigación es experimental constatándose su validez en sí mismo y contrastando con el equipo y procedimiento estándar. Será también de tipo descriptivo porque según los datos que se obtengan en el estudio se interpretarán y describirán los resultados.

### 1.1.7 JUSTIFICACION DEL PROBLEMA

La producción de cebollas a nivel mundial se encuentra afectada por un amplio rango de insectos y ácaros. Plagas como el Thrips de la cebolla están asociadas al cultivo en cualquier zona climática donde este se produzca.<sup>48</sup>

El daño causado por el piojito negro (*Thrips tabaci* Lindeman), se observa como un rasgado en la superficie de las hojas, al raspar el tejido y chupar la savia para alimentarse, produciéndose el manchado clorótico y el quemado característico de las hojas, que trae como consecuencia deformaciones foliares y reducción del tamaño de los bulbos, disminuyendo considerablemente los rendimientos.<sup>82</sup>

El uso frecuente de insecticidas químicos sintéticos contra Trips puede causar el desarrollo de resistencia en las poblaciones objetivo así como alteraciones en los ecosistemas. También puede conducir a residuos de insecticidas en bulbo de la cebolla y la mortalidad (Shah et al., 2000).

El presente trabajo de investigación tiene como finalidad mitigar dos problemas ambientales de una manera conjunta, por un lado aprovechando los contaminantes de los procesos de desamargo el chocho y por otro lado reduciendo el uso de plaguicidas químicos, y así diseñar estrategias efectivas usando el extracto acuoso de semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) como biocida para un manejo racional y económico en esta plaga (*Thrips tabaci* Lindeman).

## 1.2 ANALISIS DE ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Según VILLACRES E., PERALTA E., CUADRADO L., en su trabajo de investigación "Propiedades y Aplicaciones de los Alcaloides del chocho *Lupinus mutabilis sweet*", el nematodo *Meloidogyne incognita*, presenta un extenso rango de hospederos y está presente en todos los huertos frutales, especialmente en los cultivos de naranjilla y tomate de árbol. Este nematodo reduce significativamente los rendimientos y la vida útil de la planta, ya que permite la entrada de otros agentes patógenos como hongos y bacterias a través de las lesiones que causa las raíces, lo cual lleva a una muerte prematura de la planta. Los extractos de chocho con 2% de alcaloides y los de mashua (*Tropaeolum tuberosum* R. y P.) con 4.12% de isotiocianatos, presentaron propiedades nematicidas, provocando la

mortalidad del 93.3% y 96.7% de larvas expuestas, respectivamente, comparando con el control químico de Carbofuran que produjo la muerte del 30 % de la población.<sup>99</sup>

Según la autora ZEGARRA VILCHEZ, GRACIELA H., en su tesis sobre “Actividad Deterrente y Acaricida de principios activos de Quinuas Amargas, Aceites Esenciales y Tarwi”, se comprobó la actividad deterrente de los extractos crudos de quinua variedad *Markjo* (42,1%) y Tarwi (94,3%); así como de los aceites esenciales de molle (69,6%) y muña (99,1%) sobre la especie *E. paenulata*, siendo los tres últimos los más activos. Ninguna de las muestras mostró actividad deterrente contra *S. litorallis*.<sup>107</sup>

Según los autores JACOBSEN SVEN-E, MUJICA ANGEL, en su trabajo de investigación “El Tarwi (*Lupinus mutabilis sweet*) y sus parientes silvestres”, el agua de tarwi es un excelente repelente de insectos, que controla pulgones, trips y la pulguilla saltona de la papa (*Epitrix subcrinita*), así como al gorgojo de los Andes en el cultivo de papa (*Premnotripes solani*). Con la ayuda de una aspersora se aplica en los rastros de los cultivos para evitar la puesta de huevos por gorgojos adultos y de esta manera evitar su ataque desde estadios iniciales del cultivo de papa. Las cenizas producto del quemado de los tallos secos de Tarwi constituyen un repelente de insectos chupadores, rapadores, perforadores y cortadores de plantas tiernas en los cultivos andinos. Para prevenir el ataque del gorgojo de los Andes, se esparce la ceniza el mismo día de la siembra, impidiendo depositar sus huevos. Los suelos que en la campaña anterior hayan sido sembrados con Tarwi, disminuyen considerablemente la población de nematodos (*Nacobus*, *Globodera*) que atacan a la papa dulce.<sup>41</sup>

Según los autores YEPES PONTE, MARLENE RODRIGUEZ ESPEJO, P. ENRIQUEZ LARA, en su trabajo de investigación “Efecto antifúngico del extracto acuoso de semillas del chocho, *Lupinus mutabilis* sobre *Alternaria solani* y *Fusarium solani* obtuvieron el porcentaje de inhibición del crecimiento que posee el extracto acuoso de semillas de *Lupinus mutabilis* “chocho” o “tarwi” fue de 14,66% a 74,2% para *Alternaria solani*, mientras que en *Fusarium solani* se halló desde los 10,13% hasta los 66,86% a la

concentración 1 y 13 mL de extracto acuoso/100mL de medio de cultivo, respectivamente; para ambos casos con la mayor concentración de extracto acuoso fue aumentando el porcentaje de inhibición de crecimiento.<sup>106</sup>

Según MACHACA VARGAS VICTORIA (2012) en su trabajo de investigación: "Comparación de efectividad de distintos insecticidas en el control de "Trips" *Thrips tabaci* L., en el cultivo de cebolla (*Allium cepa* L.) Cultivar Sivan, en el PROTER –SAMA, concluyó que los tratamientos que obtuvieron mayor eficacia en el control de *Thrips tabaci*, fueron los insecticidas: T3 (Fipronil) Regent y T2 (Imidacloprid 100 g/l, Betacyfluthrin), Provado combi. Mientras que el tratamiento que resultó con menor eficacia respecto al control de este thysanoptero fue el T4 (Zetacipermetrina) Furia. Finalmente el T3 (Pyriproxyfen) Epingle, resultó ser el menos eficaz, en la presente investigación.<sup>58</sup>

Según MANIANIA, SITHANANTHAM, et col. (2003), en su trabajo de investigación "A field trial of the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae* for control of onion thrips, *Thrips tabaci*", concluyeron que las aplicaciones semanalmente y bi-semanalmente de *Metarhizium anisopliae* y bi-semanalmente del insecticida químico dimetoato (Rogors 50) se compararon durante 3 temporadas. *M. anisopliae* fue aplicado a razón de  $1 \times 10^{11}$  conidias/ ha y el dimetoato se aplicó a la tasa recomendada de 17,5 g/ha. En todos los ensayos, la densidad de Trips y los daños fueron significativamente menor en los tratamientos fungicidas e insecticidas químicos en comparación con los no tratados. El uso del insecticida químico resultó un efecto deletéreo sobre las poblaciones de arañas, hormigas y tijeretas mientras que el *M. anisopliae* es compatible con los potenciales enemigos naturales en campos de cebolla, es decir da protección a la biodiversidad en el agroecosistema de la cebolla.<sup>61</sup>

VARGAS, R. (2000) En su investigación titulada "Evaluación de insecticidas químicos y de origen biológico y orgánico en el control de trips (*Thrips tabaci*) en la cebolla Granex 429" Se evaluaron cuatro insecticidas químicos, uno de origen biológico y uno orgánico fueron evaluados para el control de trips en la cebolla Granex 429. Las

poblaciones de trips fueron excesivamente altas y prematuras, debido a que poblaciones de la plaga procedentes de cinco ciclos anteriores migraron a la parcela del ensayo. Sin embargo, el insecticida Regent (fipronil) mostró poseer bajo estas condiciones una eficacia comparable al Talcord (permetrina). En segundo lugar, resultaron Spintor (spinosad), un insecticida de origen biológico, y Sunfire (clorfenapir). El insecticida orgánico Protek no mostró ningún control.<sup>97</sup>

VILLARROEL H. (2000) En su investigación: “Evaluación de la efectividad de ocho insecticidas en el control del trips de la cebolla, su investigación consistió en evaluar la efectividad de ocho distintos insecticidas. (Alfacipermetrina, Clorpirifos, Acephato, Metamidofos, Diazinon, Tau-Fluvalinato, Clorfenapir y Fenvalerato mas Oxidementon metil) sobre el control de la plaga Trips tabaci L., en el cultivo de la cebolla”. A la vez, se determinó el efecto residual de los productos a nivel de campo y se diseñó un plan de manejo para el control de la plaga. Los productos se aplicaron en el estado fenológico de 3 hojas verdaderas, para luego realizar recuentos de individuos vivos al: primer día, tercer día, octavo día, decimotercer día y decimotavo día. El insecticida Clorfenapir presentó el mejor resultado, en cuanto a efecto knock-down y efecto residual, se mantiene activo durante trece días aproximadamente, con un promedio de control de 33 % en los primeros 10 días y luego baja a un 25 % a partir del decimotercer día.<sup>101</sup>

Esto contrasta con lo reiterativo del uso de los productos recomendados como tradicionales (Organofosforados, Piretroides), en el control del Trips de la Cebolla. Se confirmó que el uso de productos pertenecientes al grupo de Organofosforados como: Metamidofos, Diazinon y Acephato han producido resistencia en la plaga, no presentando diferencias significativas con relación al testigo. El producto de menor costo fue el Fenvalerato + Oxidementon metil, pero tuvo el inconveniente de no ser técnicamente adecuado para controlar la plaga. Clorfenapir por su parte presentó el más alto costo y el mejor efecto sobre el control de la plaga.<sup>101</sup>

JIMENES, I. (2000) realizó el ensayo titulado “Evaluación de Spintor 12 SC (spinosad), Regent 20 SC (fipronilo), Sunfire (clorfenapir) y Cymbush 25 (cypermetrina) en el control de trips (*Thrips tabaci*) en la cebolla amarilla c.v. Mercedes”, se evaluaron Siete insecticidas, en cuatro rotaciones, fueron evaluados para el control de trips (*Thrips tabaci*) en el cultivo de la cebolla cultivar Mercedes. Los siete insecticidas en sus diferentes rotaciones fueron efectivos en el manejo de las poblaciones de trips a niveles que no afectaron significativamente los rendimientos, pero en la rotación en donde se involucró el fipronilo (Regent 20 SC) se hizo el menor número de aplicaciones, por lo que se puede concluir que la rotación de fipronilo (Regent 20 SC) con teflubenzuron (Nomolt) y malathion fue la más efectiva en el control de trips.<sup>43</sup>

Según KHALIQ et col., en su trabajo de investigación: “Field evaluation of selected botanicals and commercial synthetic insecticides against *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) populations and predators in onion field plots”, concluyeron que la efectividad de tres insecticidas botánicos (neem, datura y manzana amarga), y tres insecticidas químicos sintéticos (acefato, espirotetramat y espinetoram) contra Trips de la cebolla (*Thrips tabaci*) fueron evaluados en parcelas experimentales en la Universidad de Sargodha, Pakistán. Todos los productos botánicos e insecticidas químicos probados causaron reducciones significativas (45-70%) en las poblaciones de Thrips; los botánicos dieron el control de más del 60% de los Trips, mientras que entre los insecticidas químicos, acefato se encontró que era el más eficaz seguido por spiroetramat y spinetoram, respectivamente, y estos insecticidas dieron un mejor control de los botánicos.<sup>45</sup>

### 1.3 OBJETIVOS

#### 1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto biocida del extracto acuoso de semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) para reducir el daño ocasionado por *Thrips tabaci* (Thrips) en cultivos de cebolla (*Allium cepa*).

### 1.3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Extraer los principios hidrosolubles de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet*.
- Determinar que concentración del extracto acuoso de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* es más eficiente en el control de *Thrips tabaci Lindeman* (Thrips) a escala de laboratorio.
- Cuantificar los alcaloides totales del extracto acuoso de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) expresado en g% de lupanina.
- Determinar la concentración letal 50 (CL<sub>50</sub>) del extracto acuoso de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi).
- Determinar la concentración más eficiente de los alcaloides totales del extracto acuoso de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* en el control de *Thrips tabaci Lindeman* (Thrips) a escala de laboratorio.
- Determinar la concentración letal 50 (CL<sub>50</sub>) de los alcaloides totales extraídos del extracto acuoso de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi).

### 1.4 HIPOTESIS

Dado que diversos estudios demuestran que *Lupinus mutabilis sweet*, tiene efecto nematocida, es probable que puede ser empleada como una solución eficaz para reducir el daño provocado por *Thrips tabaci* (Thrips) en cultivos de cebolla.

A large, faint watermark of the Universidad Católica de Santa María logo is centered on the page. It features a shield with a cross, a book, and a lamp, surrounded by a banner with the text 'UNIVERSIDAD CATOLICA SANTA MARIA' and the year '1961' at the bottom.

# **CAPITULO II**

## **PLANTEAMIENTO OPERACIONAL**

## 2. INSTRUMENTOS , TECNICAS Y CAMPO DE VERIFICACION

### 2.1 INSTRUMENTOS DE LABORATORIO, REACTIVOS Y EQUIPOS

#### 2.1.1 REACTIVOS

- Acetato de etilo (MERCK P.A. 100 % de pureza)
- Ácido clorhídrico (MERCK P.A. 36% de pureza)
- Acido tartárico (NEQUINSA)
- Agua destilada
- Alcohol de 70°
- Ciclohexano (MERCK Q.P. 95% de pureza)
- Cloroformo (MERCK ACS,ISO, Reag. Ph Eur 99.5% de pureza)
- Dietilamina (MERCK P.A. 99% de pureza)
- Hidróxido de amonio (MERCK Q.P. 100% de pureza)
- Hidróxido de sodio (MERCK Q.P. 99% de pureza)
- Ioduro de potasio (MERCK ACS,ISO, Reag. Ph Eur 99.5% de pureza)
- Metanol (MERCK ACS, ISO, Reag. Ph Eur 99.9% de pureza)
- Sulfato de sodio anhidro (MERCK p.a. ACS, ISO, Reag. Ph Eur 99 % de pureza)
- Tolueno (MERCK ACS,ISO, Reag. Ph Eur 99% de pureza)

#### 2.1.2 MATERIAL DE LABORATORIO

- Balón de 250 mL
- Cubeta de vidrio,
- Embudos de vidrio
- Erlenmeyer de 250, 500 mL
- Espátulas
- Matraces de 150 mL

- Micropipeta 100 uL
- Papel filtro
- Pera de decantación de 250mL.
- Pipetas de 1mL, 5mL, 10mL
- Placa de silicagel
- Placas Petri (x8 mm)
- Probetas de 25, 100 mL
- Soporte universal
- Trípode
- Tubos de ensayo de 16 x100 mm
- Vasos de precipitados 50, 100, 250, 500 mL

### 2.1.3 EQUIPOS

- Balanza analítica PIONEER TM Analítica, Modelo con calibración interna Aunt. INCAL PA 214 C, Capacidad 210 g, sensibilidad 0.0001 g
- Cámara reveladora CAMAG UV de 254 nm.
- Equipo de destilación de reflujo de 250 mL (Fortuna)
- Estereoscopio OLYMPUS con relación de zoom: 16.4 (0.7x hasta 11.5x) Tubo de observación trinocular de 30°. Ángulo de inclinación del tubo de observación: 30°, conversión de haz óptico binocular 100%
- Rotavapor BUCHI RII con módulo de vidrio V. Velocidad de rotación de 20-280 rpm, tamaño del matraz 50-4000 mL, Baño calefacto hasta 4000 mL, margen de regulación de temperatura de 20- 95°C
- Sonicator BRANSON 2510, Capacidad del tanque de 5.71 L, peso de 5.4Kg, con 130W de poder, calor activado máximo de 60°C
- Termohidrómetro marca BOECO Germany, rango de medida de temperatura de 0°C hasta 50° C y de humedad de 23% a 95%

- Titulador potenciométrico Titrande METROHM con dosificador Dosimat 808 Volumen de cilindro de 5 mL, rango de pH -13 a +20. Modo de titulación dinámica (DET) a punto de equivalencia. La adición de reactivo se realiza en etapas de volumen variable. Conectado a un agitador magnético incorporado. Como de interfase de entrada se usó un electrodo pH y se utilizó el software TIAMO 2.4.
- Vortex de la serie VIBRATE IT con modelo L-VM2000 de cabezal plataforma, con velocidad regulable de 0-3000 rpm, patas antideslizantes, luz de encendido, interruptor de uso continuo o accionado por presión.

#### 2.1.4 OTROS

- Cocina eléctrica (Gallenkamp)
- Envases de plástico (3 L)
- Envases de vidrio 120 mL
- Frascos con spray asperjadora
- Potes de plástico

### 2.2 TECNICAS

#### 2.2.1 SELECCIÓN DEL MATERIAL BIOCIDA

El material biocida que consta de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) que son provenientes del distrito de Ilave del departamento de Puno por temporalidad de mayo a junio del 2014, con su posterior identificación taxonómica en HUSA de la Universidad Nacional de San Agustín (Anexo N° 1).

#### 2.2.2 OBTENCION DEL EXTRACTO DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi)

Se utilizarán cinco concentraciones de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi), procediendo de la siguiente manera: Se pesarán 5, 10, 20, 30 y 40 g de las semillas de

*Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi), se macerará (24 horas) en 100 ml de la mezcla acuosa; enseguida se procederá al calentamiento por reflujo durante una hora, se filtrará en caliente; el residuo se lavará con agua destilada y finalmente la solución filtrada se concentrará a 25 ml usando el rotavapor. El residuo se guardará en frascos de vidrio ámbar para su posterior uso.

### **2.2.3 IDENTIFICACION Y CUANTIFICACION DE LOS ALCALOIDES PRESENTES EN EL EXTRACTO DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi)**

#### **a) Prueba cualitativa**

Se medirán 5 ml de del extracto obtenido y se colocarán en su respectivo tubo de ensayo, luego se agregarán de 3-4 gotas de reactivo de Dragendorff y se observarán la formación de precipitado anaranjado.

#### **b) Cuantificación de alcaloides totales**

25 ml del residuo concentrado del extracto acuoso obtenido serán transferidos a una pera de separación. Se agregará 0.5 mL de hidróxido de amonio hasta alcanzar un pH 9.0 más 5 mL de cloroformo, se agitará suavemente y se observará dos capas, en lo cual se eliminará la fase acuosa. Se realizará dos veces más con el cloroformo.

En la fase orgánica se agregará 5 mL de ácido sulfúrico al 10%(v/v), homogenizando con suaves movimientos, se eliminará la fase orgánica. Se realizará dos veces más, el mismo procedimiento.

Con la fase acuosa se adicionará hidróxido de amonio hasta alcanzar pH 9.0 aproximadamente 5 mL, luego se extraerá con 5 ml de cloroformo, separando la fase orgánica y se realizará por dos veces más.

Las tres fases orgánicas obtenidas se mezclarán con sulfato de sodio anhidro y se filtrará, para luego recuperar el solvente por destilación simple.

Luego el residuo será disuelto con ácido clorhídrico a una concentración conocida y será transferido a una fiola de 25 mL, para luego ser titulado potenciométrica en Titrando Dosimat 808 por retrovaloración con hidróxido de sodio a una concentración conocida, para la cuantificación de alcaloides expresado en porcentaje (g%) de Lupanina.

Para la realización de la Cromatografía en Capa Fina (TLC) de los alcaloides totales de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi), se procederá de la misma manera descrita anteriormente, a diferencia que al obtener el residuo se disolverá en metanol.

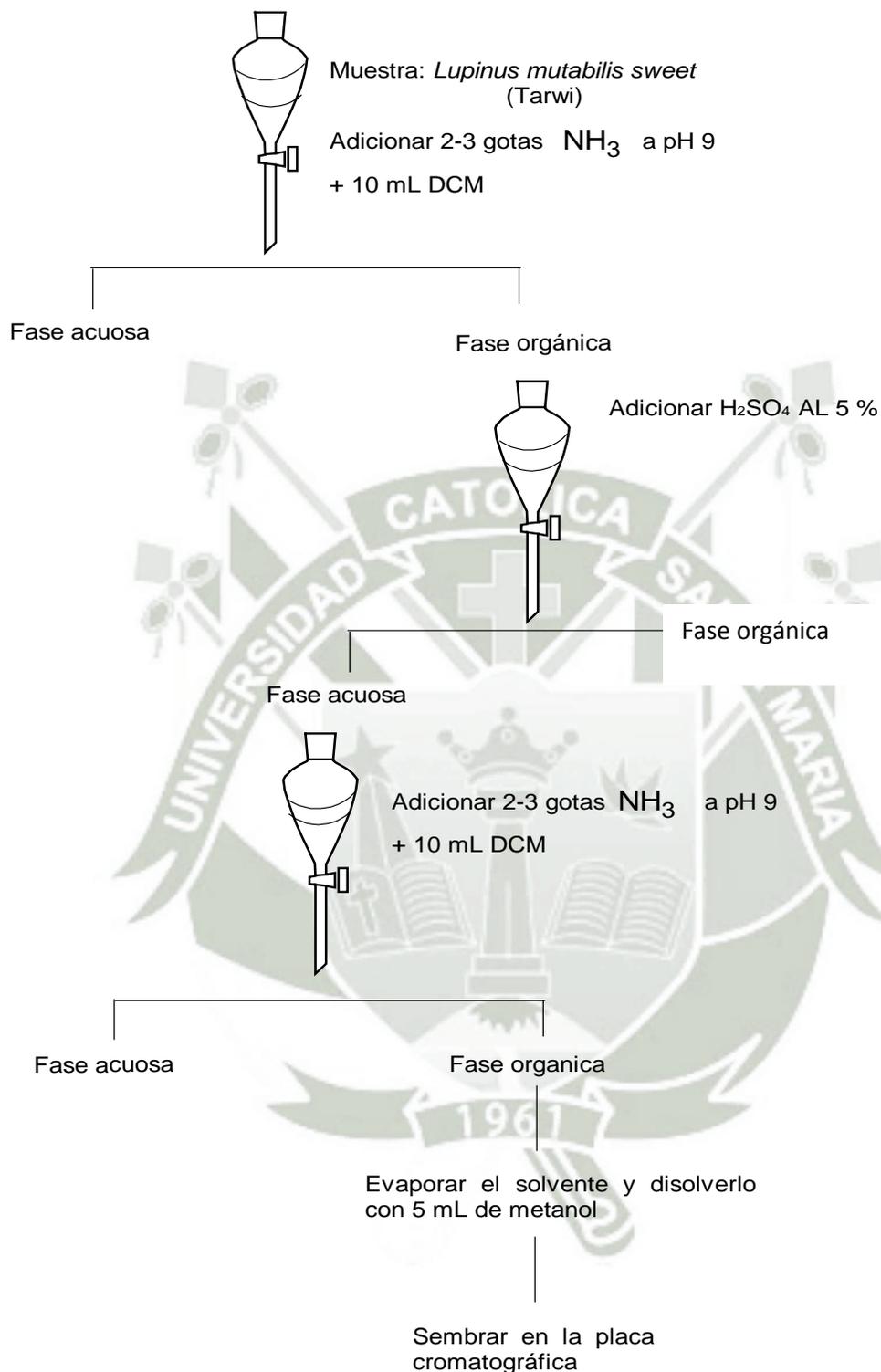
Luego se sembrará el residuo en la placa de Silica Gel 60 F254, por tres veces, teniendo en cuenta que por cada sembrado se secará. Se colocará la placa dentro de la cámara cromatográfica saturada con la fase móvil.

Se esperará hasta que el eluyente recorra en la placa hasta antes de 1 cm, sacar la placa y esperar a que seque. Luego se procederá a revelar la placa con el reactivo correspondiente. Terminando se procederá a medir las manchas para luego obtener el factor de referencia.

**c) Factor de referencia (Rf):**

Es un número que permite identificar sustancias considerando las distancias recorridas en un cromatograma, y con un método cromatográfico dado.

$$\text{Factor de referencia} = \frac{\text{Distancia recorrida por la muestra}}{\text{Distancia recorrida por la fase móvil}}$$



**FIGURA N° 1: EXTRACCION DE ALCALOIDES PARA TLC Y  
CUANTIFICACION DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi)**

#### d) Análisis Cromatográfico en Capa Fina (TLC)

##### Procedimiento:

Se sembrará en la placa y se secará bien. Se colocará en la cuba cromatografía con su respectiva fase móvil, se dejará correr la fase móvil hasta 1 cm antes del borde superior. Se retirará la placa de la cuba cromatográfica, se observará en UV y se dejará secar para luego aspersar la "solución reveladora". Se observarán las visibles coloraciones naranjas o cafés.

##### Fase Móvil I

Tolueno	70 mL
Acetato de etilo	20 mL
Dietilamina	10 mL

##### Fase Móvil II

Cloroformo	87 mL
Metanol	10 mL
Hidróxido de amonio	3.0 mL

##### Revelador: Dragendorff según Munier

##### Solución A

Nitrato básico de bismuto	1.7 gr
Acido tartárico	20 gr
Agua	80 mL

##### Solución B

Yoduro de potasio	16 gr
Agua	40 mL

##### Solución de Reserva (Refrigerar)

Solución A	1 Vol.
Solución B	1 Vol.

Disolver 10 g de ácido tartárico en 50 mL de agua y agregar 5 mL de la solución de reserva.

#### 2.2.4 COLECTA, MONTAJE Y DETERMINACION DE TRIPS

Se realizará la recolección de adultos *Thrips tabaci Lindeman* (Trips) en cultivos de cebolla en el distrito de Tiabaya. Los insectos se recogerán en dos recipientes con un pincel fino y se depositarán en un recipiente para su posterior identificación entomológica en la Facultad de Biología de la Universidad de San Agustín. El otro recipiente será para la crianza y reproducción de estos insectos (Anexo N° 2).

##### A) OBTENCION DE LARVAS Y ADULTOS DE *Thrips tabaci Lindeman*

Se colocarán de 30 plantas de cebolla dentro de una incubadora de vidrio para criar a los insectos y se colocará un foco en el interior para darle las condiciones ambientales para su crecimiento. Después que hayan realizado su ciclo biológico a larvas y adultos de los *Thrips tabaci Lindeman*, se seleccionará 300 larvas que se trabajará 20 larvas para cada tratamiento por tres repeticiones y 300 adultos de la misma forma tratados anteriormente.

#### 2.2.5 TRATAMIENTOS

Los tratamientos se llevarán a cabo de la siguiente manera:

##### A) DETERMINACION DEL EFECTO BIOCIDA DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE LAS SEMILLAS DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) EN EL CONTROL DE ADULTOS Y LARVAS DE *Thrips tabaci Lindeman* A ESCALA DE LABORATORIO

Se realizarán cinco tratamientos de extractos acuosos (5%,10%,20%,30% y 40%), un tratamiento control negativo que solamente será agua destilada y un control positivo que es el pesticida químico (Regent) a una concentración de 1mL/L (Cuadro N° 1). Para cada tratamiento se tomará 20 adultos y 20 larvas de *Thrips tabaci Lindeman* en recipientes de

plástico y se asperjará con un spray dos veces (aproximadamente 0.2 mL). También se realizará la concentración letal 50 (CL<sub>50</sub>) del extracto acuoso de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi).

**CUADRO N° 1**

**TRATAMIENTOS DE LOS EXTRACTOS ACUOSO DE LAS SEMILLAS DE  
*Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) EN EL CONTROL DE ADULTOS Y LARVAS  
DE *Thrips tabaci* Lindeman A ESCALA DE LABORATORIO**

TRATAMIENTOS	CONCENTRACION (%)
Control Negativo	0 %
Control Positivo (Regent)	0.1%
Extracto de las semillas de <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi)	5 %
Extracto de las semillas de <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi)	10 %
Extracto de las semillas de <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi)	20 %
Extracto de las semillas de <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi)	30 %
Extracto de las semillas de <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi)	40%

**Fuente: Elaboración propia**

**B) DETERMINACION DEL EFECTO BIOCIDA DE LOS ALCALOIDES  
TOTALES EXTRAIDOS DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS SEMILLAS  
DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) EN EL CONTROL DE ADULTOS Y  
LARVAS DE *Thrips tabaci* Lindeman A ESCALA DE LABORATORIO**

Se realizarán cinco tratamientos de los alcaloides totales expresados en g% de Lupanina, un tratamiento control negativo que será el solvente que disuelve los alcaloides (Acido Clorhídrico 0.02 M que tiene un pH de 2.0) y un control positivo que es el pesticida

químico (Regent) a una concentración de 1mL/L (Cuadro N° 2). Para cada tratamiento se tomará 20 adultos y 20 larvas de *Thrips tabaci* Lindeman en recipientes de plástico y se asperjará con un spray dos veces (aproximadamente 0.2 mL). También se realizará la concentración letal 50 (CL<sub>50</sub>) de los alcaloides totales expresado en g% de Lupanina obtenidos de los extractos acuosos de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi).

## CUADRO N° 2

### TRATAMIENTOS DE LOS ALCALOIDES TOTALES OBTENIDOS DE LAS SEMILLAS DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) EN EL CONTROL DE ADULTOS Y LARVAS DE *Thrips tabaci* Lindeman A ESCALA DE LABORATORIO

TRATAMIENTOS	CONCENTRACION
Control Negativo	0
Control Positivo (Regent)	1 mL/L
Alcaloides totales de las semillas de <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi)	Concentración A
Alcaloides totales de las semillas de <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi)	Concentración B
Alcaloides totales de las semillas de <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi)	Concentración C
Alcaloides totales de las semillas de <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi)	Concentración D
Alcaloides totales de las semillas de <i>Lupinus mutabilis sweet</i> (Tarwi)	Concentración E

Fuente: Elaboración propia

#### 2.2.6 DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental de este trabajo de investigación, se realizarán un análisis de varianza de un factor (ANOVA) con siete tratamientos y tres repeticiones. Para determinar la diferencia estadística entre las medias de los factores e interpretación se emplearán la prueba de Tukey a un nivel de confianza ( $\alpha = 0,05$ ). Para hallar la Concentración Letal 50 (CL<sub>50</sub>), se utilizarán el análisis de Probbit hallado en Excel 2010.

### 2.2.6.1 VARIABLES DEL ENSAYO

#### A) NÚMERO DE LARVAS Y ADULTOS MUERTOS

Se cuantificarán el número de larvas y adultos muertos a las 24 y 48 horas después de la aplicación de los tratamientos.

#### B) EFICACIA DE CONTROL

Después de las evaluaciones a las 24 y 48 horas de los diferentes tratamientos. Se realizará el porcentaje de mortalidad:

Si:

20 adultos o larvas	-----	100%
# muertos	-----	x%



**CAPITULO III**  
**RESULTADOS Y DISCUSION**

### 3.1 OBTENCION DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE LAS SEMILLAS DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi)

Se utilizaron cinco concentraciones del extracto acuoso de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi), descritas en el Capítulo II, por lo cual se pesaron las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) y se maceraron por 24 horas en 100 ml de agua destilada como método de extracción inicial; que facilita la difusión del solvente hacia el interior de las estructuras internas de los granos de Tarwi, y favorece la extracción de los componentes.

Luego se procedió al calentamiento por reflujo durante una hora, para finalizar la extracción con el empleo de calor a la temperatura de ebullición del solvente. Los extractos obtenidos posteriormente son concentrados a Baño María, ya que los componentes extraídos no son termosensibles. Algunas características físico-químicas, de los extractos obtenidos, se muestran en la Tabla N°1.

**TABLA N°1: CARACTERISTICAS FISICO- QUIMICAS DE LOS  
EXTRACTOS OBTENIDOS**

CARACTERISTICAS	DESCRIPCION DE LOS EXTRACTOS
Color	Amarillo que se intensifica a medida que aumenta la concentración del extracto
Olor	Característico a las legumbres
Sabor	Amargo
Consistencia	Los extractos son fluidos.
pH	5.1 – 5.6

**Fuente: Elaboración propia**

Luego de 24 horas de maceración, se pudo apreciar el fenómeno de turgencia (hinchamiento) de los granos de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) y la variación de

intensidad de color amarillo de los extractos. Se observó que los granos de mayor hinchamiento, así como el extracto de color amarillo más intenso correspondían a los extractos de 40% (P/V) y 30% (P/V), seguida de los extractos 20% (P/V), 10% (P/V) y 5% (P/V).<sup>64</sup>

**TABLA N°2: OBTENCION DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE LAS SEMILLAS DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi)**

TRATAMIENTOS	VOLUMEN OBTENIDO
EXTRACTO AL 5%	90.0 mL
EXTRACTO AL 10%	86.0 mL
EXTRACTO AL 20%	80.0 mL
EXTRACTO AL 30%	61.0 mL
EXTRACTO AL 40%	40.0 mL

En la Tabla N°2, se observa que los volúmenes obtenidos de mayor proporción son los extractos del 5% (P/V), 10% (P/V) y 20% (P/V) con más del 80% de extracción, en comparación del extracto 30% (P/V) y 40% (P/V) con volúmenes de 61 y 40 mL, respectivamente.

Esto quizás se deba al fenómeno de hinchamiento o turgencia de los granos de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) <sup>64</sup>. El agua absorbida es almacenada en la estructura porosa de las semillas, hidratando el interior de las células y los espacios entre las paredes celulares. Esto produce un aumento en el volumen total y cambios en tamaño y en las estructuras no reversibles en las semillas, por lo cual el volumen del extracto de mayor concentración disminuirá.<sup>73</sup>

### **3.2 IDENTIFICACION Y CUANTIFICACION DE LOS ALCALOIDES PRESENTES EN EL EXTRACTO ACUOSO DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi)**

### 3.2.1 PRUEBA CUALITATIVA

Como se observa en la Figura N° 2, el extracto acuoso de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) dio positiva a la reacción cualitativa con el reactivo de Dragendorff dando un color rojo ladrillo, lo cual confirma la presencia de los alcaloides totales.

Los alcaloides en estado de sal, al revelarse con el reactivo color que contiene yodo y metales pesados como bismuto, mercurio, tungsteno, forman precipitados de color naranja, amarillo o azul.<sup>3</sup>



**FIGURA N° 2: PRUEBA CUALITATIVA DEL EXTRACTO DE SEMILLAS DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi)**

### 3.2.2 IDENTIFICACION

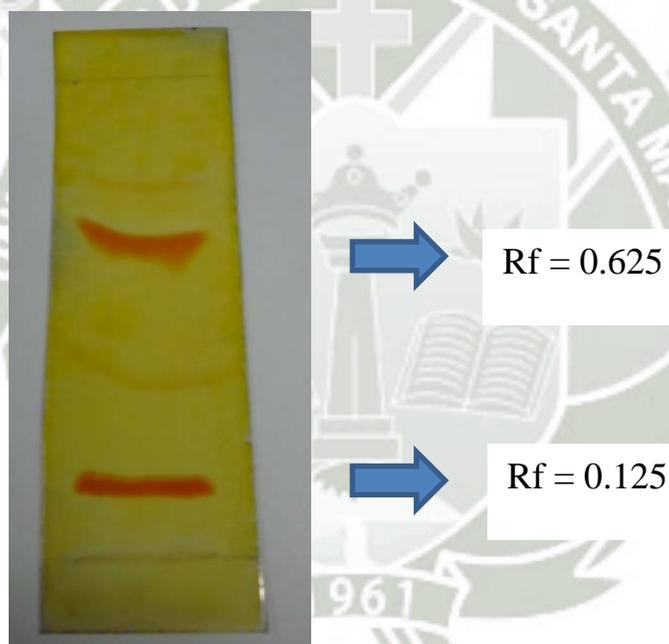
En la cromatografía de capa fina (TLC) del extracto acuoso al 20% de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi), se evidenció la presencia de alcaloides al observar dos manchas de coloración anaranjado rojiza, con un Rf de 0.125 y 0.625, al usar el revelador de Dragendorff según Munier (Figura N° 3).

El Rf obtenido de 0.625 se puede afirmar que corresponde al alcaloide Lupanina, según Wink Michael y colaboradores, quienes reportaron un Rf de 0.69 usando la misma fase móvil pero en la siguiente proporción: Cloroformo-Metanol-Hidróxido de Amonio (85:15:1). En el caso del Rf de 0.125 se puede confirmar que corresponde al alcaloide

Esparteína, según Wink Michael y colaboradores, quienes reportaron un  $R_f$  de 0.07 usando la fase móvil anterior. Las diferencias de Factores de referencia obtenidas y comparadas con el autor se debe a la proporción de solventes utilizados, ya que ellos utilizaron mayor proporción de solvente de elevada polaridad (Metanol) y en menor proporción el solvente de moderada polaridad (Cloroformo), por lo cual la mancha ( $R_f$  de 0.69) tuvo un mayor recorrido debido a que los alcaloides al tener carácter básico y el empleo de una fase estacionaria relativamente polar como la Sílica gel G.F 254, tienen afinidad por los solventes polares de mayor poder de elución.<sup>104</sup>

**Fase Móvil:** Cloroformo – Metanol – Hidróxido de amonio (87:10:3.0)

**Revelador:** Dragendorff según Munier



**FIGURA N° 3: IDENTIFICACIÓN DE ALCALOIDES TOTALES POR CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi)**

### 3.2.3 CUANTIFICACION

Posteriormente se cuantificaron los alcaloides totales expresando los resultados en g% de lupanina del extracto acuoso al 20% (P/V) de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi), (Anexo N° 4) habiéndose procedido de la siguiente manera:

**CAT-01:** Se maceraron 20 g de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) en 100 mL de agua destilada por 24 horas y se procedió a digerir por reflujo durante una hora. Se filtró y se concentró hasta 25 mL aproximadamente y se extraen los alcaloides totales según la Figura N°7, todo este procedimiento se realizó por triplicado.

**CAT-02:** Al residuo del reflujo anterior se agregó 100 mL de agua destilada y se procedió de la misma manera detallado anteriormente.

**CAT-03:** Nuevamente al residuo del reflujo anterior se agregó 100 mL de agua destilada y se procede de la misma manera detallado en CAT-01.

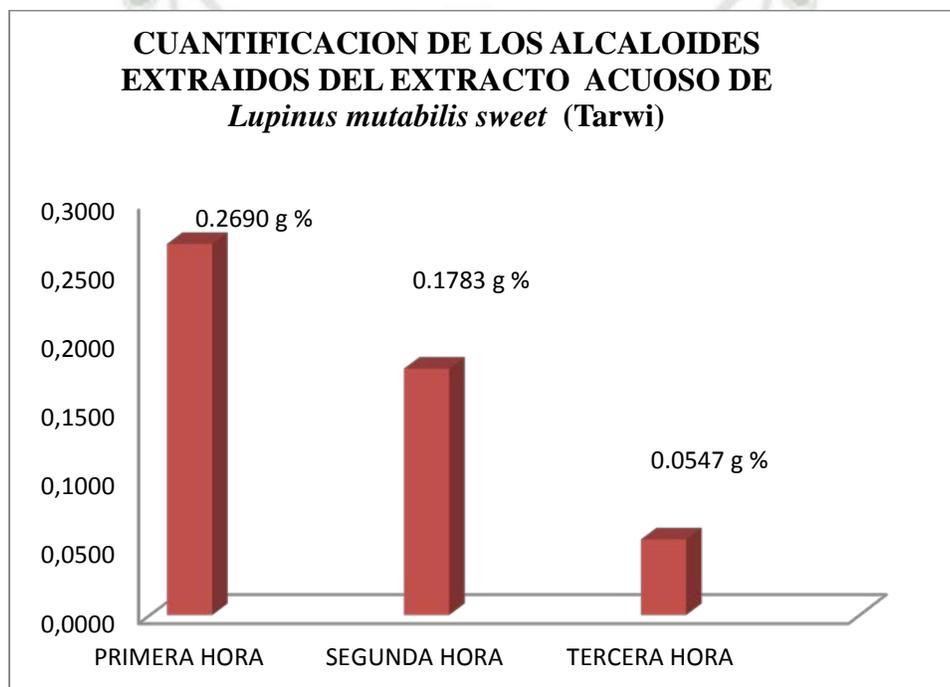
**TABLA N°3: CUANTIFICACION DE LOS ALCALOIDES EXTRAIDOS DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi)**

<b>CODIGO</b>	<b>PROCESO</b>	<b>g% DE ALCALOIDES</b>	<b>PROMEDIO (g%)</b>	<b>DESV. ST.</b>
CAT-01-A	PRIMERA HORA	0.26	0.27	0.0279
CAT-01-B		0.30		
CAT-01-C		0.24		
CAT-02-A	SEGUNDA HORA	0.18	0.18	0.0379
CAT-02-B		0.22		
CAT-02-C		0.14		
CAT-03-A	TERCERA HORA	0.06	0.05	0.0097
CAT-03-B		0.06		
CAT-03-C		0.04		
		$\Sigma =$	<b>0.50</b>	

**Leyenda: CAT: Cuantificación de Alcaloides Totales**

**Fuente: Elaboración propia**

En la Tabla N° 3 y la Figura N° 4, se observa la cuantificación de los alcaloides totales expresados en porcentaje de lupanina, dando como resultados CAT-01 con promedio de 0.27 g% de alcaloides totales expresado en lupanina con una desviación estándar de 0.0279 en la primera vuelta, seguida de CAT-02 con un promedio de 0.18 g% de alcaloides totales expresado en lupanina con una desviación estándar de 0.0379 en la segunda vuelta y por último CAT-03 con un promedio de 0.05 g% de alcaloides totales expresado en lupanina con desviación estándar de 0.097 del extracto acuoso al 20% (P/V) de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi).



**FIGURA N° 4: CUANTIFICACION DE LOS ALCALOIDES EXTRAIDOS DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi)**

Estudios realizados por Urrutia Gutiérrez Wilson (2010), mencionan el contenido de alcaloides en lupinos dulces tienen un promedio entre 0.030 - 0.055% y alcaloides de lupinos amargos con un promedio entre 0.896 – 1.668% en las especies de *Lupinus luteus*, *Lupinus albus* y *Lupinus angustifolius*.<sup>94</sup>

Los principales alcaloides presentes en el *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) son los siguientes: Lupanina (46%), esparteína (14%), 4-hidroxilupanina (10%), isolupanina (3%), n-metilangustifolina (3%), 13-hidroxilupanina (1%), por lo que la expresión de alcaloides totales en función de la Lupanina resulta pertinente.<sup>42, 73</sup>

### 3.3 OBTENCIÓN DE LARVAS Y ADULTOS DE *Thrips tabaci* Lindeman

Se colocaron de 80 almácigos de cebolla dentro de dos incubadoras de vidrio para criar a los insectos y se colocaron dos focos en el interior para acondicionarlo a temperatura  $23 \pm 2^\circ$  C y una humedad relativa de  $25 \pm 2$  % para el crecimiento de su ciclo biológico de los *Thrips tabaci* Lindeman (Anexo N° 3).

En cada incubadora se colocaron 40 almácigos de cebolla para los adultos y 40 almácigos para las larvas, se le dieron una semana de acondicionamiento. Se recolectaron en el distrito de Tiabaya larvas y adultos para colocarlos en los almácigos, teniendo en cuenta un adulto en cada planta y 20 larvas en otra planta, separándolas en cada incubadora.

**TABLA N°4: CRIANZA Y OBTENCIÓN DE LARVAS Y ADULTOS DE *Thrips tabaci* Lindeman**

LARVAS		ADULTOS	
NUMERO DE PLANTAS	40	NUMERO DE PLANTAS	40
PROMEDIO DE LARVAS POR PLANTA	15.18	PROMEDIO DE INSECTOS ADULTOS POR PLANTA	10.85
DESV. ST	3.19	DESV. ST	2.68
CV (%)	21.00	CV (%)	24.72
TOTAL	607	TOTAL	434

**Fuente: Elaboración propia**

En la Tabla N° 4, se observa que en 40 plantas de almácigos de cebolla, se obtuvieron 607 larvas a los  $30 \pm 5$  días y que en los otros 40 almácigos se obtuvieron 434 adultos a los  $25 \pm 5$  días.

Los trips son insectos muy pequeños, frágiles, difíciles de manipular, transportar y criar en cautiverio. Los resultados coinciden que durante el estudio no se observaron adultos machos, ya que esta especie parece presentar una reproducción partenogénica en condiciones cálidas.<sup>54, 82</sup>

### **3.4 DETERMINACION DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS SEMILLAS DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) EN EL CONTROL DE ADULTOS DE *Thrips tabaci* Lindeman A ESCALA DE LABORATORIO**

#### **A) DESPUES DE 24 HORAS DE APLICACION**

En la Tabla N° 5, se observa la cantidad de adultos muertos de *Thrips tabaci* L. empleados en diferentes tratamientos, teniendo en cuenta que al inicio cada tratamiento fueron de veinte adultos (Anexo N° 5).

El extracto acuoso más eficiente fue el 40% (P/V) con un 90% de mortandad de insectos, seguido del 30% (P/V) con un 81.67%, luego el 20% (P/V) con un 75%, el 10% (P/V) con un 60% y con 41.67% para el extracto al 5% (P/V), en comparación al control positivo (Regent a 1mL/L) que es el 100% de mortandad contra los adultos de *Thrips tabaci* L. después de 24 horas de aplicación a escala de laboratorio (Anexo N°5).

**TABLA N° 5: DATOS ESTADISTICOS DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO CONTROL DE ADULTOS A LAS 24 HORAS**

	TOTAL DE INSECTOS (N)	ADULTOS MUERTOS EXT. 5%	ADULTOS MUERTOS EXT. 10%	ADULTOS MUERTOS EXT. 20%	ADULTOS MUERTOS EXT. 30%	ADULTOS MUERTOS EXT. 40%	ADULTOS MUERTOS CONTROL NEGATIVO	ADULTOS MUERTOS CONTROL POSITIVO
	20	8	12	16	16	18	0	20
	20	8	11	14	16	19	0	20
	20	9	13	15	17	17	0	20
<b>Promedio</b>		8.33	12.00	15.00	16.33	18.00	0.00	20.00
<b>DESV.ST</b>		0.57	1.00	1.00	0.58	1.00	0.00	0.00
<b>CV</b>		6.93	8.33	6.67	3.53	5.56	0.00	0.00
<b>% Mortandad</b>		41.67	60.00	75.00	81.67	90.00	0.00	100.00

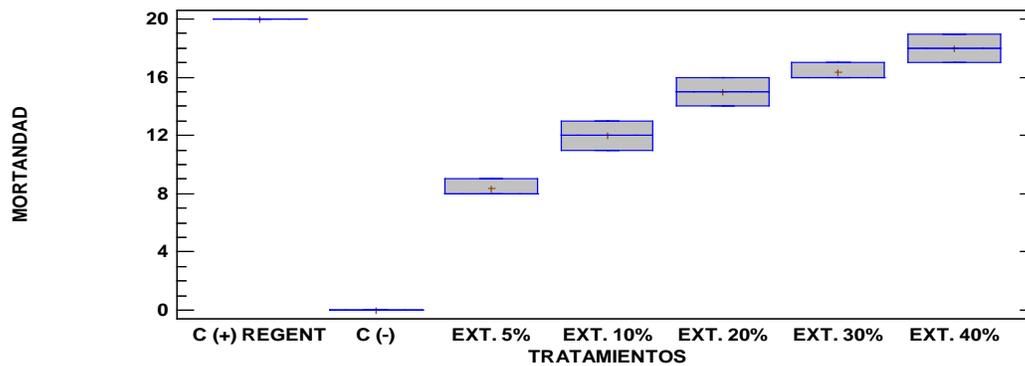
**Fuente: Elaboración propia**

Se procedió a realizar un análisis estadístico ANOVA (Tabla N°6) en los Softwares Statgraphics Centurion y Excel 2010.

En este sentido apreciamos que los siete grupos experimentales difieren entre sí, el F-experimental es de 267.88 y un valor de  $p < 0.05$ , por lo tanto se concluye que se rechaza la hipótesis nula que asume que los grupos experimentales no difieren entre sí, aceptándose entonces la hipótesis alternativa la cual asume que los grupos experimentales si son estadísticamente diferentes. De igual manera se puede observar la diferencia estadística en la Figura N°5 por caja de bigotes.

**TABLA N° 6: ANOVA DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 24 HORAS**

<i>Fuente</i>	<i>Suma Cuadrados</i>	<i>de GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>Entre grupos</b>	841.91	6	140.32	267.88	0.00
<b>Intra grupos</b>	7.33	14	0.52		
<b>Total (Corr.)</b>	849.24	20			



**FIGURA N° 5: COMPARACION DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 24 HORAS**

Debido a que el ANOVA solo nos informa la diferencia estadística entre los grupos y no de manera específica; aplicamos una prueba estadística de comparación múltiple (Tukey) en el Software Statgraphics Centurion.

Por lo cual se puede observar que hay diferencia significativa en los tratamientos, excepto entre los pares de tratamientos de los extractos 20% y 30%, 30% y 40%, 40% y el control positivo (Regent a una concentración 1 mL/L) al 95% de nivel de confianza tratados con los adultos de *Thrips tabaci* L. después de 24 horas de aplicación a escala de laboratorio (Tabla N° 7).

**TABLA N°7: METODO TUKEY DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO CONTRA LOS ADULTOS A LAS 24 HORAS**

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
CN	3	0	X
EXT 5%	3	8.33	X
EXT 10%	3	12.00	X
EXT 20%	3	15.00	X
EXT 30%	3	16.33	XX
EXT 40%	3	18.00	XX
REGENT	3	20.00	X

**Leyenda:** CN: Control Negativo  
REGENT: Control positivo

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
CN - EXT 10%	*	-12.00	2.02
CN - EXT 20%	*	-15.00	2.02
CN - EXT 30%	*	-16.33	2.02
CN - EXT 40%	*	-18.00	2.02
CN - EXT 5%	*	-8.33	2.02
CN - REGENT	*	-20.00	2.02
EXT 10% - EXT 20%	*	-3.00	2.02
EXT 10% - EXT 30%	*	-4.33	2.02
EXT 10% - EXT 40%	*	-6.00	2.02
EXT 10% - EXT 5%	*	3.67	2.02
EXT 10% - REGENT	*	-8.00	2.02
EXT 20% - EXT 30%		-1.33	2.02
EXT 20% - EXT 40%	*	-3.00	2.02
EXT 20% - EXT 5%	*	6.67	2.02
EXT 20% - REGENT	*	-5.00	2.02
EXT 30% - EXT 40%		-1.67	2.02
EXT 30% - EXT 5%	*	8.00	2.02
EXT 30% - REGENT	*	-3.67	2.02
EXT 40% - EXT 5%	*	9.67	2.02
EXT 40% - REGENT		-2.00	2.02
EXT 5% - REGENT	*	-11.67	2.02

**Leyenda:** CN: Control Negativo  
 REGENT: Control positivo  
 (\*) Indica una diferencia significativa.

Según la investigación realizada por Machaca Vargas Victoria, evaluó la efectividad de distintos insecticidas en el control de trips (*Thrips tabaci*) en el cultivo de cebolla cultivar SIVAN en el PROTER-SAMA. Se utilizaron cuatro insecticidas Epingle 10 EC (pyriproxyfen a una dosis 15 ml x 20 l), Provado combi (Betacyfluthrin + Imidacloprid a una dosis 50 ml x 20 l), Regent (Fipronil a una dosis 30 ml x 20 l) y Furia (zetacipermetrina a una dosis 30 ml x 20 l). La mayor efectividad en las siete aplicaciones, se obtuvieron con los tratamientos Provado combi y Regent, sin embargo Epingle 10 EC y Furia no tuvieron una efectividad significativa. <sup>58</sup>

## B) DESPUES DE 48 HORAS DE APLICACION

En la Tabla N° 8 se observa que el extracto más eficiente que obtuvo mayor mortandad contra éstos insectos adultos después de 48 horas de aplicación fue al 40% (P/V) con un 96.67%, seguido al 30% (P/V) con un 90%, luego el 20% (P/V) con un 85%, el 10% (P/V) con un 66.67% y el 5% (P/V) con 48.33% , en comparación al control positivo (Regent a una concentración 1mL/L) que es el 100% de mortandad de insectos (Anexo N°5).

**TABLA N° 8: DATOS ESTADISTICOS DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 48 HORAS**

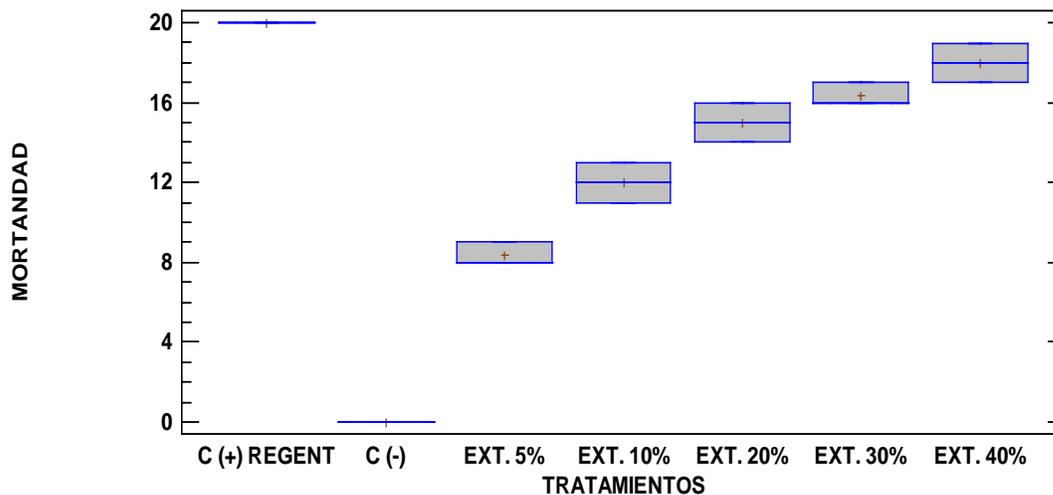
	TOTAL DE INSECTOS (N)	ADULTOS MUERTOS EXT. 5%	ADULTOS MUERTOS EXT. 10%	ADULTOS MUERTOS EXT. 20%	ADULTOS MUERTOS EXT. 30%	ADULTOS MUERTOS EXT. 40%	ADULTOS MUERTOS CONTROL NEGATIVO	ADULTOS MUERTOS CONTROL POSITIVO
	20	9	13	18	18	19	0	20
	20	10	13	16	18	20	0	20
	20	10	14	17	18	19	0	20
<b>PROMEDIO</b>		9.67	13.33	17.00	18.00	19.33	0.00	20.00
<b>DESV.ST</b>		0.58	0.58	1.00	0.00	0.58	0.00	0.00
<b>CV</b>		5.97	4.33	5.88	0.00	2.99	0.00	0.00
<b>% MORTANDAD</b>		48.33	66.67	85.00	90.00	96.67	0.00	100.00

**Fuente: Elaboración propia**

Se procedió a realizar un análisis estadístico ANOVA (Tabla N°9) en los Softwares Statgraphics Centurion y Excel 2010. En este sentido apreciamos que los siete grupos experimentales difieren entre sí, el F-experimental es de 533.06 y un valor de  $p < 0.05$ , por lo tanto se concluye que se rechaza la hipótesis nula que asume que los grupos experimentales no difieren entre sí, aceptándose entonces la hipótesis alternativa la cual asume que los grupos experimentales si son estadísticamente diferentes. De igual manera se puede observar la diferencia estadística en la Figura N° 6 por caja de bigotes.

**TABLA N° 9: ANOVA DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 48 HORAS**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	913.81	6	152.20	533.06	0.00
Intra grupos	4.0	14	0.29		
Total (Corr.)	917.81	20			



**FIGURA N° 6: COMPARACION DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO CONTRA LOS ADULTOS A LAS 48 HORAS**

Debido a que el ANOVA solo nos informa la diferencia estadística entre los grupos y no de manera específica; aplicamos una prueba estadística de comparación múltiple (Tukey) en el Software Statgraphics Centurion. Por lo cual se puede observar que hay diferencia significativa en los tratamientos, excepto entre los pares de tratamientos de los extractos al 20% y 30%, 30% y 40% , 40% y el control positivo (Regent a una concentración 1mL/L) al 95% de nivel de confianza tratados con los adultos de *Thrips tabaci L.* después de 48 horas de aplicación a escala de laboratorio (Tabla N° 10).

**TABLA N°10: METODO TUKEY DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO  
ACUOSO CONTRA LOS ADULTOS A LAS 48 HORAS**

<i>Tratamientos</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
C (-)	3	0.00	X
EXT. 5%	3	9.67	X
EXT. 10%	3	13.33	X
EXT. 20%	3	17.00	X
EXT. 30%	3	18.00	XX
EXT. 40%	3	19.33	XX
C (+) REGENT	3	20.00	X

**Leyenda:** CN: Control Negativo  
REGENT: Control positivo

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
CN - EXT 10%	*	-13.33	1.49
CN - EXT 20%	*	-17.00	1.49
CN - EXT 30%	*	-18.00	1.49
CN - EXT 40%	*	-19.33	1.49
CN - EXT 5%	*	-9.67	1.49
CN - REGENT	*	-20.00	1.49
EXT 10% - EXT 20%	*	-3.67	1.49
EXT 10% - EXT 30%	*	-4.67	1.49
EXT 10% - EXT 40%	*	-6.00	1.49
EXT 10% - EXT 5%	*	3.67	1.49
EXT 10% - REGENT	*	-6.67	1.49
EXT 20% - EXT 30%		-1.00	1.49
EXT 20% - EXT 40%	*	-2.33	1.49
EXT 20% - EXT 5%	*	7.33	1.49
EXT 20% - REGENT	*	-3.00	1.49
EXT 30% - EXT 40%		-1.33	1.49
EXT 30% - EXT 5%	*	8.33	1.49
EXT 30% - REGENT	*	-2.00	1.49
EXT 40% - EXT 5%	*	9.67	1.49
EXT 40% - REGENT		-0.67	1.49
EXT 5% - REGENT	*	-10.33	1.49

**Leyenda:** CN: Control Negativo  
REGENT: Control positivo  
(\* ) Indica una diferencia significativa.

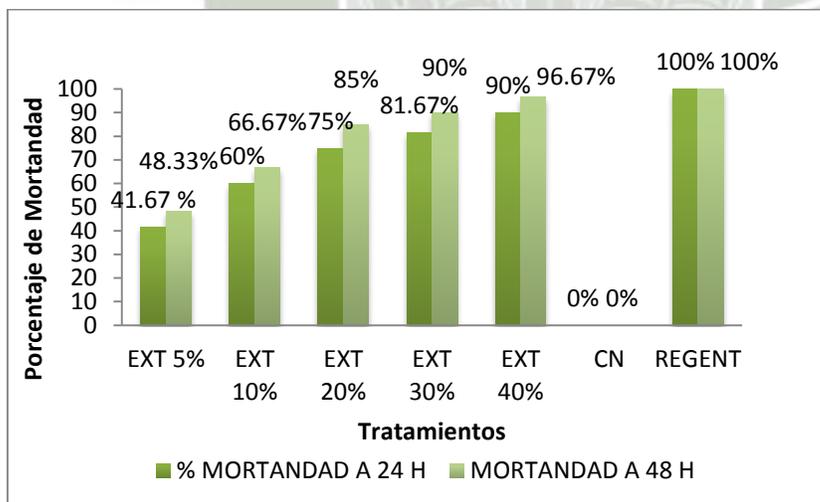
### 3.5 COMPARACION ENTRE LOS DIAS DE APLICACION DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS EN EL CONTROL DE ADULTOS

En la Tabla N° 11 y la Figura N° 7, se puede observar diferencias entre un rango de 6.66- 10% de efectividad entre los porcentajes de mortandad a las 24 y 48 horas aplicados de los tratamientos de extractos acuoso de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) en el control de adultos de *Thrips Tabaci Lindeman* a escala de laboratorio.

**TABLA N° 11: COMPARACION ENTRE LOS DIAS DE APLICACION DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS EN EL CONTROL DE ADULTOS**

TRATAMIENTOS	% MORTANDAD A 24 H	% MORTANDAD A 48 H	DIFERENCIA (%)
EXT 5%	41.67	48.33	6.66
EXT 10%	60.00	66.67	6.67
EXT 20%	75.00	85.00	10.00
EXT 30%	81.67	90.00	8.33
EXT 40%	90.00	96.67	6.67
CN	0.00	0.00	0.00
REGENT	100.00	100.00	0.00

Fuente: Elaboración propia



**FIGURA N° 7: COMPARACION ENTRE LOS DIAS DE APLICACION DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS EN EL CONTROL DE ADULTOS**

En una investigación realizada por Vargas R. se evaluaron cuatro insecticidas químicos, y uno orgánico para el control de trips en la cebolla Granex 429, fueron Talcord (Permetrina a dosis 1 mL/L), Regent (fipronil a dosis de 0.62 mL/L), Sunfire (Clorfenapir a dosis 1 mL/L), Spintor (Spinosad a dosis 10mL/L), Protek (Aceites orgánicos a dosis de 10 mL/L). El insecticida Regent (fipronil) y Talcord fueron eficaces en reducir las poblaciones de trips en forma evidente (3.34 y 3.35 trips por hoja, respectivamente). En segundo lugar en términos de eficacia estuvieron los insecticidas Spintor y Sunfire (5.78 y 7.46 trips por hoja, respectivamente) lo cual estuvo acompañado de una reducción de la cosecha aún mayor. El insecticida orgánico Protek no tuvo ningún efecto en reducir la población de trips.<sup>97</sup>

### 3.6 CONCENTRACION LETAL 50 (CL<sub>50</sub>) DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS EN EL CONTROL DE ADULTOS

En la Tabla N° 12, se observa el porcentaje de mortandad en adultos de *Thrips tabaci* Lindeman empleados en diferentes concentraciones de los extractos acuosos de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi).

Se utilizaron cinco concentraciones: 5% (P/V), 10% (P/V), 20% (P/V), 30% (P/V), y 40% (P/V), también 20 insectos adultos para cada concentración, los ensayos fueron realizados por triplicado. Para hallar la CL<sub>50</sub> se utilizó el Software Excel 2010, según el siguiente modelo matemático:

$$\text{MODELO MATEMATICO} = \frac{1}{(1 + \exp(2.1126 - 2.5147 * A12))}$$

**TABLA N° 12: CONCENTRACION LETAL 50 (CL<sub>50</sub>) DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS EN EL CONTROL DE ADULTOS**

Concentración (%)	Log Concentración	% Mortandad	Mortandad	Modelo	SSR
5	0.6990	41.57	0.4157	0.4122	0.0000
10	1.0000	60.00	0.6000	0.5992	0.0000
20	1.3010	75.00	0.7500	0.7612	0.0001
30	1.4771	81.67	0.8167	0.8323	0.0002
40	1.6021	90.00	0.9000	0.8717	0.0008
					$\Sigma = 0.0012$

La concentración letal 50 (CL<sub>50</sub>) según el modelo matemático corresponde 6.92% (P/V) con límite de confianza mínimo de 6.40% y máximo de 7.43% , es decir que para alcanzar un 50% de mortalidad en los adultos de *Thrips tabaci Lindeman*, es necesario una concentración de 6.92% (P/V) del extracto acuoso de semillas *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi).

### **3.7 DETERMINACION DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS SEMILLAS DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) EN EL CONTROL DE LARVAS DE *Thrips tabaci Lindeman* A ESCALA DE LABORATORIO**

#### **A) DESPUES DE 24 HORAS DE APLICACION**

En la Tabla N°13 se puede observar la cantidad de larvas muertas de *Thrips tabaci L.* empleados en diferentes tratamientos, teniendo en cuenta que al inicio cada tratamiento fueron de veinte larvas. El extracto acuoso más eficiente fue el 40% (P/V) con un 93.33% de mortandad de éstos insectos, seguido del 30% (P/V) con un 83.33%, luego el 20% (P/V) con un 78.33%, el 10% (P/V) con un 66.67% y con 41.67% para el extracto al 5% (P/V), en comparación al control positivo (Regent a una concentración 1mL/L) que es el

100% de mortandad contra las larvas de *Thrips tabaci* L después de 24 horas de aplicación a escala de laboratorio (Anexo N° 6).

**TABLA N°13: DATOS ESTADISTICOS DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE LARVAS**

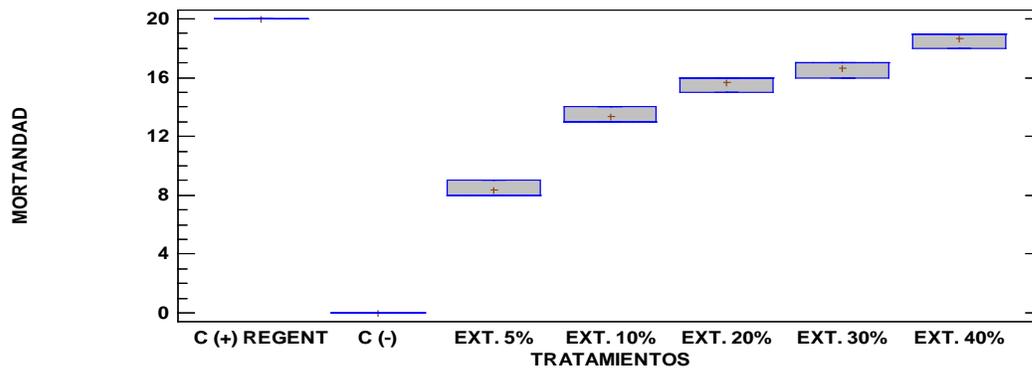
TOTAL DE INSECTOS (N)	LARVAS MUERTAS EXT. 5%	LARVAS MUERTAS EXT. 10%	LARVAS MUERTAS EXT. 20%	LARVAS MUERTAS EXT. 30%	LARVAS MUERTAS EXT. 40%	LARVAS MUERTAS CONTROL NEGATIVO	LARVAS MUERTAS CONTROL POSITIVO
20	8	13	15	17	18	0	20
20	9	14	16	16	19	0	20
20	8	13	16	17	19	0	20
PROMEDIO	8.33	13.33	15.67	16.67	18.67	0.00	20.00
DESV.ST	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.00	0.00
CV (COEF.VARIAC.)	6.93	4.33	3.69	3.46	3.09	0.00	0.00
% MORTANDAD	41.67	66.67	78.33	83.33	93.33	0.00	100.00

**Fuente: Elaboración propia**

Se procedió a realizar un análisis estadístico ANOVA (Tabla N°14) en los Softwares Statgraphics Centurion y Excel 2010. En este sentido apreciamos que los siete grupos experimentales difieren entre sí, el F-experimental es de 613.53 y un valor de  $p < 0.05$ , por lo tanto se concluye que se rechaza la hipótesis nula que asume que los grupos experimentales no difieren entre sí, aceptándose entonces la hipótesis alternativa la cual asume que los grupos experimentales si son estadísticamente diferentes. De igual manera se puede observar la diferencia estadística en la Figura N°8 por caja de bigotes.

**TABLA N°14: ANOVA DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 24 HORAS**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	876.48	6	146.08	613.53	0.00
Intra grupos	3.33	14	0.24		
Total (Corr.)	879.81	20			



**FIGURA N° 8: COMPARACION DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 24 HORAS**

Debido a que el ANOVA solo nos informa la diferencia estadística entre los grupos y no de manera específica; aplicamos una prueba estadística de comparación múltiple (Tukey) en el Software Statgraphics Centurion. Por lo cual se puede observar que hay diferencia significativa en los tratamientos, excepto entre los pares de tratamientos de los extractos 20% y 30% , 40% y el control positivo (Regent) al 95% de nivel de confianza tratados con las larvas de *Thrips tabaci* L. después de 24 horas de aplicación a escala de laboratorio (Tabla N° 15).

En el trabajo de investigación realizado por Jimenez L., evaluó siete insecticidas, en cuatro rotaciones, fueron evaluados para el control de trips (*Thrips tabaci*) en el cultivo de la cebolla cultivar Mercedes. Utilizó Nomolt 15 SC (teflubenzuron a dosis 200 mL/ ha), Malathion 57 (dosis de 1.3 L/ha), Spintor 12 SC (Spinosad a dosis de 350 mL/ha), Regent 20 SC ( Fipronilo a dosis 200 mL/ha), Sunfire (Clorfenapir a dosis 400 mL/ha), Cymbush 25 (Cypermetrina a dosis 400 mL/ha), Lannate (dosis 350 g/ha). Los siete insecticidas en sus diferentes rotaciones fueron efectivos en el manejo de las poblaciones de trips a niveles que no afectaron significativamente los rendimientos, pero en la rotación en donde se involucró el fipronilo (Regent 20 SC) se hizo el menor número de aplicaciones, por lo que se puede concluir que la rotación de fipronilo (Regent 20 SC) con teflubenzuron (Nomolt) y malathion fue la más efectiva en el control de trips.<sup>43</sup>

**TABLA N°15: METODO TUKEY DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 24 HORAS**

<i>TRATAMIENTOS</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
C (-)	3	0	X
EXT. 5%	3	8.33	X
EXT. 10%	3	13.33	X
EXT. 20%	3	15.67	X
EXT. 30%	3	16.67	X
EXT. 40%	3	18.67	X
C (+) REGENT	3	20.0	X

**Leyenda:** CN: Control Negativo  
REGENT: Control positivo

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
C (+) REGENT - C (-)	*	20.00	1.36
C (+) REGENT - EXT. 10%	*	6.67	1.36
C (+) REGENT - EXT. 20%	*	4.33	1.36
C (+) REGENT - EXT. 30%	*	3.33	1.36
C (+) REGENT - EXT. 40%		1.33	1.36
C (+) REGENT - EXT. 5%	*	11.67	1.36
C (-) - EXT. 10%	*	-13.33	1.36
C (-) - EXT. 20%	*	-15.67	1.36
C (-) - EXT. 30%	*	-16.67	1.36
C (-) - EXT. 40%	*	-18.67	1.36
C (-) - EXT. 5%	*	-8.33	1.36
EXT. 10% - EXT. 20%	*	-2.33	1.36
EXT. 10% - EXT. 30%	*	-3.33	1.36
EXT. 10% - EXT. 40%	*	-5.33	1.36
EXT. 10% - EXT. 5%	*	5.00	1.36
EXT. 20% - EXT. 30%		-1.00	1.36
EXT. 20% - EXT. 40%	*	-3.00	1.36
EXT. 20% - EXT. 5%	*	7.33	1.36
EXT. 30% - EXT. 40%	*	-2.00	1.36
EXT. 30% - EXT. 5%	*	8.33	1.36
EXT. 40% - EXT. 5%	*	10.33	1.36
EXT 40% - REGENT		-1.33	1.36
EXT 5% - REGENT	*	-11.67	1.36

**Leyenda:** CN: Control Negativo REGENT: Control positivo  
(\* ) Indica una diferencia significativa.

## B) DESPUES DE 48 HORAS DE APLICACION

En la Tabla N° 16, se observa la cantidad de larvas muertas de *Thrips tabaci* L. empleados en diferentes tratamientos, teniendo en cuenta que al inicio cada tratamiento fueron de veinte larvas.

El extracto acuoso más eficiente fue el 40% (P/V) con un 100% de mortandad, seguido del 30% (P/V) con un 90%, luego el 20% (P/V) con un 86.67%, el 10% (P/V) con un 76.67% y con 50% para el extracto al 5% (P/V), en comparación al control positivo (Regent a 1mL/L) que es el 100% de mortandad contra las larvas de *Thrips tabaci* L. después de 48 horas de aplicación a escala de laboratorio ( Anexo N° 6).

**TABLA N° 16: DATOS ESTADISTICOS DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 48 HORAS**

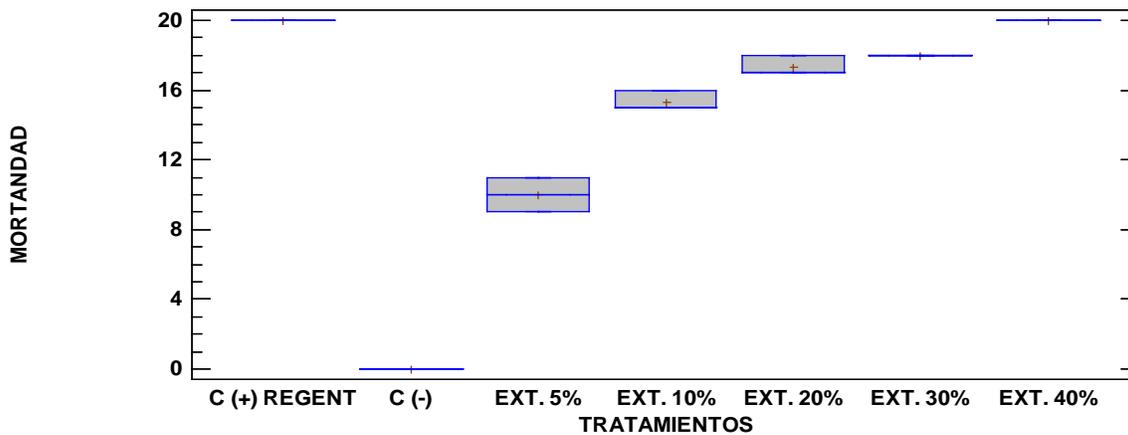
TOTAL DE INSECTOS (N)	LARVAS MUERTAS EXT. 5%	LARVAS MUERTAS EXT. 10%	LARVAS MUERTAS EXT. 20%	LARVAS MUERTAS EXT. 30%	LARVAS MUERTAS EXT. 40%	LARVAS MUERTAS CONTROL NEGATIVO	LARVAS MUERTAS CONTROL POSITIVO
20	9	15	17	18	20	0	20
20	11	16	18	18	20	0	20
20	10	15	17	18	20	0	20
<b>PROMEDIO</b>	10.00	15.33	17.33	18.00	20.00	0.00	20.00
<b>DESV.ST</b>	1.00	0.57	0.58	0.00	0.00	0.00	0.00
<b>CV</b>	10.00	3.77	3.33	0.00	0.00	0.00	0.00
<b>% MORTANDAD</b>	50.00	76.67	86.67	90.00	100.00	0.00	100.00

Se procedió a realizar un análisis estadístico ANOVA (Tabla N°17) en los Softwares Statgraphics Centurion y Excel 2010. En este sentido apreciamos que los siete grupos experimentales difieren entre sí, el F-experimental es de 654.93 y un valor de  $p < 0.05$ , por lo tanto se concluye que se rechaza la hipótesis nula que asume que los grupos experimentales no difieren entre sí, aceptándose entonces la hipótesis alternativa la cual

asume que los grupos experimentales si son estadísticamente diferentes . De igual manera se puede observar la diferencia estadística en la Figura N° 9 por caja de bigotes.

**TABLA N°17: ANOVA DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 48 HORAS**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	935.62	6	155.94	654.93	0.00
Intra grupos	3.33	14	0.24		
Total (Corr.)	938.95	20			



**FIGURA N° 9: COMPARACION DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO CONTRA LAS LARVAS A LAS 48 HORAS**

Debido a que el ANOVA solo nos informa la diferencia estadística entre los grupos y no de manera específica; aplicamos una prueba estadística de comparación múltiple (Tukey) en el Software Statgraphics Centurion. Por lo cual se puede observar que hay diferencia significativa en los tratamientos, excepto entre los pares de tratamientos de los extractos al 20% y 30%, 40% y el control positivo (Regent) al 95% de nivel de confianza tratados con las larvas de *Thrips tabaci* L. después de 48 horas de aplicación a escala de laboratorio (Tabla N° 18).

**TABLA N° 18: METODO TUKEY DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO  
ACUOSO CONTRA LAS LARVAS A LAS 48 HORAS**

<i>TRATAMIENTOS</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
C (-)	3	0	X
EXT. 5%	3	10.00	X
EXT. 10%	3	15.33	X
EXT. 20%	3	17.33	X
EXT. 30%	3	18.00	X
EXT. 40%	3	20.00	X
C (+) REGENT	3	20.00	X

**Leyenda:** CN: Control Negativo  
REGENT: Control positivo

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
CN - EXT 10%	*	-15.33	1.36
CN - EXT 20%	*	-17.33	1.36
CN - EXT 30%	*	-18.00	1.36
CN - EXT 40%	*	-20.00	1.36
CN - EXT 5%	*	-10.00	1.36
CN - REGENT	*	-20.00	1.36
EXT 10% - EXT 20%	*	-2.00	1.36
EXT 10% - EXT 30%	*	-2.67	1.36
EXT 10% - EXT 40%	*	-4.67	1.36
EXT 10% - EXT 5%	*	5.33	1.36
EXT 10% - REGENT	*	-4.67	1.36
EXT 20% - EXT 30%		-0.67	1.36
EXT 20% - EXT 40%	*	-2.67	1.36
EXT 20% - EXT 5%	*	7.33	1.36
EXT 20% - REGENT	*	-2.67	1.36
EXT 30% - EXT 40%	*	-2.00	1.36
EXT 30% - EXT 5%	*	8.00	1.36
EXT 30% - REGENT	*	-2.00	1.36
EXT 40% - EXT 5%	*	10.00	1.36
EXT 40% - REGENT		0.00	1.36
EXT 5% - REGENT	*	-10.00	1.36

**Leyenda:** CN: Control Negativo  
REGENT: Control positivo  
(\* ) Indica una diferencia significativa.

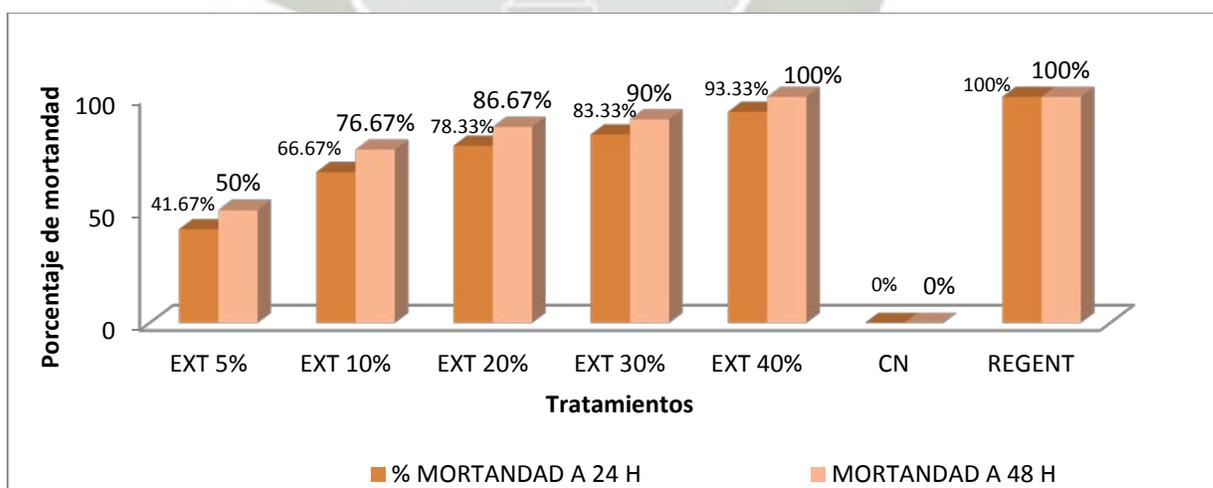
### 3.8 COMPARACION POR DIAS DE APLICACIÓN DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS EN EL CONTROL DE LARVAS A ESCALA DE LABORATORIO

En la Tabla N° 19 y la Figura N° 10, se puede observar diferencias entre un rango de 3.33- 10% de efectividad entre los porcentajes de mortandad a las 24 y 48 horas aplicados de los tratamientos del extracto acuoso de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) en el control de larvas de *Thrips Tabaci Lindeman* a escala de laboratorio (Anexo N° 6).

**TABLA N°19: COMPARACION POR DIAS DE APLICACION DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS EN EL CONTROL DE LARVAS**

TRATAMIENTOS	% MORTANDAD A 24 H	% MORTANDAD A 48 H	DIFERENCIA (%)
EXT 5%	41.67	50.00	8.33
EXT 10%	66.67	76.67	10.00
EXT 20%	76.67	86.67	10.00
EXT 30%	86.67	90.00	3.33
EXT 40%	90.00	100.00	10.00
CN	0.00	0.00	0.00
REGENT	100.00	100.00	0.00

Fuente: Elaboración propia



**FIGURA N° : COMPARACION POR DIAS DE APLICACION DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS EN EL CONTROL DE LARVAS**

En el trabajo de investigación de Khaliq, evaluaron la efectividad de tres insecticidas botánicos (neem, datura y manzana amarga), y tres insecticidas químicos sintéticos (acefato, espirotetramat y espinetoram) contra Trips de la cebolla (*Thrips tabaci*). Concluyendo que todos los productos botánicos e insecticidas químicos probados causaron reducciones significativas (45-70%) en las poblaciones de Trips; los botánicos dieron el control de más del 60% de los Trips, mientras que entre los insecticidas químicos, acefato se encontró que era el más eficaz seguido por spirotetramat y spinetoram, respectivamente, y estos insecticidas dieron un mejor control de los botánicos. <sup>45</sup>

### 3.9 CONCENTRACION LETAL 50 (CL<sub>50</sub>) DEL EXTRACTO ACUOSO EN EL CONTROL DE LARVAS A ESCALA DE LABORATORIO

En la Tabla N°20, se observa el porcentaje de mortandad de las larvas de *Thrips tabaci* L. empleados en diferentes concentraciones de los extractos acuoso de *Lupinus mutabilis* sweet (Tarwi), a escala de laboratorio.

Se utilizaron cinco concentraciones: 5% (P/V), 10% (P/V), 20% (P/V), 30% (P/V), y 40% (P/V), también 20 insectos larvas para cada concentración, los ensayos fueron realizados por triplicado. Para hallar la CL<sub>50</sub> se utilizó el Software Excel 2010, según el siguiente modelo matemático:

$$\text{MODELO MATEMATICO} = \frac{1}{(1 + \exp(2.1126 - 2.5147 * A12))}$$

**TABLA N° 20: CONCENTRACION LETAL 50 (CL<sub>50</sub>) DEL EXTRACTO ACUOSO EL CONTROL DE LARVAS A ESCALA DE LABORATORIO**

Concentración (%)	Log Concentración	% Mortandad	Mortandad	Modelo	SSR
5	0.6990	41.67	0.4167	0.4307	0.0002
10	1.0000	66.67	0.6667	0.6352	0.0010
20	1.3010	78.33	0.7833	0.8003	0.0003
30	1.4771	83.33	0.8333	0.8672	0.0011
40	1.6021	93.33	0.9333	0.9022	0.0010
					$\Sigma = 0.0036$

La concentración letal 50 (CL<sub>50</sub>) según el modelo matemático corresponde 6.31% (P/V) con límite mínimo de 5.805 y máximo de 6.82%, es decir que para alcanzar un 50% de mortalidad de las larvas de *Thrips tabaci* Lindeman, es necesario una concentración de 6.31% (P/V) del extracto acuoso de semillas *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi).

Según Bussman (2011), en su trabajo de investigación de Toxicidad de plantas medicinales usados en la medicina tradicional en el Norte del Perú, concluyó que el *Lupinus mutabilis Sweet* (Chocho) tiene una concentración letal 50 (CL<sub>50</sub>) de 4.74 ug/mL en extracto acuoso, haciendo la salvedad que el estudio fue hecho utilizando nauplios de *Artemia salina*.<sup>9</sup>

### **3.10 DETERMINACION DEL EFECTO BIOCIDA DE LOS ALCALOIDES TOTALES EXTRAIDOS DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS SEMILLAS DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) EN EL CONTROL DE ADULTOS DE *Thrips tabaci* Lindeman A ESCALA DE LABORATORIO**

### A) DESPUES DE 24 HORAS DE APLICACION

Después de extraer los alcaloides totales, se cuantificaron y se utilizaron cinco tratamientos: Tratamiento A (176.86 ppm), tratamiento B (88.43 ppm), tratamiento C (35.37ppm), tratamiento D (17.68 ppm) y el tratamiento E (8.84 ppm) (Anexo N°7).

En la Tabla N° 21, se observa la cantidad de adultos muertos de *Thrips tabaci* L. empleados en diferentes tratamientos, teniendo en cuenta que al inicio de cada tratamiento fueron de veinte adultos.

El tratamiento más eficiente fue el A (176.86 ppm) con un 90% de mortandad de insectos, seguido del B (88.43 ppm) con un 46.67%, luego el C (35.37ppm) con un 36.67%, el D (17.68 ppm) con un 18.33% y el E (8.84 ppm) con 6.67% , en comparación al control positivo (Regent a 1mL/L) que es el 100% de mortandad contra los adultos de *Thrips tabaci* L. después de 24 horas de aplicación a escala de laboratorio (Anexo N° 8).

**TABLA N° 21: DATOS ESTADISTICOS DEL EFECTO BIOCIDA DE LOS ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 24 HORAS**

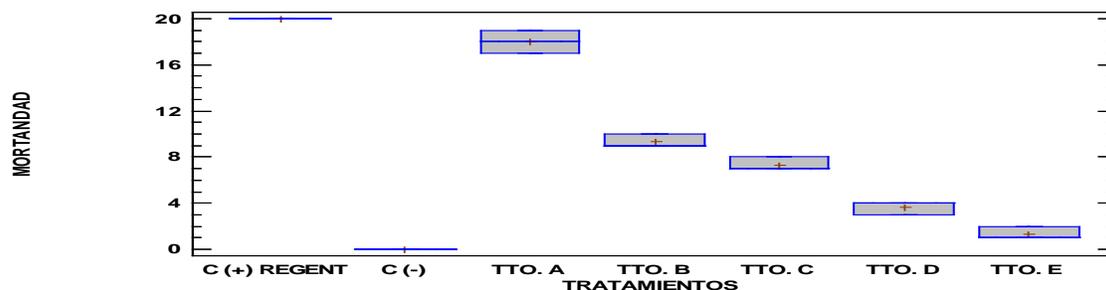
TOTAL DE INSECTOS (N)	MUERTOS ADULTOS TTO. A (176.86 ppm)	MUERTOS ADULTOS TTO. B (88.43 ppm)	MUERTOS ADULTOS TTO. C (35.37ppm)	MUERTOS ADULTOS TTO. D (17.68 ppm)	MUERTOS ADULTOS TTO. E (8.84 ppm)	MUERTOS ADULTOS CONTROL NEGATIVO	MUERTOS ADULTOS CONTROL POSITIVO
20	18	10	8	4	1	0	20
20	17	9	7	3	2	0	20
20	19	9	7	4	1	0	20
<b>PROMEDIO</b>	18.00	9.33	7.33	3.67	1.33	0.00	20.00
<b>DESV.ST</b>	1.00	0.58	0.58	0.58	0.58	0.00	0.00
<b>CV</b>	5.56	6.19	7.87	15.75	43.30	0.00	0.00
<b>% MORTANDAD</b>	90.00	46.67	36.67	18.33	6.67	0.00	100.00

**Fuente: Elaboración propia**

Se procedió a realizar un análisis estadístico ANOVA (Tabla N° 22) en los Softwares Statgraphics Centurion y Excel 2010. En este sentido apreciamos que los siete grupos experimentales difieren entre sí, el F-experimental es de 557.29 y un valor de  $p < 0.05$ , por lo tanto se concluye que se rechaza la hipótesis nula que asume que los grupos experimentales no difieren entre sí, aceptándose entonces la hipótesis alternativa la cual asume que los grupos experimentales si son estadísticamente diferentes. De igual manera se puede observar la diferencia estadística en la Figura N° 11 por caja de bigotes.

**TABLA N° 22: ANOVA DEL EFECTO BIOCIDA DE LOS ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 24 HORAS**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1114.57	6	185.76	557.29	0.00
Intra grupos	4.67	14	0.33		
Total (Corr.)	1119.24	20			



**FIGURA N° 11: COMPARACION DEL EFECTO BIOCIDA DE LOS ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 24 HORAS**

Debido a que el ANOVA solo nos informa la diferencia estadística entre los grupos y no de manera específica; aplicamos una prueba estadística de comparación múltiple (Tukey) en el Software Statgraphics Centurion. Por lo cual se puede observar que hay diferencia significativa en los tratamientos, excepto entre el par de tratamiento E (8.84 ppm) y el control negativo al 95% de nivel de confianza tratados con los adultos de *Thrips tabaci L.* después de 24 horas de aplicación a escala de laboratorio (Tabla N° 23).

**TABLA N° 23: METODO DE TUKEY DEL EFECTO BIOCIDA DE LOS  
ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 24 HORAS**

<i>TRATAMIENTOS</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
C (-)	3	0	X
TTO. E	3	1.33	X
TTO. D	3	3.67	X
TTO. C	3	7.33	X
TTO. B	3	9.33	X
TTO. A	3	18.00	X
C (+) REGENT	3	20.00	X

**Legenda:** CN: Control Negativo      REGENT: Control positivo

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
C (+) REGENT - C (-)	*	20.000	1.61
C (+) REGENT - TTO. A	*	2.00	1.61
C (+) REGENT - TTO. B	*	10.67	1.61
C (+) REGENT - TTO. C	*	12.67	1.61
C (+) REGENT - TTO. D	*	16.33	1.61
C (+) REGENT - TTO. E	*	18.67	1.61
C (-) - TTO. A	*	-18.00	1.61
C (-) - TTO. B	*	-9.33	1.61
C (-) - TTO. C	*	-7.33	1.61
C (-) - TTO. D	*	-3.67	1.61
C (-) - TTO. E	*	-1.33	1.61
TTO. A - TTO. B	*	8.67	1.61
TTO. A - TTO. C	*	10.67	1.61
TTO. A - TTO. D	*	14.33	1.61
TTO. A - TTO. E	*	16.67	1.61
TTO. B - TTO. C	*	2.00	1.61
TTO. B - TTO. D	*	5.67	1.61
TTO. B - TTO. E	*	8.00	1.61
TTO. C - TTO. D	*	3.67	1.61
TTO. C - TTO. E	*	6.00	1.61
TTO. D - TTO. E	*	2.33	1.61

**Legenda:** CN: Control Negativo      REGENT: Control positivo

(\*) Indica una diferencia significativa.

## B) DESPUES DE 48 HORAS DE APLICACION

En la Tabla N° 24, se observa la cantidad de adultos muertos de *Thrips tabaci* L. empleados en diferentes tratamientos, teniendo en cuenta que al inicio cada tratamiento fueron de veinte adultos (Anexo N° 8).

El tratamiento más eficiente fue el A (176.86 ppm) con un 95.00% de mortandad de insectos, luego el B (88.43 ppm) con un 76.67%, el C (35.37ppm) con un 50% , el D (17.68 ppm) con un 23.33% y el tratamiento E (8.84 ppm) con 10.00 % de mortandad de insectos en comparación al control positivo (Regent a 1mL/L) que es el 100% de mortandad contra los adultos de *Thrips tabaci* L. después de 48 horas de aplicación a escala de laboratorio (Anexo N° 8).

**TABLA N° 24: DATOS ESTADISTICOS DEL EFECTO BIOCIDA DE LOS ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 48 HORAS**

TOTAL DE INSECTOS (N)	MUERTOS ADULTOS TTO. A (176.86 ppm)	MUERTOS ADULTOS TTO. B (88.43 ppm)	MUERTOS ADULTOS TTO. C (35.37ppm)	MUERTOS ADULTOS TTO. D (17.68 ppm)	MUERTOS ADULTOS TTO. E (8.84 ppm)	MUERTOS ADULTOS CONTROL NEGATIVO	MUERTOS ADULTOS CONTROL POSITIVO
20	19	15	11	5	2	0	20
20	18	16	9	4	2	0	20
20	20	15	10	5	2	0	20
PROMEDIO	19.00	15.33	10.00	4.67	2.00	0.00	20.00
DESV.ST	1.00	0.58	1.00	0.58	0.00	0.00	0.00
CV	5.26	3.77	10.00	12.37	0.00	0.00	0.00
% MORTANDAD	95.00	76.67	50.00	23.33	10.00	0.00	100.00

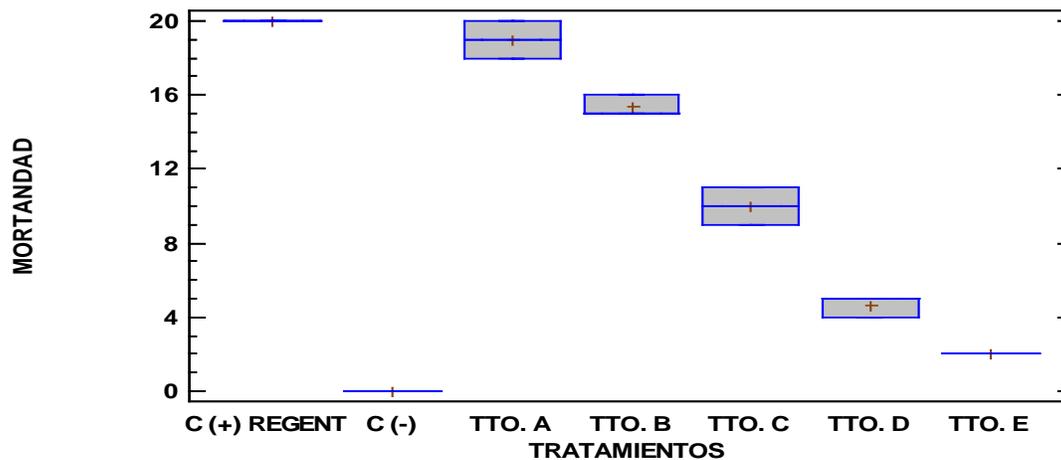
**Fuente: Elaboración propia**

Se procedió a realizar un análisis estadístico ANOVA (Tabla N°25) en los Softwares Statgraphics Centurion y Excel 2010. En este sentido apreciamos que los siete grupos experimentales difieren entre sí, el F-experimental es de 527.29 y un valor de  $p < 0.05$ ,

por lo tanto se concluye que se rechaza la hipótesis nula que asume que los grupos experimentales no difieren entre sí, aceptándose entonces la hipótesis alternativa la cual asume que los grupos experimentales si son estadísticamente diferentes . De igual manera se puede observar la diferencia estadística en la Figura N° 12 por caja de bigotes.

**TABLA N° 25: ANOVA DEL EFECTO BIOCIDA DE LOS ALCALOIDES  
TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 48 HORAS**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1205.24	6	200.87	527.29	0.00
Intra grupos	5.33	14	0.38		
Total (Corr.)	1210.57	20			



**FIGURA N° 12: COMPARACION DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES  
TOALES EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 48 HORAS**

Debido a que el ANOVA solo nos informa la diferencia estadística entre los grupos y no de manera específica; aplicamos una prueba estadística de comparación múltiple (Tukey) en el Software Statgraphics Centurion. Por lo cual se puede observar que hay diferencia significativa en los tratamientos, excepto entre el par de tratamiento A (176.86 ppm) y el

control positivo (Regent 1mL/L) al 95% de nivel de confianza tratados con los adultos de *Thrips tabaci* L. después de 48 horas de aplicación a escala de laboratorio (Tabla N° 26).

**TABLA N°26: METODO TUKEY DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES  
TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS A LAS 48 HORAS**

<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>Casos</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
C (-)	3	0.00	X
TTO. E	3	2.00	X
TTO. D	3	4.67	X
TTO. C	3	10.00	X
TTO. B	3	15.33	X
TTO. A	3	19.00	X
C (+) REGENT	3	20.00	X

**Legenda:** CN: Control Negativo      REGENT: Control positivo

<b>Contraste</b>	<b>Sig.</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límites</b>
C (+) REGENT - C (-)	*	20.00	1.72
C (+) REGENT - TTO. A		1.0000	1.72
C (+) REGENT - TTO. B	*	4.67	1.72
C (+) REGENT - TTO. C	*	10.00	1.72
C (+) REGENT - TTO. D	*	15.33	1.72
C (+) REGENT - TTO. E	*	18.00	1.72
C (-) - TTO. A	*	-19.00	1.72
C (-) - TTO. B	*	-15.33	1.72
C (-) - TTO. C	*	-10.00	1.72
C (-) - TTO. D	*	-4.67	1.72
C (-) - TTO. E	*	-2.00	1.72
TTO. A - TTO. B	*	3.67	1.72
TTO. A - TTO. C	*	9.00	1.72
TTO. A - TTO. D	*	14.33	1.72
TTO. A - TTO. E	*	17.00	1.72
TTO. B - TTO. C	*	5.33	1.72
TTO. B - TTO. D	*	10.67	1.72
TTO. B - TTO. E	*	13.33	1.72
TTO. C - TTO. D	*	5.333	1.72
TTO. C - TTO. E	*	8.00	1.72
TTO. D - TTO. E	*	2.67	1.72

**Legenda:** CN: Control Negativo      REGENT: Control positivo  
(\* ) Indica una diferencia significativa.

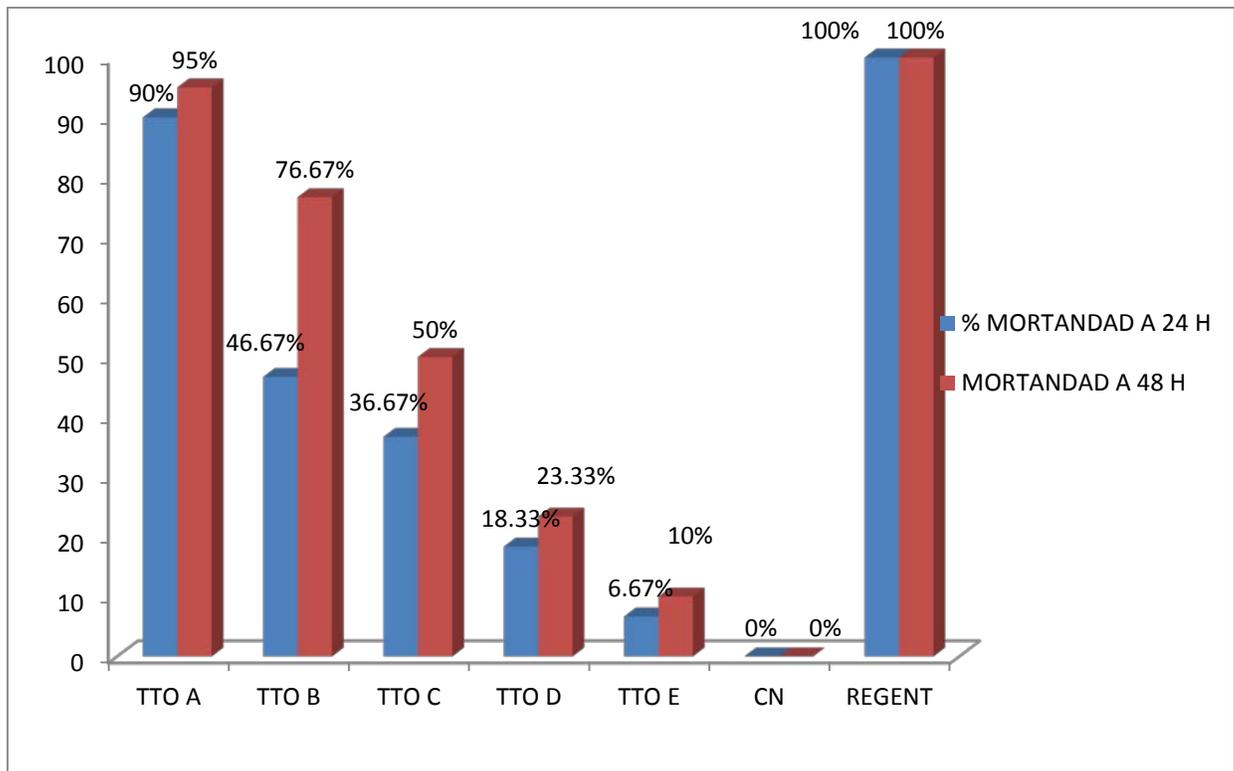
Según Villacrés y colaboradores demostraron el extracto crudo de alcaloides obtenidos a partir del grano, en concentraciones de 20, 10 y 5 mg/mL, resultó efectivo en el control antifúngico de *Mycrosporium canis* y *Trichophytom rubrum*, actividad manifestada en el halo de crecimiento inferior al 25 %, en relación al control negativo (tratamiento sin alcaloides. También demostraron su efecto nematicida con los extractos de chocho con 2% de alcaloides y los de mashua (*Tropaseolum tuberosum* R. y P.) con 4.12% de isotiocianatos, presentaron propiedades nematicidas, provocando la mortalidad del 93.3 y 96.7 % de larvas *Melidogyne incognita* expuestas, respectivamente.<sup>99</sup>

### 3.11 COMPARACION POR DIAS DE APLICACION DE LOS ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS

En la Tabla N° 27 y la Figura N° 13, se puede observar diferencias entre un rango de 3.33 - 30% de efectividad entre los porcentajes de mortandad a las 24 y 48 horas aplicados de los tratamientos de alcaloides totales extraídos del extractos acuoso de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) en el control de adultos de *Thrips Tabaci Lindeman* a escala de laboratorio.

**TABLA N° 27: COMPARACION POR DIAS DE APLICACION DE LOS DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS**

TRATAMIENTOS	% MORTANDAD A 24 H	% MORTANDAD A 48 H	DIFERENCIA (%)
TTO A	90.00	95.00	5.00
TTO B	46.67	76.67	30.00
TTO C	36.67	50.00	13.33
TTO D	18.33	23.33	5.00
TTO E	6.67	10.00	3.33
CN	0.00	0.00	0.00
REGENT	100.00	100.00	0.00



**FIGURA N° 13: COMPARACION POR DIAS DE APLICACION DE LOS ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS**

### 3.12 CONCENTRACION LETAL 50 (CL<sub>50</sub>) DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES EXTRAIDOS EN EL CONTROL DE ADULTOS

En la Tabla N° 28, se observa el porcentaje de mortandad de los adultos de *Thrips tabaci* L. empleados en diferentes concentraciones de los alcaloides totales del extracto acuoso de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) expresados en ppm de lupanina. Para hallar la CL<sub>50</sub> se utilizó el Software Excel 2010, según el siguiente modelo matemático:

$$MODELO MATEMATICO = \frac{1}{(1 + \exp(5.3247 - 2.9467 * A12))}$$

**TABLA N° 28: CONCENTRACION LETAL 50 (CL<sub>50</sub>) DE ALCALOIDES  
TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS**

Concentración (%)	Log Concentración	% Mortandad	Mortandad	Modelo	SSR
176.86	2.2476	90.00	0.9000	0.7856	0.0131
88.43	1.9466	46.67	0.4667	0.6014	0.0181
35.37	1.5486	36.67	0.3667	0.3184	0.0023
17.68	1.2475	18.33	0.1833	0.1613	0.0005
8.84	0.9465	6.67	0.0667	0.0734	0.0000
					$\Sigma = 0.0341$

La concentración letal 50 (CL<sub>50</sub>) según el modelo matemático corresponde 64.12 ppm con un límite mínimo de 63.61 ppm y máximo de 64.63 ppm, es decir que para alcanzar un 50% de mortalidad de los adultos de *Thrips tabaci* Lindeman, es necesario una concentración de 64.12 ppm de los alcaloides totales extraídos del extracto acuoso de semillas *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) expresados como lupanina.

Los alcaloides de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi), no inhiben la germinación de las semillas de cereales y leguminosas. Mediante ensayos de germinación realizados en semilleros y bajo invernadero, se determinó que las soluciones acuosas de alcaloides quinolizidínicos a concentraciones de 1.3, 2.3 y 3.3%, utilizadas como agua de riego, no afectan la capacidad ni el poder de germinación de las semillas de haba, fréjol, cebada y maíz, sin embargo el tamaño de las plantas disminuye en función de la concentración de alcaloides. Utilizaron indicadores biológicos *Artemia salina* "Grado A" y alevines de trucha de la especie *Salmo gairdnerii*, se determinó para los extractos alcaloidales, una dosis letal media (DL<sub>50</sub>) de 473.88 ppm y 589.54 ppm respectivamente. Esta última dosis afecta indistintamente a truchas de diferentes edades (2, 4 y 6 meses), causando irritación de las

mucosas tanto externas como internas, problemas respiratorio, movimientos incoordinados, reacciones de huida, manifestaciones paralíticas y finalmente la muerte. <sup>99</sup>

### 3.13 DETERMINACION DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES EXTRAIDOS DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS SEMILLAS DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) EN EL CONTROL DE LARVAS DE *Thrips tabaci* Lindeman

#### A) DESPUES DE 24 HORAS DE APLICACION

En la Tabla N° 29, se observa la cantidad de larvas muertas de *Thrips tabaci* L. empleados en diferentes tratamientos de alcaloides totales, teniendo en cuenta que cada tratamiento al inicio fueron de veinte larvas (Anexo N° 9).

El tratamiento más eficiente el A (176.86 ppm) con un 96.67%, luego el B (88.43 ppm) con un 80.0%, el C (35.37 ppm) con un 66.67% , el D (17.68 ppm) con un 43.33% y para el E (8.84 ppm) con 33.33 % de mortandad de insectos, en comparación al control positivo (Regent a una concentración de 1 mL/L) que es el 100% de mortandad contra las ninfas de *Thrips tabaci* L. después de 24 horas de aplicación a escala de laboratorio (Anexo N° 9).

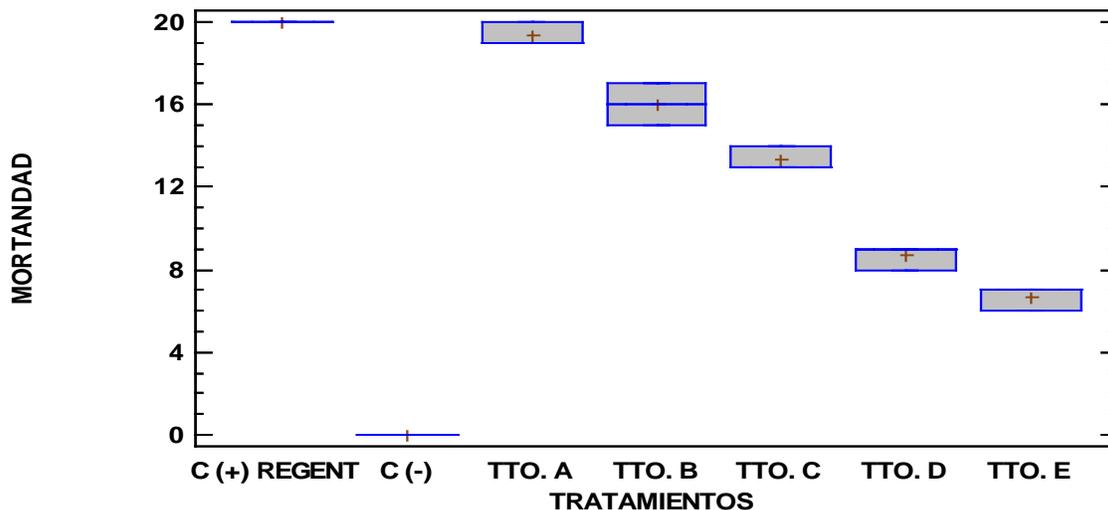
**TABLA N° 29: DATOS ESTADISTICOS DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 24 HORAS**

TOTAL DE INSECTOS (N)	MUERTOS LARVAS TTO. A (176.86 ppm)	MUERTOS LARVAS TTO. B (88.43 ppm)	MUERTOS LARVAS TTO. C (35.37ppm)	MUERTOS LARVAS TTO. D (17.68 ppm)	MUERTOS LARVAS TTO. E (8.84 ppm)	MUERTOS LARVAS CONTROL NEGATIVO	MUERTOS LARVAS CONTROL POSITIVO
20	19	16	14	9	7	0	20
20	20	15	13	8	6	0	20
20	19	17	13	9	7	0	20
<b>PROMEDIO</b>	19.33	16.00	13.33	8.67	6.67	0.00	20.00
<b>DESV.ST</b>	0.57	1.00	0.58	0.58	0.58	0.00	0.00
<b>CV</b>	2.99	6.25	4.33	6.66	8.66	0.00	0.00
<b>% MORTANDAD</b>	96.67	80.00	66.67	43.33	33.33	0.00	100.00

Se procedió a realizar un análisis estadístico ANOVA (Tabla N°30) en los Software Statgraphics Centurion y Excel 2010. En este sentido apreciamos que los siete grupos experimentales difieren entre sí, el F-experimental es de 478.67 y un valor de  $p < 0.05$ , por lo tanto se concluye que se rechaza la hipótesis nula que asume que los grupos experimentales no difieren entre sí, aceptándose entonces la hipótesis alternativa la cual asume que los grupos experimentales si son estadísticamente diferentes. De igual manera se puede observar la diferencia estadística en la Figura N°14 por caja de bigotes.

**TABLA N° 30: ANOVA DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 24 HORAS**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	957.33	6	159.56	478.67	0.0000
Intra grupos	4.67	14	0.33		
Total (Corr.)	962.00	20			



**FIGURA N° 14: COMPARACION DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 24 HORAS**

Debido a que el ANOVA solo nos informa la diferencia estadística entre los grupos y no de manera específica; aplicamos una prueba estadística de comparación múltiple (Tukey) en el Software Statgraphics Centurion. Por lo cual se puede observar que hay diferencia significativa en los tratamientos, excepto entre el par de tratamiento A (176.86 ppm) y el control positivo (Regent) al 95% de nivel de confianza tratados con los larvas de *Thrips tabaci* L. después de 24 horas de aplicación a escala de laboratorio (Tabla N° 31).

**TABLA N° 31: METODO TUKEY DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 24 HORAS**

<i>TRATAMIENTOS</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
C (-)	3	0.00	X
TTO. E	3	6.67	X
TTO. D	3	8.67	X
TTO. C	3	13.33	X
TTO. B	3	16.00	X
TTO. A	3	19.33	X
C (+) REGENT	3	20.00	X

**Leyenda:** CN: Control Negativo  
REGENT: Control positivo

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
C (+) REGENT - C (-)	*	20.00	1.61
C (+) REGENT - TTO. A		0.67	1.61
C (+) REGENT - TTO. B	*	4.00	1.61
C (+) REGENT - TTO. C	*	6.67	1.61
C (+) REGENT - TTO. D	*	11.33	1.61
C (+) REGENT - TTO. E	*	13.33	1.61

C (-) - TTO. A	*	-19.33	1.61
C (-) - TTO. B	*	-16.00	1.61
C (-) - TTO. C	*	-13.33	1.61
C (-) - TTO. D	*	-8.67	1.61
C (-) - TTO. E	*	-6.67	1.61
TTO. A - TTO. B	*	3.33	1.61
TTO. A - TTO. C	*	6.00	1.61
TTO. A - TTO. D	*	10.67	1.61
TTO. A - TTO. E	*	12.67	1.61
TTO. B - TTO. C	*	2.67	1.61
TTO. B - TTO. D	*	7.33	1.61
TTO. B - TTO. E	*	9.33	1.61
TTO. C - TTO. D	*	4.67	1.61
TTO. C - TTO. E	*	6.67	1.61
TTO. D - TTO. E	*	2.00	1.61

**Leyenda:** CN: Control Negativo  
 REGENT: Control positivo  
 (\*) Indica una diferencia significativa

## B) DESPUES DE 48 HORAS DE APLICACION

En la Tabla N° 32, se observa la cantidad de larvas muertas de *Thrips tabaci* L. empleados en diferentes tratamientos de alcaloides totales, teniendo en cuenta que cada tratamiento al inicio fueron de veinte larvas (Anexo N°9).

El tratamiento más eficiente fue el A (176.86 ppm) con un 100%, luego el B (88.43 ppm) con un 91.67%, el C (35.37 ppm) con un 75% de mortandad, el D (17.68 ppm) con un 51.67% y para el tratamiento E (8.84 ppm) con 33.33 % de mortandad de insectos, en comparación al control positivo (Regent a una concentración de 1 mL/L) que es el 100% de

mortandad contra las larvas de *Thrips tabaci* L. después de 48 horas de aplicación a escala de laboratorio (Anexo N° 9).

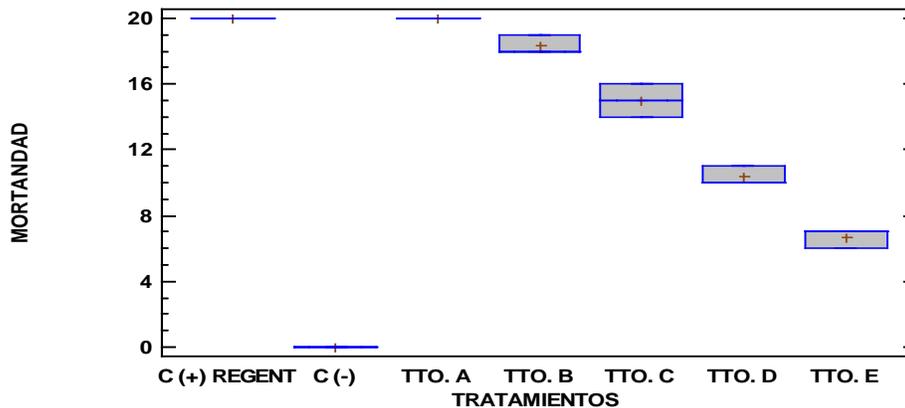
**TABLA N° 32: DATOS ESTADISTICOS DEL EFECTO BIOCIDA DE  
ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 48 HORAS**

TOTAL DE INSECTOS (N)	MUERTOS LARVAS TTO. A (176.86 ppm)	MUERTOS LARVAS TTO. B (88.43 ppm)	MUERTOS LARVAS TTO. C (35.37ppm)	MUERTOS LARVAS TTO. D (17.68 ppm)	MUERTOS LARVAS TTO. E (8.84 ppm)	MUERTOS LARVAS CONTROL NEGATIVO	MUERTOS LARVAS CONTROL POSITIVO
20	20	19	16	11	7	0	20
20	20	18	14	10	6	0	20
20	20	18	15	10	7	0	20
<b>PROMEDIO</b>	20.00	18.33	15.00	10.33	6.67	0.00	20.00
<b>DESV.ST</b>	0.00	0.58	1.00	0.58	0.58	0.00	0.00
<b>CV</b>	0.00	3.15	6.67	5.59	8.66	0.00	0.00
<b>% MORTANDAD</b>	100.00	91.67	75.00	51.67	33.33	0.00	100.00

Se procedió a realizar un análisis estadístico ANOVA (Tabla N°33) en los Software Statgraphics Centurion y Excel 2010. En este sentido apreciamos que los siete grupos experimentales difieren entre sí, el F-experimental es de 606.56 y un valor de  $p < 0.05$ , por lo tanto se concluye que se rechaza la hipótesis nula que asume que los grupos experimentales no difieren entre sí, aceptándose entonces la hipótesis alternativa la cual asume que los grupos experimentales si son estadísticamente diferentes. De igual manera se puede observar la diferencia estadística en la Figura N°15 por caja de bigotes.

**TABLA N°33: ANOVA DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES  
EN EL CONTROL DE LARVAS A LAS 48 HORAS**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1039.81	6	173.30	606.56	0.00
Intra grupos	4.00	14	0.29		
Total (Corr.)	1043.81	20			



**FIGURA N° 15: COMPARACION DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES CONTRA LARVAS A LAS 48 HORAS**

Debido a que el ANOVA solo nos informa la diferencia estadística entre los grupos y no de manera específica; aplicamos una prueba estadística de comparación múltiple (Tukey) en el Software Statgraphics Centurion. Por lo cual se puede observar que hay diferencia significativa en los tratamientos, excepto entre el par de tratamiento A (176.86 ppm) y el control positivo (Regent a concentración 1mL/L) al 95% de nivel de confianza tratados con las larvas de *Thrips tabaci* L. después de 48 horas de aplicación a escala de laboratorio (Tabla N° 34).

**TABLA N°34: METODO TUKEY DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES CONTRA LARVAS A LAS 48 HORAS**

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C (-)	3	0	X
TTO. E	3	6.67	X
TTO. D	3	10.33	X
TTO. C	3	15.00	X
TTO. B	3	18.33	X
TTO. A	3	20.00	X
C (+) REGENT	3	20.00	X

**Leyenda:** CN: Control Negativo  
REGENT: Control positivo

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
C (+) REGENT - C (-)	*	20.00	1.49
C (+) REGENT - TTO. A		0.00	1.49
C (+) REGENT - TTO. B	*	1.67	1.49
C (+) REGENT - TTO. C	*	5.00	1.49
C (+) REGENT - TTO. D	*	9.67	1.49
C (+) REGENT - TTO. E	*	13.33	1.49
C (-) - TTO. A	*	-20.00	1.49
C (-) - TTO. B	*	-18.33	1.49
C (-) - TTO. C	*	-15.00	1.49
C (-) - TTO. D	*	-10.33	1.49
C (-) - TTO. E	*	-6.67	1.49
TTO. A - TTO. B	*	1.67	1.49
TTO. A - TTO. C	*	5.00	1.49
TTO. A - TTO. D	*	9.67	1.49
TTO. A - TTO. E	*	13.33	1.49
TTO. B - TTO. C	*	3.33	1.49
TTO. B - TTO. D	*	8.00	1.49
TTO. B - TTO. E	*	11.67	1.49
TTO. C - TTO. D	*	4.67	1.49
TTO. C - TTO. E	*	8.33	1.49
TTO. D - TTO. E	*	3.67	1.49

**Leyenda:** CN: Control Negativo  
REGENT: Control positivo  
(\* ) Indica una diferencia significativa

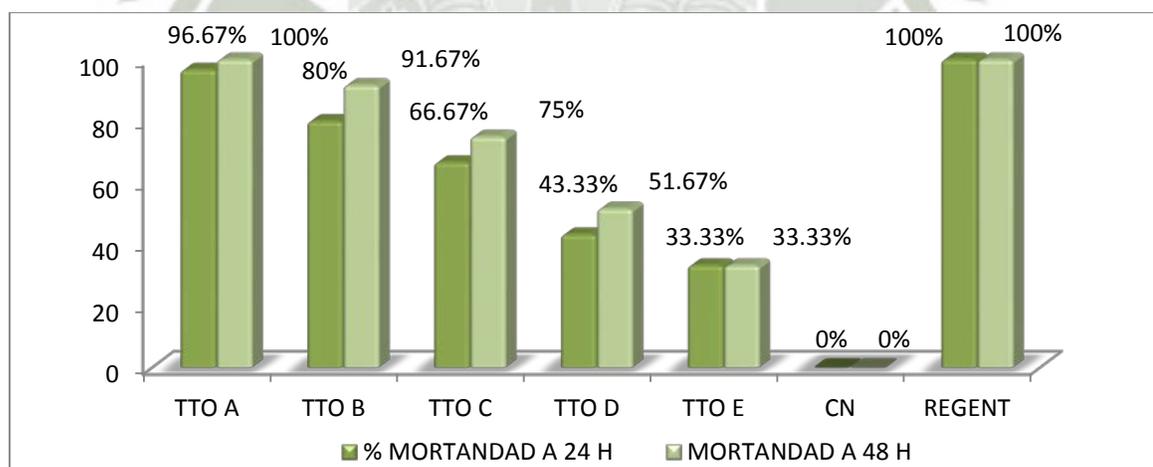
### 3.14 COMPARACION POR DIAS DE APLICACION DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS

En la Tabla N° 35 y la Figura N° 16, se puede observar diferencias entre un rango de de 3.33 – 11.67 % de efectividad entre los porcentajes de mortandad a las 24 y 48 horas aplicados de los tratamientos de alcaloides totales extraídos del extracto acuoso de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) en el control de larvas de *Thrips Tabaci Lindeman* a escala de

laboratorio. También se observa que el tratamiento E (8.84 ppm) no aumenta su porcentaje de mortandad a las 48 horas de aplicación a diferencia de los otros tratamientos.

**TABLA N° 35: COMPARACION POR DIAS DE APLICACION DE  
ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS**

TRATAMIENTOS	% MORTANDAD A 24 H	% MORTANDAD A 48 H	DIFERENCIA (%)
TTO A	96.67	100.00	3.33
TTO B	80.00	91.67	11.67
TTO C	66.67	75.00	8.33
TTO D	43.33	51.67	8.34
TTO E	33.33	33.33	0.00
CN	0.00	0.00	0.00
REGENT	100.00	100.00	0.00



**FIGURA N° 16: COMPARACION POR DIAS DE APLICACION DE  
ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS**

### 3.15 CONCENTRACION LETAL 50 (CL<sub>50</sub>) DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS

En la Tabla N° 36, se observa el porcentaje de mortandad de las larvas de *Thrips tabaci* L. empleados en diferentes concentraciones de los alcaloides totales del extracto acuoso de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) expresados en ppm de lupanina. La CL<sub>50</sub> se realizó en el Software Excel 2010, según el siguiente modelo matemático:

$$\text{MODELO MATEMATICO} = \frac{1}{(1 + \exp(3.1671 - 2.4522 * A12))}$$

**TABLA N° 36: CONCENTRACION LETAL 50 (CL<sub>50</sub>) DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS**

Concentración (%)	Log Concentración	% Mortandad	Mortandad	Modelo	SSR
176.86	2.2476	96.67	0.9667	0.9125	0.0029
88.43	1.9466	80	0.8	0.8329	0.0011
35.37	1.5486	66.67	0.6667	0.6526	0.0002
17.68	1.2475	43.33	0.4333	0.4730	0.0016
8.84	0.9465	33.33	0.3333	0.3002	0.0011
					$\Sigma = 0.0069$

La concentración letal 50 (CL<sub>50</sub>) según el modelo matemático corresponde 19.57 ppm con límite mínimo de 19.01 ppm y máximo de 20.08 ppm, es decir que para alcanzar un 50% de mortalidad de las ninfas de *Thrips tabaci* Lindeman, es necesario una concentración de 19.57 ppm de los alcaloides totales extraídos del extracto acuoso de semillas *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) expresados como lupanina.

## CONCLUSIONES

1. La concentración del extracto acuoso de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) más eficiente en el control de insectos adultos de *Thrips tabaci L.* fue el de una concentración de 40% (P/V) que originó una mortandad de 96.67 %, seguida del 30% (P/V) con 90% y el 20% (P/V) con 85% de mortandad de éstos insectos después de 48 horas de aplicación. En el control de larvas de *Thrips tabaci L.*, fue a la concentración de 40% (P/V) con un 100 %, seguida del 30% (P/V) con 90% y el 20% (P/V) con 86.67% de mortandad de éstos insectos después de 48 horas de aplicación a escala de laboratorio.
2. Se cuantificaron los alcaloides totales extraídos del extracto acuoso de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi), obteniéndose 0.2690 g% expresados como Lupanina en la primera hora de extracción, con un 0.1783 g % de Lupanina en la segunda hora de extracción y con 0.0547 g% de Lupanina en la tercera extracción.
3. La concentración letal media (CL<sub>50</sub>) del extracto acuoso de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) en el control de adultos de *Thrips tabaci L.* fue de 6.92% (P/V) y en el control de larvas fue de 6.31% (P/V).
4. El tratamiento más eficiente de alcaloides totales extraídos del extracto acuoso de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) en el control de adultos de *Thrips tabaci L.* fue el A (176.86 ppm) que originó una mortandad de 95 % de mortandad de insectos, seguida del B (88.43 ppm) con 76.67% y el C (35.37 ppm) con 50.0% de mortandad de éstos insectos después de 48 horas de aplicación. En el control de larvas fue el A (176.86 ppm) con un 96.67 % de mortandad de insectos, seguida del B (88.43 ppm) con 80.0% y el C (35.37 ppm) con 66.67% de mortandad de éstos insectos después de 48 horas de aplicación a escala de laboratorio.

5. La concentración letal media ( $CL_{50}$ ) de alcaloides totales extraídos del extracto acuoso de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) en el control de adultos de *Thrips tabaci L.* fue de 64.12 ppm y para el control de larvas fue de 19.57 ppm.



## SUGERENCIAS

1. Efectuar aplicaciones tanto los alcaloides totales como del extracto acuoso de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) que presentan actividad biocida en cultivos que tengan la plaga de *Thrips tabaci* Lindeman.
2. Difundir los resultados obtenidos en esta investigación acerca de la actividad biocida del extracto acuoso de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) a los agricultores por ser métodos naturales de bajo costo y que contribuyen el desarrollo, cambio y evolución de la naturaleza, obteniéndose de esta manera productos con sello verde.
3. Realizar estudios de actividad biocida o antimicrobiana o antifúngica con otras plagas y/o enfermedades con el extracto acuoso y de los alcaloides totales extraídos de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi).

## BIBLIOGRAFIA

1. ACUÑA OSWALDO, CAIZA JIMENA, Obtención de hidrolizado enzimático de proteína de chocho (*Lupinus mutabilis*) a partir de harina integral”, Departamento de Ciencias de los Alimentos y Biotecnología, Revista Politécnica, 2010, Vol 29, 70-77
2. ANONIMO, “Uso de Insecticidas”, Revista Peruana Médica Exponencia de Salud Pública, 2008; 25(1): 74-100
3. ARANGO ACOSTA GABRIEL, “Alcaloides y Compuestos Nitrogenados”, Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquía, Medellín, 2008
4. BOLAÑOS HERRERA ALFREDO, “INTRODUCCION A LA OLERICULTURA ”, EN TEMA N° 9: LAS HORTALIZAS MAS IMPORTANTE DE LA FAMILIA DE LAS LILIACEAS, Primera Reimpresión, Editorial Universidad Estatal a Distancia San José, Costa Rica, 2001
5. BOLESLÇAW P. SALMANOWICZ, “Capillary electrophoresis of seed 2S albumins from *Lupinus* species”, Journal ELSEVIER of Chromatography A, 894 (2000) 297–310
6. BOSCHIN GIOVANNA, ARNOLDI ANNA, “Legumes are valuable sources of tocopherols”, Food Chemistry 127 (2011) 1199–1203
7. BROUGHTON SONYA, JESSICA HARRISON, “Evaluation of monitoring methods for thrips and the effect of trap colour and semiochemicals on sticky trap capture of thrips (Thysanoptera) and beneficial insects (Syrphidae, Hemerobiidae) in deciduous fruit trees in Western Australia”, Crop Protection 42 (2012) 156-163
8. BRUNETON, JEAN. “Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia”. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España, 1991.
9. BUSSMANN R., MALCA G., “Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru”, Journal of Ethnopharmacology 137, 2011, 121-140
10. CAHUINA DIJMAN Y TELLO ROSA MARIA, “Efecto pediculicida del extracto de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi), Universidad Católica de santa María , 2006
11. CARDENAS RUBIO, MONICA, “ Evaluación del grado de contaminación por plaguicidas organofosforados en cultivos de cebolla (*Alium fistulosum*) en suelo y agua

- de escorrentía en el corregimiento de la florida de la ciudad de Pereira”, Escuela de Química, Universidad Tecnológica de Pereira, 2014
12. CARVAJAL-LARENAS, “Modelling of the aqueous debittering process of *Lupinus mutabilis* Sweet”, *LWT- Food Science and Technology* 53 (2013) 507-516
  13. CARVAJAL-LARENAS, M. KOZIOL, “Consumer liking, purchase intent, and willingness to pay for *Lupinus mutabilis* Sweet in relation to debittering treatments”, *Food Quality and Preference* 40 (2015) 221–224
  14. CASTAÑEDA, C.; MANRIQUE M.R; “Evaluación del Efecto Antiinflamatorio del Extracto Acuoso de las Semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet (Tarwi, Chocho), en Animales de Experimentación”, Universidad San Martín de Porres, 2000
  15. CHANGO A., VILLAUME C., “Fractionation by thermal coagulation of lupin proteins: physicochemical characteristics”, *Food Research International*, Vol. 28, 91-95, 1995
  16. COÏSSON JEAN DANIEL A, MARCO ARLORIO, “The artificial intelligence-based chemometrical characterisation of genotype/chemotype of *Lupinus albus* and *Lupinus angustifolius* permits their identification and potentially their traceability”, *Food Chemistry* 129 (2011) 1806–1812
  17. COLOMA RAMIREZ JHOJANA, Tesis de “Evaluación in vitro de la Actividad Antifúngica de los Alcaloides del agua de cocción del proceso de desamargo del chocho (*Lupinus mutabilis* sweet)”, Ecuador, 2008
  18. COMITÉ DE ACCION PARA LA RESISTENCIA A LOS INSECTICIDAS, “Clasificación del Modo de Acción de Insecticidas y Acaricidas IRAC”, España, 2011.
  19. CONSORCIO ASECAL, s.l. y MERCURIO CONSULTORES, S.L. Contrato N°: 0.43/2007/LIR03/UE-PERU, Informe final del Proyecto de Cooperación UE-Perú en materia de asistencia técnica relativa al comercio, PENX 2003-2013
  20. DAWN EDWARDS A,B, JULIE A. HAWKINS, “Are Cape floral clades the same age? Contemporaneous origins of two lineages in the genistoids s.l. (Fabaceae)”, *Journal ELSEVIER, Molecular Phylogenetics and Evolution* 45 (2007) 952–970
  21. DEVINE GREGOR, DOMINIQUE EZA, “Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas”, *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2008; 25(1): 74-100

22. DE LA VEGA, M.P. GUTIERREZ, "Bactericide-like effect of Lupinus alkaloids " Journal ELSEVIER, Industrial Crops and products 5 (1996) 141-148
23. DIAZ-BAEZ MARIA CONSUELO, BUSTOS LOPEZ MARTHA, "Prueba de Toxicidad Acuática: fundamentos y métodos", Primera Edición, Bogotá, Colombia, 2004
24. DURANTI MARCELLO , CRISTINA GIUS, "Legume seeds: protein content and nutritional value", *Journal ELSEVIER, Universith di Milano, via Celoria, 2, 1-20133 Milano, Italy*, Field Crops Research 53 (1997) 31-45
25. EDUAR ORTEGA DAVID, TODRIGUEZ AIDA, "Caracterización de semillas de lupino (*Lupinus mutabilis*) sembrado en los Andes de Colombia", Colombia, 2010
26. FLAÑO I. ANDREA, "Demanda Mercado Nacional e Importación de hortalizas primores", ODEPA, Ministerio de Agricultura, 2013
27. GABRIEL JAIME ARANGO ACOSTA PHD, "Alcaloides y Compuestos nitrogenados", Universidad de Antioquia, Facultad de Química Farmacéutica *Medellín, junio de 2008*
28. GALVEZ RANILLA LENA, MARIA INES GENOVESE, "Isoflavones and antioxidant capacity of Peruvian and Brazilian lupin cultivars", *Journal of Food Composition and Analysis* 22 (2009) 397-404
29. GANZERA MARKUS, ANJA KRÜGERA, "Determination of quinolizidine alkaloids in different Lupinus species by NACE using UV and MS detection", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 53 (2010) 1231-1235
30. GARCMAHA-LOHPEZ, M. MUZQUIZ-, M. A. RUIZ-LOPEZ, J. F. ZAMORANATERA, C. BURBANO-, M. M. PEDROSA-, C. CUADRADO-, AND P. GARZOHN-DE LA MORA, "Chemical Composition and Fatty Acid Profile of Several Mexican Wild Lupins", México, *Journal of Food Composition and Analysis* (2001) 14, 645-651
31. GARZOHN-DE LA MORA-, J. BAÑUELOS PINEDA, "Chemical Composition and Antinutrient Content of three Lupinus Species from Jalisco, Mexico", *Journal of Food Composition and Analysis* (2000) 13, 193-199

32. GLENCROSS BRETT, MARK SWEETINGHAM, WAYNE HAWKINS, "A digestibility assessment of pearl lupin (*Lupinus mutabilis*) meals and protein concentrates when fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)", Journal ELSEVIER, Aquaculture 303 (2010) 59-64
33. GOODMAN y GILMAN, "Bases Farmacológicas de la Terapéutica", Editorial Interamericana 9º Edición, 1998.
34. GROOS, R. El cultivo y la utilización de tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*). FAO. Roma. pp. 150–156. 1982
35. GROSS, E. VON BAER, 'Chemical Composition of a New Variety of the Andean Lupin (*Lupinus mutabilis* cv. Inti R.) with Low-Alkaloid Content ', JOURNAL OF FOOD COMPOSITION AND ANALYSIS 1,353-36 I(1 988)
36. GUERRERO, M... Algunas propiedades y aplicaciones de los alcaloides del chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*). Memorias de los eventos de información y difusión de resultados de investigación sobre chocho y capacitación en nuevas técnicas de laboratorio. 1987
37. HATZOLD, T."Quinolizidine alkaloids in sedes of *Lupinus mutabilis*". J. Agric. Food Chem (1983) 934 -938)
38. HEINZ RUPP, FRITZ SAGER, MICHAEL STREULE, OTMAR ZOLLER, "Quinolizidine alkaloids and phomopsins in lupin sedes and lupin containing food ", Journal of Chromatography, 1112 (2006) 353–360
39. HOWIESONA,B,C, G.W. O'HARAA,C, S.J. CARRB,C, "Changing roles for legumes in Mediterranean agriculture: developments from an Australian perspective", Journal ELSEVIER, Australia, Field Crops Research 65 (2000) 107±122
40. JACEK K. PRZYBYLAK, DANUTA CIESIOLKA, WALERIA WYSOCKA, PEDRO M. GARCIA-LÓPEZ, MARIO A. RUIZ-LÓPEZ, WOJCIECH WYSOCKI, KRZYSZTOF GULEWICZ, " Alkaloid profiles of Mexican wild lupin and an effect of alkaloid preparation from *Lupinus exaltatus* seeds on growth and yield of paprika (*Capsicum annuum* L.), Journal ELSEVIER, Industrial Crops and Products 21 (2005) 1–7

41. JACOBSEN SVEN, MUJICA ANGEL, "El tarwi (*Lupinus mutabilis* sweet) y sus parientes silvestres, Botánica Económica de los Andes Centrales, Bolivia, 2006: 458-482.
42. JARRIN P., "Tratamiento de agua de desamargado del Chocho (*Lupinus mutabilis* sweet). Proveniente de la Planta Piloto de la Estación Santa Catalina INIAP. Tesis Doctor en Bioquímica y Farmacia, Riobamba- Ecuador, Escuela Superior de Chimborazo, Facultad de Ciencias, pp. 62-96, 2003
43. JIMENES, I., " Evaluación de Spintor 12 SC (spinosad), Regent 20 SC (fipronilo), Sunfire (clorfenapir) y Cymbush 25 (cypermetrina) en el control de trips (*Thrips tabaci*) en la cebolla amarilla", Fundación hondureña de investigación agrícola, Programa de Hortalizas, Honduras, 2000.
44. KANNY G, L. GUKRIN<sup>2</sup>, D.A. MONERET-VAUTRIN, "Le risque d'asthme aigu grave 21 la farine de lupin associb & l'allergie 6 l'arachide", Journal ELSEVIER, Rev MCd Iperne 2000 ; 21 : 191-4
45. KHALIQ ABDUL, AZHAR ABBAS KHAN, MUHAMMAD AFZAL, HAFIZ MUHAMMAD TAHIR, ABUBAKAR M. RAZA, ARIF MUHAMMAD KHAN, "Field evaluation of selected botanicals and commercial synthetic insecticides against *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) populations and predators in onion field plots", Journal ELSEVIER, Crop Protection 62 (2014) 10-15
46. LAMPART-SZCZAPAA ELEONORA, KORCZAKB JOZEF, "Antioxidant properties of lupin seed products", Food Chemistry 83 (2003) 279-285
47. LANATI SILVIO J. "Manual del Cultivo de Cebolla"; INTA
48. LARRAIN S. PATRICIA, "PLAGAS DE LA CEBOLLA "
49. LAWAL OLAYIDE S., "Functionality of African locust bean (*Parkia biglobosa*)
50. LOCK de UGAZ, Olga. "Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de Productos Naturales", 2da Edición, Fondo editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, 1994.
51. LOPEZ CRESPO GINESA ANA, "Efectos agudos y demorados del clorpirifos en tres modelos de ansiedad", Universidad Almería Amazon, 2005.

52. LOPEZ DE ROMANA GUILLERMO, GEORGE G. GRAHAM ENRIQUE MORALES, ENRIQUE MASSA' AND WILLIAM C. MACLEAN, "Protein Quality and Oil Digestibility of *Lupinus mutabilis*: *Metabolic Studies in Children*"; *University, Baltimore, MD 21205*, *Journal Nutrition* 113: 773-778, 1983.
53. LOPEZ GARCIMHA, M. MUZQUIZ-, "Chemical Composition and Fatty Acid Profile of Several Mexican Wild Lupins", *Journal of food composition and analysis* (2001) 14, 645-651
54. LOPEZ VELARDE ALEJANDRO, ONOFRE CHINO VIVIANA, ARAGON GRACIA AUSTIN, "Técnica de Laboratorio para la cría de *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: THIRIPIDAE). Publicación especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. pp. 327-336, 2007
55. LOPEZ BELLIDO et col, "Growth and yield of white lupin (*Lupinus albus*) under Mediterranean conditions: effect of sowing date" Volume 36, Issue 2, February 1994, Pages 87-94
56. LQARI, J. VIOQUE, J. PEDROCHE, F. MILLAN, "Interaction of *Lupinus angustifolius* L  $\alpha$  and  $\gamma$  conglutinins with 13-hydroperoxide-11.9-octadecadienoic acid, *Journal ELSEVIER, Food Chemistry* 80 (2003) 517-523
57. LQARI, J. VIOQUE, "Lupinus angustifolius protein isolates: chemical composition, functional properties and protein characterization", *Food Chemistry* 76 (2002) 349-356
58. MACHACA VARGAS VICTORIA, "Comparación de efectividad de distintos insecticidas en el control de "Trips" *Thrips tabaci* l., en el cultivo de cebolla (*Allium cepa* l.) Cultivar Sivan, en el PROTER -SAMA, Tacna, 2012.
59. MAHÉ FRÉDÉRIC, MARKOVA DRAGOMIRA, "Isolation, phylogeny and evolution of the SymRK gene in the legume genus *Lupinus* L.", *Molecular Phylogenetics and Evolution* 60 (2011) 49-61
60. MAHMOUD A. AL-QUDAH, "Chemical composition of the essential oil from Jordanian *Lupinus varius* L.", *Arabian Journal of Chemistry* (2013) 6, 225-227
61. MANIANIA, S.SITHANANTHAM, S.EKESI, K.AMPONG-NYARKO, "A field trial of the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae* for control of onion thrips, *Thrips tabaci*", *Science direct, Crop Protection* 22 (2003) 553-559

62. MARTINEZ-VILLALUENGA, J. FRIAS, C. VIDAL-VALVERDE, "Functional lupin seeds (*Lupinus albus* L. and *Lupinus luteus* L.) after extraction of a-galactosides", *Food Chemistry* 98 (2006) 291–299
63. MENDEZ LEMA ELSA ESTELA, "Elaboración, Control de Calidad y Evaluación in vivo" de la actividad antibacteriana de un Gel obtenido del Extracto Alcaloidal del Chocho", Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador, 2008
64. MIANO ALBERTO CLAUDIO, GARCÍA JORGE ARMANDO, "Correlation between morphology, hydration kinetics and mathematical models on Andean lupin (*Lupinus mutabilis* Sweet) grains", *LWT – Food Science and Technology* 61 (2015) 290-298
65. MICHAEL WINK,\*~" CARSTEN MEIBNER, "Patterns of quinolizidine alkaloids in 56 species of the genus *lupinus*", *Phytochemistry*, Vol. 38, No. 1, pp. 139-153, 1995
66. MIKIĆ, ĆUPINA, "Intercropping white (*Lupinus albus*) and Andean (*Lupinus mutabilis*) lupins with other annual cool season legumes for forage production", *South African Journal of Botany* 89 (2013) 296–300
67. MINGQIAN SUN, JIANXUN LIUN, "Alkaloid profiling of the traditional Chinese medicine *Rhizoma corydalis* using high performance liquid chromatography-tandem quadrupole time-of-flight mass spectrometry", Chinese Pharmaceutical Association, 2014
68. MOLINA POVEDA CESAR, LUCAS MARIELA, "Evaluación of the potential of Andean lupin meal (*Lupinus mutabilis* sweet) as an alternative to fish meal in juvenile *Litopenaeus vannamei* diets", *Aquaculture* 410-411, 2013, 148-156.
69. MUSQUIZ M, BURRANO C. et col., "Determinación de Factores Antinutritivos Termorresistentes en Leguminosas. I. Alcaloides", *Investigación Agrícola, Producción Protegida Vegetal*, Vol. 8(3), 1993
70. MUZQUIZ MERCEDES, CELIA DE LA CUADRA, "Herbicide-like effect of Lupinus alkaloids", *Industrial Crops and Products* 2 (1994) 273-280
71. NETO ALEXANDRE T., OLIVEIRA CAROLINA Q., "Quinolizidine alkaloids from *Lupinus lanatus*", *Journal of Molecular Structure* 1004 (2011) 174–177

72. OLIVARES MARY, TLC Perú - Costa Rica: Beneficios para frutas y hortalizas peruanas , Revista de Inteligencia de Mercados, PROMPERU, Edición N° 9, Diciembre, 2011
73. ORTEGA DAVID, et col. "Caracterización de semillas lupino (*Lupinus mutabilis*) sembrado en los Andes de Colombia", Universidad de Nariño, Pasto, Colombia, 2010
74. PERCIVALA GLYNN C., JON BANKSA, IAN KEARYB, "Evaluation of organic, synthetic and physical insecticides for the control of horse chestnut leaf miner (*Cameraria ohridella*)", Journal ELSEVIER, Urban Forestry & Urban Greening 11 (2012) 426– 431
75. PRZYBY1 ANNA K., MACIEJ KUBICKI, "Simple and highly efficient preparation and characterization of ( )-lupanine and (β)-sparteine", Tetrahedron 67 (2011) 7787-7793
76. PRZYBYLAK JACEK K., DANUTA CIESIOŁKA, "Alkaloid profiles of Mexican wild lupin and an effect of alkaloid preparation from *Lupinus exaltatus* seeds on growth and yield of paprika (*Capsicum annum L.*)", Industrial Crops and Products 21 (2005) 1–7
77. RAMIREZ DENIS, "Control de Trips o Piojillos y Gusanos de la Cebolla", Hoja Técnica del Programa de Hortalizas, Fundación Hondureña de Investigación Agrícola, lima, Marzo, 2003
78. REINA M. et col, "Bioactive saturated pyrrolizidine alkaloids from *Heliotropium floridum*", Phytochemistry, Pergamon, Vol 66, N°5 pp 845-855
79. REINHARD HANS, HEINZ RUPP, FRITZ SAGER, "Quinolizidine alkaloids and phomopsins in lupin seeds and lupin containing food", Journal of Chromatography A, 1112 (2006) 353–360
80. RODRIGUEZ AMBRIZ, MARTINEZ et col., "Composition and Functional Properties of *Lupinus campestris* Protein Isolates", Journal of Plant Foods for Human Nutrition, September 2005, Volume 60, Issue 3, pp 99-107
81. ROERSCH C. Plantas Medicinales en el Sur Andino del Perú. Koeltz. Scientific Book Konigstein. Holanda. 1994.

82. SALAS J., MORALES G., MENDOZA O., "Biología y hábitos de vida de *Thrips tabaci* Lindeman Thysanoptera: Thripidae en cebolla *Allium cepa* L. , Agronomía Tropical. 43(3-4): 173-183.1993
83. SALAZAR-ANTÓN WILBER, TOMÁS DE JESÚS GUZMÁN-HERNÁNDEZ, "Efecto nematocida de extractos de *Quassia amara* y *Brugmansia suaveolens* sobre *Meloidogyne* sp. asociado al tomate en Nicaragua", *Agronomía mesoamericana* 25(1):111-119. 2014
84. SAN MARTIN BUSTINZA, LUIS FERNANDO "Obtención del extracto etero del *Lupinus Mutabilis Sweet (Tarwi)*, y evaluación antibacteriana in vitro e in vivo frente al *staphylococcus aureus atcc 25923*".Universidad Católica de Santa María, Arequipa 2011
85. Secretaria de Agricultura y Ganaderia del Programa Nacional de Desarrollo, "Perfil de Mercado de Cebolla", Gobierno República de Honduras, 2014
86. SCHOENEBERGER, R. GROSS, H. D. CREMER AND I. ELMADFA, "Composition and Protein Quality of *Lupinus Mutabilis*", *German Agency for Technical Cooperation, National Institute of Health, Lima, Peru and Institute of Nutrition, University of dessen, West Germany, Journal Nutrition, 112: 70-76, 1982*
87. SHEILIZA CARMALIA, VÍTOR D. ALVESA,, "Recovery of lupanine from *Lupinus albus* L. leaching waters", *Separation and Purification Technology* 74 (2010) 38–43
88. SIRTORI ELENA, DONATELLA RESTA, FRANCESCA BRAMBILLA, CHRISTIAN ZACHERL, "The effects of various processing conditions on a protein isolate from *Lupinus angustifolius*", *Journal ELSEVIER, Food Chemistry* 120 (2010) 496–504
89. STEPHANIE BADER, JESÚS PALOMINO OVIEDO, "Influence of different organic solvents on the functional and sensory properties of lupin (*Lupinus angustifolius* L.) proteins", *Journal ELSEVIER, LWT, Food Science and Technology* 44 (2011) 1396-1404.
90. TABRETT SIMON , DAVID BLYTH, "Digestibility of *Lupinus albus* lupin meals in barramundi(*Lates calcarifer*)", *Aquaculture* 364–365 (2012) 1–5

91. TALONTSI FERDINAND et col., "Mosquito larvicidal activity of alkaloids from *Zanthoxylum lemairei* against the malaria vector *Anopheles gambiae*"; *Pesticide Biochemistry and Physiology* 99 (2011) 82-85
92. TREASE y EVANS. "Farmacognosia". 13ava Edición. Editorial Interamericana, Mc Graw – Hill, México, 1991.
93. UNKOVICH MURRAY J, JOHN S. PATE, "An appraisal of recent field measurements of symbiotic N<sub>2</sub> fixation by annual legumes", Centre for Legumes in Mediterranean Agriculture, Department of Botany, The University of Western Australia, Nedlands, WA 6907, Australia, *Journal ELSEVIER Field Crops Research* 65 (2000) 211-228
94. URRUTIA GUTIERREZ WILSON, " Determinación de Parámetros Optimos de extracción alcalina para la obtención de aislado proteico a partir de Tarwi (*Lupinus mutabilis*), Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, Abancay, 2010
95. UZUN, C. ARSLANA, M. KARHAN, C. TOKER, "Fat and fatty acids of white lupin (*Lupinus albus*L.) in comparison to sesame (*Sesamum indicum*L.)", *Journal ELSEVIER, Food Chemistry* 102 (2007) 45–49
96. VALLEJO CABRERA FRANCO, "Producción de hortalizas de clima cálido", Universidad Nacional de Colombia, 2004
97. VARGAS R., "Evaluación de insecticidas químicos y de origen biológico y orgánico en el control de trips (*Thrips tabaci*) en la cebolla Granex 429." Fundación Hondureña de Investigación Agrícola, Programa de Hortalizas, Honduras, 2000.
98. VEGA R., GUTIERREZ M., "Bactericide-like effect of *Lupinus* alkaloids", *Industrial Crops and Products* 5, 1996, 141-148
99. VILLACRES E., PERALTA E., CUADRADO L., "Propiedades y Aplicaciones de los Alcaloides del chocho *Lupinus mutabilis* sweet", Primera Edición: Boletín Técnico N° 133, Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP, Quito, Ecuador, 2009
100. VILLAR DEL FRESNO A. M. "Farmacognosia General", Editorial Síntesis, España, 2003.
101. VILLAROEL H. (2000). Evaluación de la efectividad de ocho insecticidas en el control del trips de la cebolla (*Thrips tabaci* Lindemann) [Alfacipermetrina, Clorpirifos,

- cephato, Metamidofos, Diazinon, Tau-Fluvalinato, Clorfenapir, Fenvalerato Oxidementon metil) .Tesis Ing. Agrónomo. Santiago.Chile 57
102. WATKIN WILLIAMS, HARRISON M., "Äkaloid concentration during development in three lupinus species and the expression of genes for alkaloid biosynthesis in seedlings", *Phytochemistry*, Vol.22, 85-90, 1983
103. WINK MICHAEL, CARSTEN MEIBNER\* and LUDGER WITTE, "Patterns of quinolizidine alkaloids in 56 species of the genus *Lupinus*"; Pergamon *Phytochemistry*, Vol. 38, No. 1, pp. 139-153, 1995
104. WINK MICHAEL, "Methods in Plant Biochemistry- Quinolizidine Alkaloids", Instituto fur Pharmazeutixche Biologie, Germany, Vol. 8, 1993
105. WOJAKOWSKA ANNA, ANNA PIASECKA, PEDRO M. GARCÍA-LÓPEZ, "Structural analysis and profiling of phenolic secondary metabolites of Mexican lupine species using LC–MS techniques", *Journal ELSEVIER, Phytochemistry* 92 (20139) 71-86
106. YEPES PONTE, RODRIGUEZ ESPEJO MARLENE,"Efecto antifúngico del extracto acuoso de semillas del chocho, *Lupinus mutabilis* sobre *Alternaria solani* y *Fusarium solani*", *Rebiol* Vol. 29, 2009.
107. ZEGARRA VILCHEZ, GRACIELA H., Tesis sobre "Actividad Deterrente y Acaricida de principios activos de Quinuas Amargas, Aceites Esenciales y Tarwi ", Pontificia Católica del Perú, 2010
108. ZHIQING MA, et col. "Isolation and insecticidal activity of sesquiterpenes alkaloids from *Triptergium* y *wilfordii* Hook f.", *Industrial Crops and Products* 52 (2014) 642-648

## INFORMATOGRAFIA

109. <http://articulos.infojardin.com/huerto/cultivo-cebolla-cebollas.htm>
110. [http://inta.gob.ar/documentos/manual-del-cultivo-de-la-cebolla/at\\_multi\\_download/file/14plagas.pdf](http://inta.gob.ar/documentos/manual-del-cultivo-de-la-cebolla/at_multi_download/file/14plagas.pdf)
111. <http://lombricesnerviosas.blogspot.com/2013/07/thrips.html>

112. <http://www.agroes.es/cultivos-agricultura/cultivos-huerta-horticultura/cebolla/409-cebolla-plagas-enfermedades-cultivo>
113. <http://www.ceadu.org.uy/plagas.htm>
114. <http://www.ecoinsumo.cl/estrategia-manejo-y-control-del-trips-de-la-cebolla-thrips-tabaci-l>
115. [http://www.ecured.cu/index.php/Thrips\\_tabaci](http://www.ecured.cu/index.php/Thrips_tabaci)
116. <http://www.fao.org/docrep/010/ai185s/ai185s07.pdf>
117. <http://www.minag.gob.pe/portal/download/pdf/herramientas/boletines/boletineselectronicos/VBP/2014/VBP-mayo-2014.pdf>
118. <http://www.minag.gob.pe/portal/sector-agrario/agricola/1%C3%ADneas-de-cultivos-emergentes/hortalizas-y-legumbres?start=1>
119. <http://www.minag.gob.pe/portal/herramientas/boletines/estad%C3%ADstica-agraria-mensual>
120. <http://mrsalazar.blogspot.com/2008/09/protocolo-para-cultivo-de-allium-cepa.html>
121. <http://www2.inecc.gob.mx/sistemas/plaguicidas/pdf/fipronil.pdf>
122. <http://elpais.com.sv/elsalvador/?p=5294>
123. [http://www.adexperu.org.pe/Descargas\\_Documentos/boletin\\_/boletin\\_semanal\\_peru\\_exporta\\_n112.pdf](http://www.adexperu.org.pe/Descargas_Documentos/boletin_/boletin_semanal_peru_exporta_n112.pdf)



## ANEXO 1



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLÓGÍA  
HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)



### CONSTANCIA 23-2015-HUSA

El Director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Que en el Laboratorio de Botánica se han logrado determinar 1 muestra de Plantas traídas de la Localidad de Arequipa- Cercado para el estudio de Identificación Biológica e investigación en : Determinación del efecto Biocida del extracto acuoso de semillas de Tarwi, sobre *Trips Tabaci* L. en cultivos de cebolla. ejecutado por FABIOLA AÑAMURO MAMANI de la escuela de Postgrado en Maestría Química del Medio ambiente .

Los resultados de dicha identificación corresponde a:

DIVISION : MAGNOLIOPHYTA  
CLASE: MAGNOLIOPSIDA  
SUBCLASE: Rosidae  
ORDEN: Rosales  
FAMILIA: Fabaceae  
GENERO: Lupinus  
ESPECIE: *Lupinus mutabilis* L.

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que se estime conveniente.

Arequipa Setiembre del 2015

  
Bigo. Leoncio Mariño Herrera  
DIRECTOR  
*Herbarium Arequipense* (HUSA)



Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado  
Teléfono: (054) 237755 / 984248674  
Apartado Postal: 0028  
AREQUIPA – PERÚ

## ANEXO 2



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA  
HERBARIUM AREQUIPENSE (HUSA)



### CONSTANCIA 25-2015-HUSA

El Director de *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

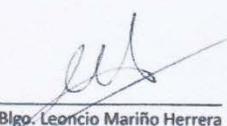
Que en el Laboratorio de Botánica se han logrado determinar 1 muestra de Insectos traídas del distrito de Tiabaya – Arequipa, para el estudio de Identificación Biológica e Identificación en: Determinación del efecto Biocida del extracto acuoso de semillas de Tarwi sobre *Thrips Tabaci* L. en cultivos de cebolla, ejecutado por FABIOLA AÑAMURO MAMANI de la escuela de Postgrado en Maestría Química del Medio ambiente:

Los resultados de dicha identificación corresponde a:

**REINO:** Animalia  
**FILO:** Arthropoda  
**CLASE:** Insecto  
**ORDEN:** Thysanoptera  
**FAMILIA:** Thripidae  
**ESPECIE:** *Thrips tabaci* Lindeman

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que se estime conveniente.

Arequipa, Setiembre del 2015

  
Blgo. Leoncio Mariño Herrera  
DIRECTOR  
*Herbarium Arequipense* (HUSA)



Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado  
Teléfono: (054) 237755 / 984248674  
Apartado Postal: 0028

ANEXO 3

DATOS DE LA CRIANZA DE *Thrips tabaci* Lindeman

N° PLANTA	LARVAS	N° PLANTA	LARVAS	N° PLANTA	ADULTOS	N° PLANTA	ADULTOS
1	22	21	15	1	11	21	8
2	12	22	18	2	14	22	6
3	15	23	13	3	8	23	9
4	19	24	17	4	7	24	7
5	18	25	20	5	10	25	10
6	17	26	12	6	9	26	12
7	15	27	11	7	7	27	8
8	12	28	14	8	13	28	15
9	14	29	15	9	8	29	11
10	19	30	11	10	12	30	13
11	13	31	16	11	9	31	16
12	16	32	10	12	15	32	14
13	10	33	18	13	13	33	15
14	15	34	12	14	10	34	10
15	13	35	16	15	14	35	11
16	17	36	20	16	9	36	9
17	18	37	10	17	8	37	12
18	16	38	15	18	12	38	13
19	10	39	17	19	14	39	12
20	17	40	19	20	11	40	9
<b>PROMEDIO</b>	15.4	<b>PROMEDIO</b>	14.95	<b>PROMEDIO</b>	10.7	<b>PROMEDIO</b>	11
<b>DESV. ST</b>	3.1355	<b>DESV. ST</b>	3.2359	<b>DESV. ST</b>	2.5567	<b>DES. ST</b>	2.8098
<b>CV (%)</b>	20.36	<b>CV (%)</b>	21.64	<b>CV</b>	23.89	<b>CV (%)</b>	25.54
<b>TOTAL</b>	308	<b>TOTAL</b>	299	<b>TOTAL</b>	214	<b>TOTAL</b>	220

ANEXO N° 4

CUANTIFICACION DE ALCALOIDES TOTALES DEL EXTRACTO ACUOSO  
DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi)

Estandarización de Hidróxido de sodio 0.02 M

$$\begin{array}{l}
 204.22 \text{ g Biftalato} \text{-----} 1\text{N} \qquad 4.08 \text{ g} \text{-----} 1000 \text{ mL} \\
 X \text{-----} 0.02\text{N} \qquad 0.0130 \text{ g} \text{-----} x \\
 X = 4.08 \text{ g} \qquad X = 3.1863 \text{ mL}
 \end{array}$$

PESO	GASTO TEORICO	GASTO PRACTICO	FACTOR CORRECCION
0.0130	3.1863	3.8658	0.8242
0.0132	3.2353	3.3278	0.9722
0.0131	3.2108	3.8658	0.8306
		PROMEDIO	0.8757

**Molaridad:**  $0.02 \text{ N} \times 0.8757 = 0.0175 \text{ M de NaOH}$

**Blanco**

- Gasto 1 de NaOH: 2.1188 mL

Muestra HCl: 2.0 mL

$$= 2.1188 \text{ mL} \times 0.0175 \frac{\text{mmol}}{\text{mL}} \times \frac{1 \text{ mmol HCl}}{1 \text{ mmol NaOH}} = 0.0371 \text{ mmol HCl}$$

**Molaridad de HCl 0.02 M**

$$\frac{0.0371 \text{ mmol HCl}}{2 \text{ mL}} = 0.01855 \text{ M HCl}$$

- Gasto 2 de NaOH : 2.1639 mL.....0.01893 M
  - Gasto 3 de NaOH : 2.1164 mL.....0.01852 M
- Molaridad promedio = 0.01866 M de HCl**

- **Cuantificación de alcaloides**

$$N^{\circ} \text{ de mmoles} = M_{\text{HCl}} \times V_{\text{HCl}} - M_{\text{NaOH}} \times V_{\text{NaOH}}$$

$$N^{\circ} \text{ de mmoles} = (5 \text{ mL} \times 0.01866 \frac{\text{mmol}}{\text{mL}}) - (2.1357 \text{ mL} \times 0.0175 \frac{\text{mmol}}{\text{mL}})$$

$$N^{\circ} \text{ de mmoles} = \mathbf{0.0599 \text{ mmol}}$$

$$- \quad 0.0599 \text{ mmol} \text{ ----- } 5 \text{ mL}$$

$$X \text{ ----- } 25 \text{ mL}$$

$$X = \mathbf{0.2796 \text{ mmol}}$$

$$- \quad 0.2796 \text{ mmol} - 0.0371 \text{ mmol} = \mathbf{0.2624 \text{ mmol}}$$

$$- \quad 0.2425 \text{ mmol} \times 248,36 \frac{\text{mg}}{\text{mmol}} \text{ de lupanina} = \mathbf{60.2273 \text{ mg lupanina}}$$

$$- \quad 60.2273 \text{ mg} \text{ ----- } 20.0672 \text{ g}$$

$$X \text{ ----- } 100 \text{ g}$$

$$X = \mathbf{298.80 \text{ mg } \% \sim 0.2988 \% \text{ de lupanina}}$$

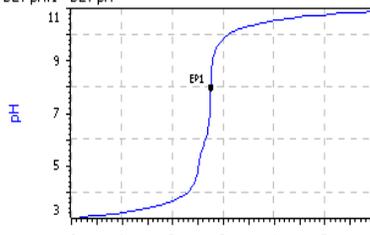
Sample data

ID1 .....  
Sample size ..... 1.0 g

End points

DET pH DET pH.1  
EP1 ..... 7.983 pH ..... 2.7484 mL

DET pH.1 - DET pH



ANEXO 5

TRATAMIENTOS DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi)  
EN EL CONTROL DE ADULTOS DE *Thrips tabaci* Lindeman

TRATAMIENTOS	NUMERO DE ADULTOS	MUERTOS	VIVOS	MUERTOS	VIVOS
TIEMPO DE APLICACIÓN		24 horas		48 horas	
EXTRACTOS 5%	20	8	12	9	11
	20	8	12	10	10
	20	9	11	10	10
EXTRACTOS 10%	20	12	8	13	7
	20	11	9	13	7
	20	13	7	14	6
EXTRACTOS 20%	20	16	4	18	2
	20	14	6	16	4
	20	15	5	17	3
EXTRACTOS 30%	20	16	4	18	2
	20	16	4	18	2
	20	17	3	18	2
EXTRACTOS 40%	20	18	2	19	1
	20	19	1	20	0
	20	17	3	19	1
CONTROL NEGATIVO	20	0	20	0	20
	20	0	20	0	20
	20	0	20	0	20
CONTROL POSITIVO	20	20	0	20	0
	20	20	0	20	0
	20	20	0	20	0

ANEXO 6

TRATAMIENTOS DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi)  
EN EL CONTROL DE LARVAS DE *Thrips tabaci*

TRATAMIENTOS	NUMERO DE LARVAS	MUERTOS	VIVOS	MUERTOS	VIVOS
TIEMPO DE APLICACIÓN		24 horas		48 horas	
EXTRACTOS 5%	20	8	12	9	11
	20	9	11	11	9
	20	8	12	10	10
EXTRACTOS 10%	20	13	7	15	5
	20	14	6	16	4
	20	13	7	15	5
EXTRACTOS 20%	20	15	5	17	3
	20	16	4	18	2
	20	16	4	17	3
EXTRACTOS 30%	20	17	3	18	2
	20	16	4	18	2
	20	17	3	18	2
EXTRACTOS 40%	20	18	2	20	0
	20	19	1	20	0
	20	19	1	20	0
CONTROL NEGATIVO	20	0	20	0	20
	20	0	20	0	20
	20	0	20	0	20
CONTROL POSITIVO	20	20	0	20	0
	20	20	0	20	0
	20	20	0	20	0

## ANEXO 7

### CUANTIFICACION DE ALCALOIDES TOTALES DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) DE LOS TRATAMIENTOS EMPLEADOS

#### Estandarización de Hidróxido de sodio 1.0 M

204.22 g Biftalato ----- 1000 mL

X ----- 3 mL

$$X = 0.6126 \text{ g}$$

PESO	GASTO TEORICO	GASTO PRACTICO	FACTOR CORRECCION
0.6215	3.0433	3.3235	0.9157
0.6214	3.0428	3.4112	0.8920
0.6213	3.0423	3.3515	0.9077
		PROMEDIO	0.9051

**Molaridad: 1.0 N X 0.9051 = 0.9051 M de NaOH**

#### Blanco

- Gasto 1 de NaOH: 1.6333 mL

Muestra HCl: 2.0 mL

$$= 1.6333 \text{ mL} \times 0.9051 \frac{\text{mmol}}{\text{mL}} \times \frac{1 \text{ mmol HCl}}{1 \text{ mmol NaOH}} = 1.4783 \text{ mmol HCl}$$

#### Molaridad de HCl 1.0 M

$$\frac{1.4783 \text{ mmol HCl}}{2 \text{ mL}} = 0.7391 \text{ M HCl}$$

- **Cuantificación de alcaloides**

$$N^{\circ} \text{ de mmoles} = M_{\text{HCl}} \times V_{\text{HCl}} - M_{\text{NaOH}} \times V_{\text{NaOH}}$$

$$N^{\circ} \text{ de mmoles} = (0.7391 \frac{\text{mmol}}{\text{mL}} \times 5 \text{ mL}) - (0.9051 \frac{\text{mmol}}{\text{mL}} \times 3.5103 \text{ mL})$$

$$N^{\circ} \text{ de mmoles} = \mathbf{0.5185 \text{ mmol}}$$

$$- 0.5185 \text{ mmol} \text{ ----- } 5 \text{ mL}$$

$$X \text{ ----- } 25 \text{ mL}$$

$$X = \mathbf{2.5926 \text{ mmol}}$$

$$- 2.5926 \text{ mmol} - 1.4783 \text{ mmol} = \mathbf{1.1143 \text{ mmol}}$$

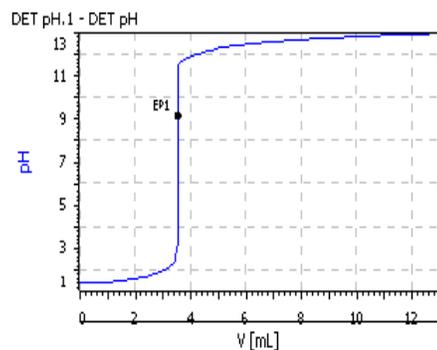
$$- 1.1143 \text{ mmol} \times 248 \frac{\text{mg}}{\text{mmol}} \text{ de lupanina} = \mathbf{276.3464 \text{ mg lupanina}}$$

$$- 276.3464 \text{ mg} \text{ ----- } 25 \text{ mL}$$

$$X \text{ ----- } 100 \text{ mL}$$

$$X = \mathbf{1105.3856 \text{ mg} = 11.0539 \text{ mg/mL de lupanina}}$$

Sample size	1.0 g
Endpunkte	
DET pH	DET pH.1
EP1	9.167 pH, 3.5266 mL



**TRATAMIENTO A:**

$$\begin{aligned} & - 11.0539 \text{ mg /mL} \times 10 \text{ mL} = C \times 25 \text{ mL} \\ & \quad X \quad = 4.4215 \text{ mg} \\ & - 4.4215 \text{ mg} \text{ -----} 25 \text{ mL} \\ & \quad X \text{ -----} 1000 \text{ mL} \qquad \qquad \qquad \mathbf{X = 176.86 \text{ ppm}} \end{aligned}$$

**TRATAMIENTO B:**

$$\begin{aligned} & - 11.0539 \text{ mg /mL} \times 5 \text{ mL} = C \times 25 \text{ mL} \\ & \quad X \quad = 2.2108 \text{ mg} \\ & - 2.2108 \text{ mg} \text{ -----} 25 \text{ mL} \\ & \quad X \text{ -----} 1000 \text{ mL} \qquad \qquad \qquad \mathbf{X = 88.43 \text{ ppm}} \end{aligned}$$

**TRATAMIENTO C:**

$$\begin{aligned} & - 11.0539 \text{ mg /mL} \times 2 \text{ mL} = C \times 25 \text{ mL} \\ & \quad X \quad = 0.8843 \text{ mg} \\ & - 0.8843 \text{ mg} \text{ -----} 25 \text{ mL} \\ & \quad X \text{ -----} 1000 \text{ mL} \qquad \qquad \qquad \mathbf{X = 35.37 \text{ ppm}} \end{aligned}$$

**TRATAMIENTO D:**

$$\begin{aligned} & - 11.0539 \text{ mg /mL} \times 1 \text{ mL} = C \times 25 \text{ mL} \\ & \quad X \quad = 0.4422 \text{ mg} \\ & - 0.4422 \text{ mg} \text{ -----} 25 \text{ mL} \\ & \quad X \text{ -----} 1000 \text{ mL} \qquad \qquad \qquad \mathbf{X = 17.68 \text{ ppm}} \end{aligned}$$

**TRATAMIENTO E:**

$$\begin{aligned} & - 11.0539 \text{ mg /mL} \times 0.5 \text{ mL} = C \times 25 \text{ mL} \\ & \quad X \quad = 0.2211 \text{ mg} \\ & - 0.2211 \text{ mg} \text{ -----} 25 \text{ mL} \\ & \quad X \text{ -----} 1000 \text{ mL} \qquad \qquad \qquad \mathbf{X = 8.84 \text{ ppm}} \end{aligned}$$

ANEXO 8

TRATAMIENTOS DE ALCALOIDES TOTALES EXTRAIDOS DEL EXTRACTO  
ACUOSO DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) EN EL CONTROL DE ADULTOS DE  
*Thrips tabaci* Lindeman

RATAMIENTOS	NUMERO ADULTOS	DE	MUERTOS	VIVOS	MUERTOS	VIVOS
TIEMPO DE APLICACIÓN			24 horas		48 horas	
TRATAMIENTO (176.86 ppm)	A	20	18	2	19	1
		20	17	3	18	2
		20	19	1	20	0
TRATAMIENTO (88.43 ppm)	B	20	10	10	15	5
		20	9	11	16	4
		20	9	11	15	5
TRATAMIENTO (36.47 ppm)	C	20	8	12	11	9
		20	7	13	9	11
		20	7	13	10	10
TRATAMIENTO (17.68 ppm)	D	20	4	16	5	15
		20	3	17	4	16
		20	4	16	5	15
TRATAMIENTO (8.84 ppm)	E	20	1	19	2	18
		20	2	18	2	18
		20	1	19	2	18
CONTROL NEGATIVO		20	0	20	0	20
		20	0	20	0	20
		20	0	20	0	20
CONTROL POSITIVO (Regent 1mL/L)		20	20	0	20	0
		20	20	0	20	0
		20	20	0	20	0

ANEXO N° 9

TRATAMIENTOS DE ALCALOIDES TOTALES EXTRAIDOS DEL EXTRACTO  
ACUOSO DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) EN EL CONTROL DE LARVAS DE  
*Thrips tabaci* Lindeman

TRATAMIENTOS	NUMERO LARVAS	DE	MUERTOS	VIVOS	MUERTOS	VIVOS
TIEMPO DE APLICACIÓN			24 horas		48 horas	
TRATAMIENTO A (176.86 ppm)	20		19	1	20	0
	20		20	0	20	0
	20		19	1	20	0
TRATAMIENTO B (88.43 ppm)	20		16	4	19	1
	20		15	5	18	2
	20		17	3	18	2
TRATAMIENTO C (36.47 ppm)	20		14	6	16	4
	20		13	7	14	6
	20		13	7	15	5
TRATAMIENTO D (17.68 ppm)	20		9	11	11	9
	20		8	12	10	10
	20		9	11	10	10
TRATAMIENTO E (8.84 ppm)	20		7	13	7	13
	20		6	14	6	14
	20		7	13	7	13
CONTROL NEGATIVO	20		0	20	0	20
	20		0	20	0	20
	20		0	20	0	20
CONTROL POSITIVO (Regent 1mL/L)	20		20	0	20	0
	20		20	0	20	0
	20		20	0	20	0

## ANEXO 10

### FOTOS DE INVESTIGACION

#### A) OBTENCION DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE LAS SEMILLAS DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi)



Pesar x g de las semillas de Tarwi en 100 mL de agua destilada.



Llevar a una digestión por reflujo durante una hora.



Filtrar y llevar al rotavapor para concentrar el extracto acuoso hasta 25 mL.



Obtención de los extractos acuosos al 5%, 10%, 20%, 30% y 40% (p/v)

## B) EXTRACCION Y CUANTIFICACION DE ALCALOIDES TOTALES



Colocar el extracto acuoso en la pera, añadir hidróxido de amonio más 5 mL de cloroformo (3veces).



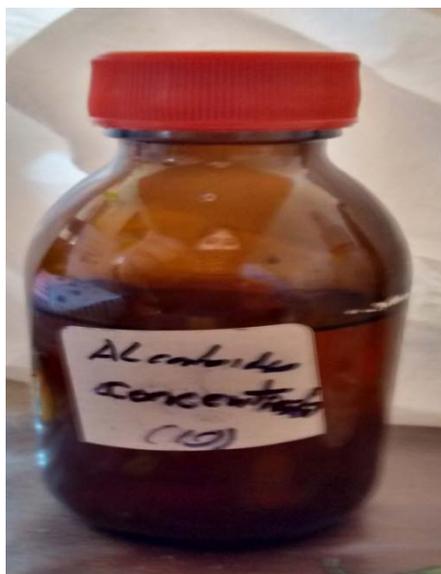
Agregar Ácido sulfúrico al 10% y separar la fase acuosa de la orgánica..



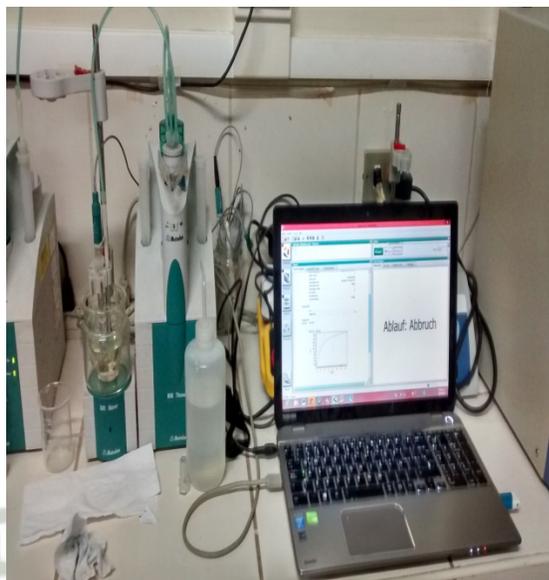
Agregar hidróxido de amonio y agregar nuevamente 5 mL de cloroformo (3veces), separar la fase orgánica.



Mezclar con sulfato de sodio anhidro, filtrar y recuperar el solvente por destilación simple.



El residuo obtenido disolverlo con HCl 0.02N para luego cuantificarlo.



Cuantificar los alcaloides totales por titulación potenciométrica con el Software Tiamo 2.4

### C) RECOLECCION E IMPLEMENTACION DE CRIADERO DE *Thrips tabaci* Lindeman



Recolección de los insectos en el distrito de Tiabaya.



Implementar un invernadero para el criadero de los insectos.



Observación de insectos adultos de color negro.



Observación de los insectos larvas de color amarillo.



Observación de los insectos adultos en el microscopio a 10 X



Observación de los insectos larvas en el microscopio 10X.

**D) DETERMINACION DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSOS DE LAS SEMILLAS DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) EN EL CONTROL DE ADULTOS**



Siete tratamientos para determinación del efecto biocida.



Aplicación del biocida e insecticida químico en los insectos adultos.



**E) DETERMINACION DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSOS DE LAS SEMILLAS DE *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) EN EL CONTROL DE LARVAS**



Siete tratamientos para determinación del efecto biocida.



Aplicación del biocida e insecticida  
químico en los insectos larvas.



## F) DETERMINACION DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE ADULTOS



Siete tratamientos para determinación  
del efecto biocida.



Aplicación de alcaloides totales y controles en los insectos adultos.

### G) DETERMINACION DEL EFECTO BIOCIDA DE ALCALOIDES TOTALES EN EL CONTROL DE LARVAS



Siete tratamientos para determinación del efecto biocida de los alcaloides totales.



Aplicación de los alcaloides totales y controles en los insectos larvas.