



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD  
DEL CUSCO**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**TESIS**

**ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LA MEZCLA DE  
SAPONINAS DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd) Y  
ALCALOIDES DE TARWI (*Lupinus mutabilis* Sweet)  
SOBRE LA MOSCA DE LA FRUTA *Anastrepha* spp.**

**PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN  
CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**AUTOR:**

**Br. LOURDES SALCEDO SUCASACA**

**ASESORA:**

**Mgt. EMMA JESÚS URRUNAGA DE ROZAS**

**Cod. ORCID: 0000-0002-9360-8052**

**CUSCO-PERÚ**

**2023**

## INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, asesor del trabajo de investigación/tesis titulado:... **ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LA MEZCLA DE SAPONINAS DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd) Y ALCALOIDES DE TARWI (*Lupinus mutabilis* Sweet) SOBRE LA MOSCA DE LA FRUTA *Anastrepha* spp.**

presentado por: ... **Br. LOURDES SALCEDO SUCASACA**

con Nro. de DNI: 40099494, para optar el título profesional/grado académico de... **MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por...2..... veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del *Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC* y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 4%

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto la primera hoja del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, ...26..... de...agosto de 2023

UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN ANTONIO ABAD DE CUSCO

*Emma Jesús Urumaga de Rozas*  
Dra.(r) Emma Jesús Urumaga de Rozas  
INVESTIGADORA EN BIQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR  
PROFESORA PRINCIPAL DE INVESTIGACIÓN EXCLUSIVA

Post firma... *Emma Jesús Urumaga de Rozas*

Nro. de DNI... 23864082

ORCID del Asesor 0000-0002-9360-8052

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio:  
<https://unsaac.turnitin.com/viewer/submissions/oid:27259:257949832?locale=cs-MX>

NOMBRE DEL TRABAJO

**InformTesisCTA\_LouSalcedo pasar Turnitin.docx**

AUTOR

**LOURDES SALCEDO SUCASACA**

RECUENTO DE PALABRAS

**26518 Words**

RECUENTO DE CARACTERES

**148008 Characters**

RECUENTO DE PÁGINAS

**112 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**56.6MB**

FECHA DE ENTREGA

**Aug 25, 2023 8:28 PM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**Aug 25, 2023 8:32 PM GMT-5****● 4% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 4% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 0% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

**● Excluir del Reporte de Similitud**

- Base de datos de trabajos entregados
- Material citado
- Bloques de texto excluidos manualmente
- Material bibliográfico
- Coincidencia baja (menos de 15 palabras)

---

## PRESENTACION

---

Presento la tesis que lleva por título “Actividad insecticida de la mezcla de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) y alcaloides de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) sobre la mosca de la fruta *Anastrepha* spp.” las actividades más interesantes es analizar la actividad insecticida con estadística cuantil mediante regresión probit. Este tipo de estudio contribuye significativamente al conocimiento sobre el control de plagas y sus posibles alternativas. Elaborado con mucho esfuerzo con el apoyo de profesionales muy apreciados y gracias a su experiencia y conocimiento se logró los objetivos planteados, esperando sea de agrado de todos.

---

## DEDICATORIA

---

A mis peques Bernardo y Luis, mi motor y motivo.

A mis amigas, por apoyarme con su paciencia y esfuerzo cuando más las necesito, por extender su mano en momentos difíciles y por el afecto brindado cada día, de verdad mil gracias hermanas de la vida, siempre las llevo en mi corazón.

---

## AGRADECIMIENTOS

---

A mi asesora M.Sc. Emma Jesús Urrunaga de Rozas. Sin usted y con sus aportes profesionales que la caracterizan, su paciencia y constancia este trabajo no lo hubiese logrado. Gracias por sus orientaciones

A mi asesora externa Dra. Guadalupe Chaquilla Quilca, mi amiga y compañera tus palabras fueron sabias, tus conocimientos rigurosos y precisos te debo mis conocimientos. Donde quiera que vaya, los llevaré conmigo en mí transitar profesional, los llevo en el alma y el espíritu. Gracias por tu paciencia, por compartir tus conocimientos de manera profesional e invaluable, por tu dedicación y perseverancia.

Mi profundo agradecimiento a la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, por mi formación académica y profesional.

A mis apreciados estudiantes de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac por quienes debo seguir desarrollando mis capacidades y sumar esfuerzos en esta labor de la investigación.

---

## INDICE GENERAL

---

**Pág.**

RESUMEN .....	ix
ABSTRACT .....	x
INTRODUCCIÓN .....	xi
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	1
1.1 Situación problemática.....	1
1.2 Formulación del problema .....	2
a. Problema general.....	2
b. Problemas específicos.....	2
1.3 Justificación de la investigación .....	3
1.4 Objetivos de la investigación .....	5
a. Objetivo general .....	5
b. Objetivos específicos .....	5
II. MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL .....	6
2.1 Insecticida .....	6
2.1.1 Mecanismo de acción de la efectividad insecticida .....	6
2.1.2 Las plantas como fuente de insecticidas .....	7
2.1.3 Ventajas y desventajas de los insecticidas vegetales. ....	8
2.2 Pseudocereales .....	9
2.2.1 Quinoa ( <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.) .....	9
2.2.2 Variedades de quinoa .....	10
2.2.3 Ayara ( <i>Chenopodium quinoa</i> spp. <i>melanospermum</i> Hunz).....	11
2.2.4 Saponinas .....	12
2.2.5 Estructura de las saponinas .....	12
2.2.6 Usos de la saponina en la industria. ....	13
2.3 Leguminosas. ....	14
2.3.1 Tarwi ( <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet).....	14

2.3.2	Alcaloides .....	16
2.3.3	Alcaloide quinolizidínico.....	18
2.3.4	Alcaloides de lupinos silvestres .....	19
2.3.5	Alcaloide quinolizidínicos de <i>Lupinus ssp.</i> .....	19
2.3.6	Biosíntesis de alcaloides quinolizidínicos (AQ) en lupinos .....	19
2.3.7	Lupanina .....	21
2.3.8	Esparteína.....	22
2.4	Efecto tóxico de los bioinsecticidas.....	22
2.4.1	Evaluación de toxicidad de los bioinsecticidas.....	23
2.5	Mosca de la fruta (Díptera: Tephritidae) .....	24
2.5.1	<i>Anastrepha spp.</i> (Díptera: Tephritidae).....	26
	Descripción de ciclo de vida de mosca de la fruta.....	27
2.5.2	Larva de mosca de la fruta <i>Anastrepha spp.</i> (Díptera: Tephritidae).....	28
2.5.3	Morfología general.....	28
2.6	Dosis letal (DL50).....	30
2.7	Concentración letal (CL50).....	31
2.8	Regresión probit.....	32
2.8.1	Métodos para la estimación de la DL50 mediante análisis Probit.....	33
	Método gráfico (extrapolación): .....	33
	Método manual (uso de calculadores u hojas de cálculo).....	34
2.9	Marco conceptual.....	36
2.10	Antecedentes de la investigación .....	39
	III. HIPÓTESIS Y VARIABLES .....	47
3.1	Hipótesis .....	47
a.	Hipótesis general.....	47
b.	Hipótesis específica .....	47
3.2	Identificación de variables e indicadores.....	47
3.3	Operacionalización de variables .....	48
	IV. METODOLOGÍA.....	49
4.1	Ámbito de estudio:.....	49

Localización política.....	49
Localización geográfica.....	49
4.2 Tipo y nivel de investigación.....	49
4.3 Unidad de análisis.....	50
4.4 Población de estudio.....	50
4.5 Tamaño de muestra.....	50
4.6 Técnica de selección de muestra.....	50
4.7 Técnicas de recolección de información.....	51
4.8 Técnicas de análisis e interpretación de la información: Análisis estadístico.....	59
4.9 Técnicas para demostrar la verdad o falsedad de la hipótesis planteada.....	60
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	61
CONCLUSIONES.....	83
RECOMENDACIONES.....	84
BIBLIOGRAFÍA.....	85
ANEXOS.....	99

---

## LISTA DE FIGURAS

---

<b>Figura 1</b> Granos de quinua Ayara .....	10
<b>Figura 2</b> Panojas de quinua Ayara .....	10
<b>Figura 3</b> Estructura de glicósido .....	13
<b>Figura 4</b> Agliconas de saponinas triterpénicas de <i>Chenopodium quinoa</i> .....	13
<b>Figura 5</b> Principales especies de <i>Lupinus</i> cultivadas.....	15
<b>Figura 6</b> Núcleos de alcaloides .....	18
<b>Figura 7</b> Estructura central de alcaloides quinolizidínicos .....	20
<b>Figura 8</b> Estructura molecular de la lupanina .....	21
<b>Figura 9</b> Estructura molecular de la esparteína.....	22
<b>Figura 10</b> Proceso fisiológico neuromuscular durante la estimulación .....	23
<b>Figura 11</b> Mosca de la fruta adulto ( <i>Anastrepha</i> spp.) .....	28
<b>Figura 12</b> Imagen lateral del III estadio larvario .....	29
<b>Figura 13</b> Partes de la larva de la mosca de la fruta .....	29
<b>Figura 14</b> Flujograma de extracción de saponinas de quinua ( <i>Chenopodium quinoa</i> Willd).....	53
<b>Figura 15</b> Flujograma de extracción de alcaloides de tarwi ( <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet).....	55
<b>Figura 16</b> Proceso de obtención de los extractos y cuantificación de componentes activos tóxicos .....	9
<b>Figura 17</b> Proceso de evaluación del efecto insecticida de los extractos puros y diluidos aplicados en el control de larvas de <i>III</i> estadio de mosca de la fruta.....	10
<b>Figura 18</b> Cromatograma de saponinas de cascarilla de quinua ( <i>Chenopodium quinoa</i> ).....	61
<b>Figura 19</b> Cromatograma de GC-MS de la solución estándar del alcaloide: esparteína .....	64

<b>Figura 20</b> Cromatograma del GC-MS de la solución estandar: Esparteina .....	64
<b>Figura 21</b> Cromatograma Tarwi INIA 081576 .....	64
<b>Figura 22</b> Respuestas transformadas por Probit para saponinas de cascarilla .....	79
<b>Figura 23</b> Respuestas transformadas por Probit para alcaloide de tarwi INIA 081576.....	81
<b>Figura 24</b> Probit transformadas por probit para mezcla saponinas y alcaloides.....	82

---

## LISTA DE TABLAS

---

<b>Tabla 1</b> Clasificación de acuerdo a su origen botánico.....	17
<b>Tabla 2</b> Relación de familias de plantas asociadas con especies del género <i>Anastrepha</i> y <i>Ceratitis</i> .....	25
<b>Tabla 3</b> Especies de moscas de la fruta reportadas en la Región Apurímac SIIMF (Sistema Integrado de Información de mosca de la fruta).....	26
<b>Tabla 4</b> Especies identificadas de la mosca de la fruta en los diferentes frutales en el Valle de Pachachaca.....	26
<b>Tabla 5</b> Transformación PROBIT.....	35
<b>Tabla 6</b> Factores de estudio.....	59
<b>Tabla 7</b> Dosis (ppm)Mezcla de glucósido más alcaloides.....	57
<b>Tabla 8</b> Perfil de contenido de saponinas en granos y cascarilla de la quinua ecotipo Ayara ( <i>Chenopodium quinoa</i> spp. <i>melanopermum</i> Hunz).....	62
<b>Tabla 9</b> Perfil cromatográfico de alcaloides quinolizidinicos en semillas de tarwi ( <i>Lupinus mutabilis</i> Will.).....	59
<b>Tabla 10</b> Mortalidad de larvas de III estadio (N° y %) de larvas de mosca de la fruta por efecto de extracto de saponinas de cascarilla de quinua Ayara, en 24 horas de evaluación.....	67
<b>Tabla 11</b> Mortalidad de larvas de III estadio (N° y %) de larvas de mosca de la fruta por efecto de extracto de alcaloides de tarwi INIA 081576 en 24 horas de evaluación.....	70
<b>Tabla 12</b> Mortalidad de larvas de III estadio (N° y %) de larvas de mosca de la fruta por efecto de extracto de la mezcla de saponinas y alcaloides de tarwi en 24 horas de evaluación ....	74
<b>Tabla 13</b> Contrastes de chi-cuadrado.....	80

---

## RESUMEN

---

El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto insecticida de saponinas de *Chenopodium quinoa* spp. *melanospermum* Hunz ecotipo Ayara, alcaloides de *Lupinus mutabilis* Sweet y la mezcla de ambos aplicado en larvas de *Anastrepha* spp. de III estadio (Díptera: *Tephritidae*) bajo condiciones de laboratorio.

Inicialmente por cromatografía se cuantificaron las saponinas de grano integral (GIQ) y cascarilla de *Ch. quinoa* (CQ) en HPLC y alcaloides de cuatro accesiones de *L. mutabilis* Andenes, CA, INIA 081576 e INIA 130944 en GC-MS. Resultó con mayor contenido tóxico la CQ con 2764.4 mg/100 g de saponinas e INIA 081576 con 1712.73 mg/100 g de alcaloides, de los cuales se obtuvo extracto de la CQ con solución hidroetanólica al 50% en proporción 1:10 (p/v) (EH-CQ) y de *L. mutabilis* INIA 081576 con metanol anhidro en proporción de 1:5 (p/v) (EM-081576).

Se realizó la prueba de toxicidad por contacto forzado sobre 10 larvas *Anastrepha* spp. con dosis de 460, 900, 1300, 1800, 2200 a 2764 ppm de EH-CQ y de 300, 580, 880, 1185, 1480 a 1712 ppm de EM-081576 y la mezcla de ambos en proporción de 1:1 (v/v) a temperatura de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  y una humedad relativa de  $57 \pm 5\%$ , con lecturas de mortalidad luego de 24 horas. Se calculó la dosis letal media ( $DL_{50}$ ) mediante el análisis Probit en IBM SPSS Statistic V21.

La dosis influyó significativamente en el efecto larvicida en grados variables, el EH-CQ con 86% con 2764 ppm, EM-081576 con 83% con 1712 ppm y la mezcla con 90% de mortalidad. El EM-081576 reveló el efecto más tóxico ya que mostró la más baja  $DL_{50}$  con 1063.501 ppm, seguido de EH-CQ con 1792.987 ppm y la mezcla con 1915.512 ppm. En conclusión, el orden de toxicidad fue EM-081576 > EH-CQ > mezcla de ambas.

**Palabras clave:** Larva *Anastrepha* spp., bioinsecticidas, alcaloides de *Lupinus mutabilis*, saponinas de *Chenopodium quinoa* spp. *melanospermum* Hunz. estadística cuantil, probit.

---

## ABSTRACT

---

The objective of the work was to evaluate the insecticidal effect of saponins from *Chenopodium quinoa* spp. *melanospermum* Hunz ecotype Ayara, alkaloids from *Lupinus mutabilis* Sweet and a mixture of both applied to larvae of *Anastrepha* spp. of III instar (Diptera: *Tephritidae*) under laboratory conditions.

Initially, whole grain saponins (GIQ) and *Ch. quinoa* husk (CQ) were quantified by chromatography in HPLC and alkaloids from four accessions of *L. mutabilis* Andenes, CA, INIA 081576 and INIA 130944 in GC-MS. The CQ with 2764.4 mg/100 g of saponins and INIA 081576 with 1712.73 mg/100 g of alkaloids were found to have the highest toxic content, from which the CQ extract was obtained with a 50% hydroethanolic solution in a 1:10 ratio (p /v) (EH-CQ) and *L. mutabilis* INIA 081576 with anhydrous methanol in a proportion of 1:5 (w/v) (EM-081576).

The forced contact toxicity test was carried out on 10 *Anastrepha* spp larvae. with doses of 460, 900, 1300, 1800, 2200 to 2764 ppm of EH-CQ and 300, 580, 880, 1185, 1480 to 1712 ppm of EM-081576 and the mixture of both in a 1:1 ratio (v /v) at a temperature of  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$  and a relative humidity of  $57 \pm 5\%$ , with mortality readings after 24 hours. The mean lethal dose (LD50) was calculated using Probit analysis in IBM SPSS Statistic V21.

The dose significantly influenced the larvicidal effect to variable degrees, EH-CQ with 86% with 2764 ppm, EM-081576 with 83% with 1712 ppm and the mixture with 90% mortality. EM-081576 revealed the most toxic effect since it showed the lowest LD50 with 1063.501 ppm, followed by EH-CQ with 1792.987 ppm and the mixture with 1915.512 ppm. In conclusion, the order of toxicity was EM-081576 > EH-CQ > mixture of both.

**Keywords:** Larva *Anastrepha* spp., bioinsecticides, alkaloids from *Lupinus mutabilis*, saponins from *Chenopodium quinoa* spp. *melanospermum* Hunz. quantal statistics, probit.

---

## INTRODUCCIÓN

---

La fruticultura de interés comercial entre ellos la chirimoya, lúcuma, mango, durazno, etc. del valle de Pachachaca – Abancay, es muy importante en la economía local, así también de los valles interandinos de la sierra peruana, cobra importancia la mosca de la fruta *Anastrepha* spp. (Díptera: Tephritidae), que son una plaga destructora, provocando grandes pérdidas por lo nefasto de su incursión en los atributos y aspecto del fruto, evitando su comercialización. El daño más importante lo ocasionan sus **larvas** en el período de desarrollo, ávidos de nutrirse de la pulpa de las frutas, limitando la producción y comercialización ya que no cumple con los estándares de calidad, debido a los daños ocasionados (Hernández *et al.*, 2020; Bartolaccini, 2016), los daños indirectos causan desestimulo al incremento de áreas de cultivo y el cierre de mercados de exportación de productos frescos con la consiguiente pérdida de recursos económicos.

La familia *Tephritidae* conocida como '**mosca de la fruta**' se ha expandido por muchos lugares del mundo, tienen una extraordinaria capacidad de adaptación al ambiente, prolifera en climas fríos, templados, semitropicales, tropicales y desérticos. Alrededor del mundo se han descrito 4000 especies de las cuales 400 se encuentran en el continente americano destacando por su importancia cuarentenaria los géneros *Anastrepha*, *Rhagoletis*, *Bactrocera*, *Toxotrypana* y *Ceratitis*. El único sitio donde están ausentes son las zonas polares (Korytkowski, 2011).

Por tal razón, esta investigación buscó estudiar el efecto insecticida de saponinas de quinua, alcaloides de tarwi y la mezcla de ambas. De acuerdo a los resultados obtenidos, se determinó que el extracto de alcaloides tiene mayor efecto insecticida sobre las especies de *Anastrepha* spp. (Díptera: *Tephritidae*) que predomina en el valle del Pachachaca.

---

## I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

---

### 1.1 Situación problemática

Los productos hortofrutícolas son un recurso económico en la Región Apurímac, viene siendo fomentado a nivel de cultivos ecológicos u orgánicos libre de agroquímicos, teniendo en consideración la diversidad de pisos ecológicos, figuran entre los de alta producción el sector de Pachachaca, con suelos que permite el cultivo de diversos frutales, hortalizas y tubérculos entre otros y que son de gran calidad sensorial y aceptación en el mercado nacional. Sin embargo, se ven mermados por la calidad de los productos, dependiendo ésta de la sanidad fitosanitaria y los rendimientos post cosecha por el ataque del agente entomológico de la larva de la mosca de la fruta *Anastrepha* spp. (Diptera: *Tephritidae*) considerada una de las plagas más nocivas para la agricultura ya que genera enormes perjuicios en las chacras, siendo perjudiciales tanto en su período larvario como adulto.

Para evitar la voracidad larval de la mosca de la fruta, los productores, realizan la cosecha con suma anterioridad a su óptima madurez, las consecuencias recaen en la pulpa del fruto que al contener aún demasiado almidón se altera la calidad sensorial en cuanto a sabor y aroma.

La utilización de insecticidas agrícolas es un factor importante para incrementar las áreas de cultivo y para el control de plagas, pero su uso indiscriminado genera diversos daños a la agricultura, como la eliminación de organismos benéficos, acumulación de residuos tóxicos en los productos y afectando al medio ambiente dado que son clorados (DDT, aldrin, endrin, mirex, etc.) y fosforados (paration, mevinfos, etc.) (Añamuro, 2016) También se ha optado por insecticidas de alto valor monetario aquellos derivados neonicotenoides como el spirotetramat, malathion, imidacropil como también aquellos neurotóxicos sintetizados a partir de bacterias *Saccharopolyspora spinosa* conocida como el spinosad (Manayay, 2018)

A partir del pelado de la quinua se obtiene la cascarilla con un alto porcentaje de saponinas y de la cosecha de tarwi se obtiene los alcaloides conocido ampliamente por sus efectos tóxicos en animales menores (Aguirre, 2018)

Se han registrado más de 100 alcaloides quinolizidínicos presentes en las especies silvestres del tarwi (Herrera *et al.*, 2008). Estos compuestos poseen propiedades neurotóxicas, antipiréticas, antiinflamatorios, depresores del sistema nervioso central (SNC). La esparteína se ha utilizado como oxitóxico, otros reportan actividad insulino secretora de la lupanina (Bermúdez *et al.*, 2000)

Ramírez *et al.*, (2009), la hidrólisis de los glucósidos y alcaloides producen compuestos derivados con mayor actividad toxica que cuando se encuentran en su estado natural y que han sido denominadas como bioinsecticidas vistas como alternativas de protección a los cultivos del chirimoyo, lúcumo, palto, etc, contra las acciones de insectos como la mosca de la fruta cuya actividad, selectividad y seguridad ambiental sean efectivos.

Teniendo en cuenta que la región Apurímac, produce en sus provincias altas, quinua y tarwi cuyos subproductos son desaprovechados y considerando que éstas contienen altos porcentajes de saponinas y alcaloides respectivamente, estos pueden ser utilizados para el control de este tipo de plagas.

## **1.2 Formulación del problema**

### **a. Problema general**

¿Tendrá efecto tóxico la mezcla de extractos de quinua ecotipo Ayara (*Chenopodium quinoa* spp *melanospermum* Hunz) y alcaloides de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) sobre la larva de la mosca de la fruta *Anastrepha* spp. (Diptera: *Tephritidae*)?

### **b. Problemas específicos**

- ¿Poseen componentes bioactivos tóxicos los granos integrales de quinua, cascarilla de quinua y semillas de tarwi?

- ¿Cuál será la concentración de los extractos y mezclas que cause mayor porcentaje de mortalidad?
- ¿Cuál es la dosis letal media (DL<sub>50</sub>) de los extractos de saponinas de quinua, alcaloides de tarwi y la mezcla aplicadas sobre larvas de la mosca de la fruta?

### 1.3 Justificación de la investigación

Los diversos frutos como la chirimoya, lúcuma, palta, durazno, etc, gozan de gran aceptación, por sus excelentes características sensoriales, intenso aroma, textura y sabor, pueden ser afectadas por el ataque de la mosca de fruta, causando pudrición del fruto, destruyendo la calidad comercial, por ende, la rentabilidad en la producción del cultivo.

Para evitar estos efectos negativos, los productores aplican insecticidas sintéticos que afectan el suelo, riachuelos y causa resistencia en el insecto en posteriores generaciones, a diferencia de los **insecticidas de origen vegetal** como la *Ryania*, *Lonchocarpus*, *Chrisantemun* y *Nicotiana tabacum* están considerados dentro de la primera generación de plaguicidas comerciales (Mariños, 2004) ya que su uso como tal se remonta a siglos antes de la era cristiana, no generando resistencia ya que los componentes activos extraídos varían en cuanto a su concentración en el proceso de extracción en ppm hasta ppb por lo tanto el insecto no logra adaptarse (Devine *et al.*, 2008).

La **quinua** presenta en su episperma contenidos variables de saponinas que oscilan entre **0.2-2.5%**, los mismos que protegen los granos frente a predadores como las aves, roedores e insectos. Las saponinas de la quinua son glucósidos del tipo triterpenoidal que se caracterizan por su sabor amargo, capacidad de formar espuma en soluciones acuosas y su poder **hemolítico**. Se conocen alrededor de 16 estructuras, siendo los componentes mayoritarios las sapogeninas, hederagenina y el ácido oleánico (Ahumada *et al.*, 2016). El **tarwi** ha sido tradicionalmente considerado de gran valor nutritivo por su alto contenido de proteínas (38.9%), grasa (17.1 %),

calorías (411 cal/100g), y *alcaloides* (3.5%-4.2%) con gran poder neurotóxico que no permiten su consumo directo, debiendo previamente eliminarse (Fuertes *et al.*, 1998)

Un insecticida no debe cruzar solamente la barrera epicuticular sino también la fase acuosa de la endocutícula. Por lo tanto, para que una dosis tóxica pueda pasar de la epicutícula a la cavidad general, debe tener una solubilidad en agua suficientemente alta (Lim *et al.*, 2017). La toxicidad depende también del disolvente, para ser eficaz, no solo debe mezclarse con las grasas y las ceras, sino también con el agua. Como los canalículos porosos penetran en las capas internas de la epicutícula, el hecho de que un insecticida sea miscible con la fase acuosa citoplasmática que llena estos canales, aumenta su eficacia, sin embargo, las variaciones de la estructura de la cutícula en función de la especie y la edad, tienen una considerable influencia sobre la penetración de los insecticidas de contacto (Velásquez, 2020). La cabeza y el tórax son las regiones más sensibles a los insecticidas de contacto ya que se alcanzan más rápidamente los centros nerviosos. Las alas, cuyo tegumento es delgado, constituyen igualmente un punto vulnerable (Ramos y Santacruz, 2012).

El uso de extractos vegetales para el control de insectos no es nuevo, su aplicación se registra desde antes de la segunda guerra mundial, por el surgimiento del DDT (organoclorado) y compuestos organofosforados, los cuales a pesar de ser baratos son muy tóxicos y persistentes en el ambiente. La utilización de extractos vegetales para el control de plagas tiene la ventaja de no provocar contaminación debido a que estas sustancias se degradan rápidamente en el medio (Fernícola, 1985).

## 1.4 Objetivos de la investigación

### a. Objetivo general

Determinar la actividad insecticida de los extractos de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* spp. *melospermum* Hunz.) y alcaloides de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) y mezcla de ambas para el control de larva de mosca de la fruta *Anastrepha* spp. (Díptera: *Tephritidae*).

### b. Objetivos específicos

- Conocer el contenido de componentes activos tóxicos del grano integral, cascarilla de quinua y semillas de tarwi.
- Evaluar el efecto insecticida a diferentes concentraciones de los extractos de saponinas, alcaloides y mezcla de ambas aplicados en larvas del *III* estadio de *Anastrepha* spp.
- Determinar la dosis letal media ( $DL_{50}$ ) de los extractos de saponinas, alcaloides y mezclas de ambas mediante análisis probit.

---

## II. MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

---

### 2.1 Insecticida

Los insecticidas, estrictamente sólo invoca sustancias destinadas a matar insectos, engloban más organismos con productos que matan especies cercanas como los ácaros (acaricidas), las pulgas (aficidas), larvas (larvicidas) o que perturban el desarrollo de especies impidiendo la eclosión de los huevos (ovicidas), así como la maduración sexual de los adultos. Los nematocidas para el tratamiento de suelos que destruyen gusanos parásitos en las partes subterráneas o en las partes aéreas de los vegetales. Los molusquicidas y los helicidas, son destinados a eliminar caracoles y babosas. Los rodenticidas (raticidas y miricidas) y los topocidas son aquellos que atacan a los roedores y otros lagomorfos. Los corvicidas y los corvífugos, destruyen o ahuyentan los pájaros, visitantes habituales de los cultivos. Los productos repulsivos son destinados ahuyentar mamíferos de talla importante como los zorros, jabalíes, osos, etc. (Giannuzzi, 2018)

#### 2.1.1 Mecanismo de acción de la efectividad insecticida

##### a) Toxicidad por contacto

El cuerpo de los insectos está cubierto por un tegumento y ésta a la vez en capa externa o epicutícula se diferencia de la exocutícula y endocutícula por la ausencia de quitina, es muy delgada y presenta numerosas faneras, que recubren el tegumento, puede facilitar o disminuir el efecto del insecticida, está cubierta por una fina película de cera (Bushra, *et al.*, 2018), restringe la pérdida de agua, evita la desecación y protege del daño abrasivo, sirviendo como una barrera para la absorción de insecticidas y otros químicos del ambiente por ejemplo el Peritre, Lindano, Rotenona, Nicotina, etc. (Ponce *et al.*, 2005), las cochinillas y las abejas, producen una cantidad mucho mayor de cera para protegerse, criar prole y almacenar miel (Harwood y James, 2009).

**b) Toxicidad por ingestión**

El intestino de los insectos se divide en tres partes, el anterior, medio y el posterior (o terminal), el intestino posterior y anterior, están recubiertos interiormente por una fina película de quitina. Solo en el intestino medio, las células epiteliales no están recubiertas por la película protectora de quitina y es en este que tienen lugar la digestión, la absorción y la penetración de los insecticidas de ingestión. Sin embargo, algunos compuestos necesitan estar disociados para que puedan ser absorbidos y así llegar a ser tóxicos para los insectos, y por lo tanto causarles la muerte (Villeda *et al.*, 2008)

**c) Toxicidad de los insecticidas de absorción por respiración**

El aparato respiratorio, comprende los estigmas por los que se abren al exterior las tráqueas. Estas se ramifican por todo el cuerpo en traqueólas de diámetro muy pequeño. La acción de los insecticidas fumigantes varía con la edad de los insectos; así las larvas son más sensibles que los adultos a pesar que su intensidad respiratoria es más débil, también varía con la forma fisicoquímica en que se encuentran, así, el gas de los insecticidas fumigantes, penetra en las tráqueas y las traqueólas, luego se difunde por todo el cuerpo (Villeda *et al.*, 2008)

**2.1.2 Las plantas como fuente de insecticidas**

Los insecticidas de origen vegetal están considerados dentro de la primera generación de plaguicidas, su uso se remonta a siglos antes de la era cristiana, cerca de 700,000 especies de plantas que hay en el mundo en su mayoría en los trópicos, algunas se conocen y se investigaron con fines plaguicidas aproximado de más de 2000 especies en el mundo (Ramírez *et al.*, 2009).

Las hojas de yuca liberan compuestos cianogénicos que son tóxicos y protegen las raíces de la misma planta de plagas como orugas defoliadoras, cortadoras o barrenadoras. También se ha probado la efectividad de las cenizas de las hojas de *Lantana* spp. y *Ochroma logopur* usadas en polvo contra áfidos en papas almacenadas. El extracto acuoso u oleoso de las semillas del árbol de

neem (*Azadirachta indica*) de la familia Meliaceae, cada vez más conocido y usado a nivel mundial por su componente activo la azadiractina que es de amplio espectro, regulador del crecimiento de los insectos en todos sus estados larvarios, pero sin efectos sobre huevos ni adultos (Vásquez *et al.*, 2007).

### **2.1.3 Ventajas y desventajas de los insecticidas vegetales.**

Han venido a reemplazar a algunos insecticidas sintéticos, principalmente por la facilidad que tiene el medio ambiente para degradar los metabolitos que presentan estos insecticidas vegetales, sin embargo, presentan desventajas, por lo que a continuación se mencionan algunas ventajas y desventajas (Devine, 2008).

#### **a) Ventajas**

- Conocidos por el agricultor ya que generalmente se encuentran en su mismo medio.
- Rápida degradación puede ser favorable, disminuye el riesgo de residuos en los alimentos.
- Varios actúan rápidamente inhibiendo la alimentación del insecto, aunque a la larga no causen la muerte del insecto.
- Debido a su acción estomacal y rápida degradación pueden ser más selectivos con insectos plaga y menos agresivos con los enemigos naturales
- Muchos de estos compuestos no causan fitotoxicidad.
- Desarrollan resistencia más lentamente que los insecticidas sintéticos.

#### **b) Desventajas**

- No todos son insecticidas, muchos son insectáticos lo que los hace tener una acción más lenta.
- Se degradan rápidamente por los rayos ultravioleta por lo que su efecto residual es bajo.
- No todos los insecticidas vegetales son menos tóxicos que los sintéticos.

## 2.2 Pseudocereales

Los pseudocereales se caracterizan por su hoja ancha, sus granos se utilizan como los cereales, pero no contienen gluten, el más representativo es la quinua y el trigo sarraceno. Pertenecientes a la familia Chenopodium que etimológicamente deriva del latín chênō que significa ganso y pōdĭum, significa pie, es decir, “pata de ganso” por la forma de las hojas, característico de la familia Amaranthaceae (kiwicha y cañihua), Chenopodiaceae, procedente de un ovario con una única semilla y el pericarpio es delgado y **no** soldado a dicha semilla, forman panojas o racimos donde se ubican los granos, además de ser dicotiledóneas (Enciclopedia de la vida, 2022).

Tiene amplia distribución mundial, con cerca de 250 especies, existen cuatro especies cultivadas como plantas alimenticias: como productoras de grano, *Ch. quinoa* Willd. y *Ch. pallidicaule* Aellen; como verdura *Ch. nuttalliae* Safford y *Ch. ambrosioides* L. en México; *Ch. carnosololum*; el número cromosómico básico del género es nueve, siendo una planta alotetraploide con 36 cromosomas somáticos. Describe Gianna (2013) a los **cereales** como característico de la familia Gramineae o gramíneas con fruto carnoso y parte del pericarpio está soldado a la semilla o cariósido seco e indehisciente, de hojas delgadas, puntiagudas, forman espigas donde se localizan los cariopsis, a menudo se hace acompañar de otras piezas de la flor como las glumas. Son monocotiledóneas y las más conocidas son el trigo, la cebada y el maíz.

### 2.2.1 Quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.)

La quinua es un aquenio y no una cariósido como el cereal, mal llamado pseudocereal en la década del 50 por el botánico Hunziker (Mujica, 2013; Tapia y Fries, 2007). Deriva de un ovario supero unilocular y de simetría dorsiventral, tiene un cilindro lenticular, levemente ensanchado hacia el centro (Gómez *et al.*, 2014). El fruto está cubierto por completo por el perigonio, contiene una sola semilla, de coloración variable, con un diámetro de 1,5 a 4 mm, la cual se desprende con

facilidad a la madurez, cuando está seco, y en algunos casos puede permanecer adherido al grano incluso después de la trilla dificultando la selección (Tapia y Fries, 2007). Asimismo, presenta dos capas internas: episperma exterior e interior que difícilmente se separan del grano o fruto.

De acuerdo a Gómez *et al.*, (2014), la clasificación taxonómica del grano de la quinua es la siguiente:

**Reino:** Vegetal

**División:** Fanerógamas

**Clase:** Dicotiledóneas

**Sub clase:** Angiospermas

**Familia:** Chenopodiaceae

**Género:** *Chenopodium*

**Especie:** *Chenopodium quinoa*

**Figura 1**

*Panojas de quinua Ayara*



Fuente: corresponde a trabajo experimental

**Figura 2**

*Granos de quinua Ayara*



### 2.2.2 Variedades de quinua

La quinua cuenta con más de tres mil variedades o ecotipos tanto cultivadas como silvestres se agrupan en cinco categorías básicas según el gradiente altitudinal: ecotipos del nivel del mar, del altiplano, de valles interandinos, de los salares y de las Yungas, con extraordinaria adaptabilidad a diferentes pisos agroecológicos, puede crecer con humedades relativas desde 40%

hasta 88%, y soporta temperaturas desde -4°C hasta 38°C. Eficiente en el uso de agua, tolerante y resistente a la falta de humedad del suelo, y permite producciones aceptables con precipitaciones de 100 a 200 mm (Gianna, 2013).

El hombre andino en su proceso de domesticación llegó a obtener las variedades actuales, tales como las quinuas Chullpi para sopas, las quinuas Pasankalla para tostado, las Ccoyotos para harina, las Reales para el graneado, la Utusaya para resistir a la salinidad, las Witullas y Achachinos para resistir el frío, las Kcancollas para resistir la sequía, las Quellus o amarillas para alto rendimiento, las Chewecas para resistir el exceso de humedad, las Ayaras (Figura 1 y 2) por valor nutritivo (alto balance de aminoácidos esenciales y proteína) y las Ratuquis. El poblador andino sigue manteniendo los parientes silvestres para su uso como plantas medicinales en casos extremos y para la alimentación. Es un cultivo que se adapta a condiciones muy variables, pudiendo ser cultivada hasta los 3900 metros sobre el nivel del mar, debido a que posee raíces pivotantes que aprovechan el agua a mayor profundidad y raíces fasciculadas para aprovechar el agua superficial, se adapta bien al clima frío y a la escasez de humedad (Zarate, 2016).

### **2.2.3 Ayara (*Chenopodium quinoa* spp. *melanospermum* Hunz)**

Las quinuas silvestres llamadas en la cultura aymara como “Aaara” y en quechua “Ayara”, aparecen en forma espontánea en campos de cultivo de quinua, presenta una raíz más profunda y ramificada, semillas oscuras con granos grandes, fuertemente adheridos al perigonio, menor dehiscencia y similar en morfología y fenología a la quinua cultivada. Son muy resistentes a variaciones climáticas extremas como sequias, presentando un mejor desarrollo, resiste a heladas, granizo, enfermedades y plagas, debido a sus características fisiológicas y morfológicas (Mujica y Jacobsen, 2006)

Se presume que la quinua negra posee gran cuantía el oligoelemento Litio, tal vez sea el motivo que ancestralmente se utilizaba como parte de la cultura, proporcionar a personas dolientes

a las que les sirve en mazamorra, panes tradicionales, ya que actúan como un ansiolítico o tranquilizante que ayuda a la relajación y alivio de la melancolía y otros trastornos psiquiátricos como la depresión, así como inhibir el insomnio y la tristeza (Arisaca, 2016)

#### **2.2.4 Saponinas**

Son compuestos glucósidos cuyas estructuras químicas se componen de un núcleo soluble en grasa (aglicona) que es un triterpenoide (C-30) o un esteroide neutro (C-27) unido a una o más cadenas laterales de azúcares solubles en agua (glicona) a través de enlaces éster al núcleo de aglicona en diferentes sitios de carbono. Las saponinas triterpenoides predominan en soja, alfalfa y quillaja, mientras que las saponinas esteroides predominan en yuca, tomate y avena (Hassan *et al.*, 2019)

#### **2.2.5 Estructura de las saponinas**

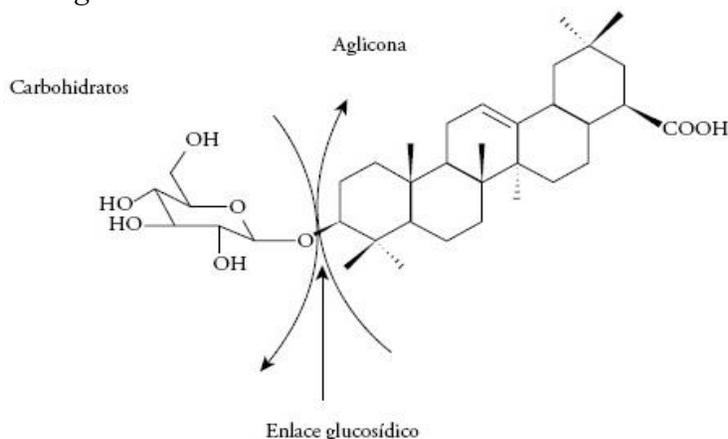
Las saponinas son glucósidos en los cuales varias unidades de monosacáridos se enlazan mediante un enlace glicosídico a un resto denominado aglicón y puede ser de naturaleza triterpénica o esteroidal y en función de esto, se clasifican en triterpénicas y esteroidales, presentan un precursor común: el óxido de escualeno. La diferencia radica en que las esteroidales han eliminado 3 de sus radicales metilos mientras las triterpénicas (ver Figura 4) los mantienen intactos, además algunos triterpenos no presentan el sistema policíclico característico del esterano (Hernández, 1996)

El aglicón en las saponinas esteroidales (sapogenina) presenta en la Figura 3, el esqueleto tetracíclico característico de este tipo de compuestos, denominado gonano (ciclopentanoperhidrofenantreno) en el caso de ser saturado. La característica estructural fundamental de estas sapogeninas radica en la presencia de dos anillos adicionales que se originan a partir del C-17 del esqueleto base y están contenidos respectivamente en dos planos perpendiculares entre sí. Además, el átomo de carbono común a estos dos nuevos anillos está unido

a dos átomos de oxígeno (estructura de un cetal) por los que a esta “cadena” lateral se le ha dado el nombre de cadena espirocetálica (Zarate, 2016).

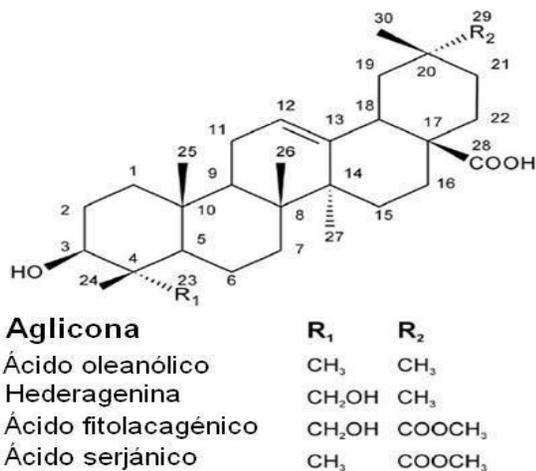
**Figura 3**

*Estructura de glicósido*



**Figura 4**

*Agliconas de saponinas triterpénicas de *Chenopodium quinoa**



Fuente: López, 2001

### 2.2.6 Usos de la saponina en la industria.

La saponina por sus características físicas (espuma) y químicas (ácidas), como parte de compuestos para extintores de incendios, industria fotográfica, cosmética (shampú), y farmacéutica, medicamentos para aves de corral. En la agricultura orgánica, el uso de saponina contra fitopestes, posee potencialidades comparativas y competitivas en relación a otros extractos vegetales con propiedades biocidas. Generalmente, en insectos plaga la saponina actúa por

contacto y sofocación, contra insectos (inmaduros y adultos) de cuerpo blando, además, son biodegradables y poco persistentes en los agroecosistemas (Bazile *et al.*, 2014)

Han adquirido gran relevancia como, agentes emulsificantes de grasas y aceites, protector de sustancias coloidales, cosmética, dentríficos, jabones, champú y acondicionador, formulación para tinturas y coloraciones para el pelo. Agente espumante para baño, no tóxico, con efectos en dermatosis y sueño profundo (Lieberman, 2002).

### **2.3 Leguminosas.**

Las plantas de la familia Leguminosae llamadas fabáceas, incluyen arbustos hierbas perennes o anuales, su fruto en forma de vaina que contiene las semillas, sus raíces tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico al suelo y es aprovechado por otros cultivos, en un sistema de producción en rotación. Sus semillas tienen un elevado contenido de proteína. La especie más estudiada es la soya (*Glycine max*), de la cual se obtienen flavonoides empleados como fitoestrógenos, proteínas con propiedades hipocolesterolemiantes y antihipertensivas incluida las especies del género *Lupinus*, de tal forma que sus alcaloides y proteínas poseen propiedades hipoglucemiantes (Pizano, 2014).

#### **2.3.1 Tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet)**

Se conocen alrededor de 450 especies de *Lupinus* en todo el mundo, 200-300 son de Sudamérica, solo cuatro de estas especies han sido domesticadas con intereses comerciales y agronómicos: *Lupinus albus* (lupino blanco), *L. angustifolius* (estrecho de hoja o lupino azul), *L. luteus* (lupino amarillo) y *L. mutabilis* (lupino andino) (Figura 5) (Camarena *et al.* 2012). Ésta última, con vainas que no se rompen, semillas grandes y permeables, reducción de la pigmentación de la semilla y más o menos un ciclo de vida anual (Yucra, 2021).

La raíz, presenta un gran número de nódulos nitrificantes que se considera que pueden llegar a pesar 50 g por planta (Tapia, 2015). Del proceso de simbiosis entre la raíz y las bacterias

del género *Rhizobium*, con la especie *Rhizobium lupini*, se ha considerado que se puede fijar el elemento nitrógeno que sería un aporte para el próximo cultivo.

### Figura 5

*Principales especies de Lupinus cultivadas, distribución aproximada del L. mutabilis*



Fuente: Yucra, 2021

#### 2.3.1.1 Clasificación taxonómica del tarwi.

El primero que la describió fue Sweet en 1825, en el caso de las especies de *Lupinus* del “nuevo mundo”, ocurre hibridaciones interespecíficas, lo que también se ha observado en *L. mutabilis*. Esto hace que la variabilidad genética del tarwi sea mayor, por lo que es indispensable una nueva definición taxonómica. La clasificación taxonómica según Camarena et al. (2012), es la siguiente:

**Orden:** Fabales

**Suborden:** Leguminosae

**Familia:** Fabaceae

**Subfamilia:** Faboideae

**Tribu:** Genisteae

**Género:** *Lupinus*

**Especie:** *Lupinus mutabilis* Sweet

*Lupinus mutabilis*, conocido como Tarwi, Chocho y Andean lupin muestra una amplia diversidad genética de la planta con la adaptación a suelos, precipitación, temperatura, altitud y periodo vegetativo, por consiguiente, varía en precocidad, contenido en proteínas, aceites, alcaloides, rendimiento y tolerancia a plagas y enfermedades (Mujica, 2006). El color del grano (entre blanca, gris, marrón y otras) y flor es variable (blanco, amarillo púrpura, azul) dependiendo de la variedad y ecotipo (Tapia, 2015). En el Perú, Ecuador y Bolivia se han identificado 83 especies del género *Lupinus* (Mujica, 2003).

El tarwi se adapta a diferentes climas de los Andes y puede llegar a tener altos rendimientos entre 1500 a 2500 Kg. por Ha; la semilla contiene un sabor amargo un grupo de **alcaloides** (3.5%-4.2%) quinolizidinicos entre los que sobresalen la lupanina y 4, 13-dehidroxilupanina (Palma, 1981, mencionado por Tapia, 2015) que es necesario eliminar bajo un proceso de cocción y lavado, antes de consumir.

### **2.3.2 Alcaloides**

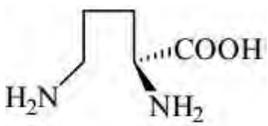
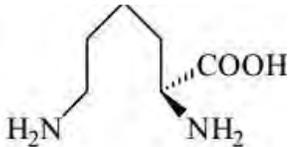
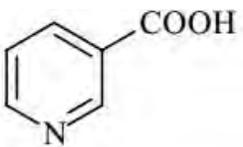
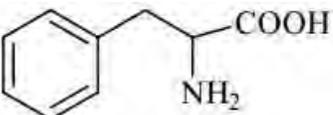
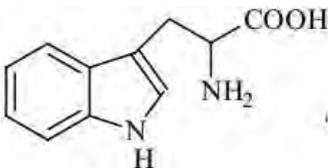
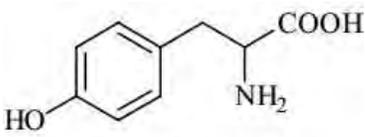
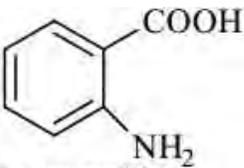
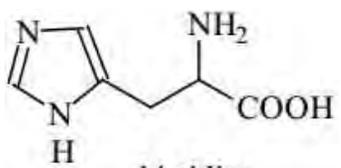
Se caracterizan por contener nitrógeno en su estructura, en un estado de oxidación negativa, cuya distribución es limitada en organismos vivos, el cual dentro del metabolismo normal de las plantas no se transforman totalmente en proteína vegetal, sino que continúa su circulación en la savia o se fija en algunas partes de la planta, por lo que pueden combinarse con moléculas de azufre formando heterósidos cianogénicos (Silva, 2002). Aquellos derivados del tropano contienen en su estructura moléculas con átomos de nitrógeno secundario, terciario y cuaternario que le confiere alta toxicidad, actuando como fitoalexinas o evitando la interacción planta-insecto. Los alcaloides aporfinos y acetogeninas anonáceas, mostraron fuerte toxicidad contra larvas de crustáceos de mar como *Artemia salina* y del mosquito *Ae. aegypti*, vector de la fiebre amarilla (Chang *et al.*, 2000)

### 2.3.2.1 Clasificación de alcaloides.

En los alcaloides, la química de los átomos de nitrógeno permite agruparlos como se detalla en la Tabla 1 (Roberts y Wink, 1998)

**Tabla 1**

Clasificación de acuerdo a su origen botánico

<b>A L I F Á T I C O  A  L C A  L O M I D I C O S  S</b>	<b>Derivados de la ornitina (pirrolidinas, tropánicos, pirrozilidínicos)</b>	<b>Derivados de la lisina (piperidinas, quinolizidínicos)</b>
		
	ornitina	lisina
	<b>Derivados del ácido nicotínico (piridinas)</b>	<b>Derivados de la fenilalanina y tirosina</b>
		
ácido nicotínico	<b>Fenilalanina</b> (isoquinoleínas)	
<b>Derivados del triptófano (indólicos, quinoleínas)</b>	<b>Derivados de la histidina (imidazoles)</b>	
		
Triptófano	tirosina	
<b>Derivados del ácido antranílico (quinoleínas)</b>	<b>Derivados de la histidina (imidazoles)</b>	
		
ácido antranílico (quinoleínas)	histidina	

Fuente: Pizano, (2014)

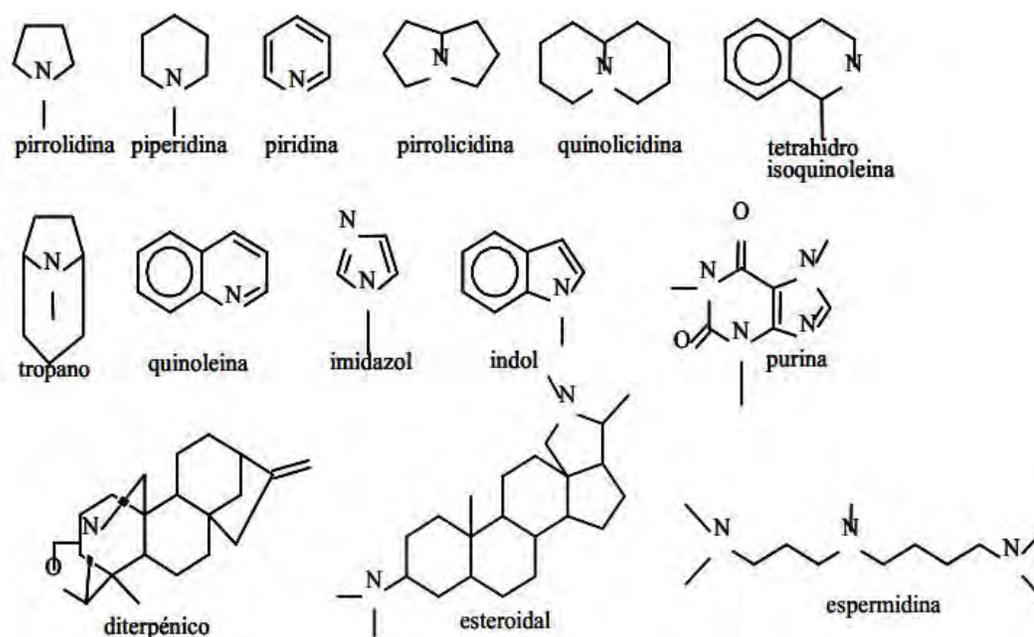
**1. Aminas secundarias y terciarias.** Son más o menos protónicas debido a lo cual tienen propiedades hidrofílicas a  $\text{pH} < 7$ , la mayoría de los casos son lipofílicas y no protónicas a  $\text{pH} > 8$ . Este es el tipo de alcaloide clásico.

**2. Compuestos amino cuaternarios.** Son muy polares (las cargas eléctricas forman un dipolo), cargados a todos a los valores de  $\text{pH}$  y por sus características tienen que ser aislados como sales.

**3. Compuestos amino neutros.** Los que incluyen los alcaloides tipo amida 4-N-óxidos, que son altamente solubles en agua y encontrados en muchas clases de alcaloides. Clasificado según su origen en la Tabla 1 y su denominación según a su núcleo mostrado en la Figura 6.

**Figura 6**

*Núcleos de alcaloides*



Fuente: Pizano, (2014)

### 2.3.3 Alcaloide quinolizidínico

Los alcaloides quinolizidínicos son un grupo importante de compuestos naturales en el género *Lupinus* (Fabaceae) estos metabolitos secundarios son un mecanismo de defensa contra microorganismos fitopatógenos, herbívoros y contra otras especies de plantas que causan

competencia, se fundamenta en su actividad inhibidora de la síntesis proteica, del RNA transmisor, depresores del sistema nervioso central, oxitóxicos, antiarrítmicos e hipoglicemiantes (Wink, 1998 citado por Zamora *et al.*, (2008). Muchos agricultores utilizan esta propiedad para el control de plagas, ectoparásitos y parásitos intestinales de los animales, en virtud de los efectos que éstos han encontrado en conejos, áfidos, abejas, escarabajos (en insectos), nematodos, caracoles y gusanos (Bermúdez, 2000).

### **2.3.4 Alcaloides de lupinos silvestres**

Las especies silvestres de lupinos contienen alta concentración de alcaloides del tipo quinolizidínico, que oscila entre el 1 al 4%, mientras que en los domesticados el contenido de alcaloides es menor al 0.05%. En relación a los lupinos de América, los alcaloides más abundantes reportados son la lupanina (46%), y la esparteína (14%), 4-hidroxi-lupanina (10%), isolupanina (3%), además de la 13- n-metilangustifolina (3%), 13-hidroxi-lupanina (1%), 17-oxolupanina, multiflorina, epiafilina en las flores y hojas con 26 y 37% respectivamente, n-metilangustifolina (3%), dehidro-oxoesparteina, afilina (Pizano, 2014)

### **2.3.5 Alcaloide quinolizidínicos de *Lupinus ssp.***

Las quinolizidinas auténticas derivadas de la lisina, se localizan en las leguminosas lotoideas y se pueden subdividir en bicíclicas como la lupanina, tricíclicas como la citosina o tetracíclicas como la esparteína (García *et al.*, 2004)

Los tallos y hojas de *L. exaltatus* contienen los alcaloides epiafilina,  $\alpha$ -isolupanina, lupanina, afilina, dehidro-oxoesparteína, 3- $\beta$ -hidroxilupanina. El contenido relativo de lupanina en relación al contenido total de alcaloides es de 33 y 53% distribuida en tallos y frutos respectivamente, seguidos de la epiafilina (Zamora *et al.*, 2005)

### **2.3.6 Biosíntesis de alcaloides quinolizidínicos (AQ) en lupinos**

Se realiza en las partes aéreas verdes de la planta, en el cloroplasto, de tal forma que el

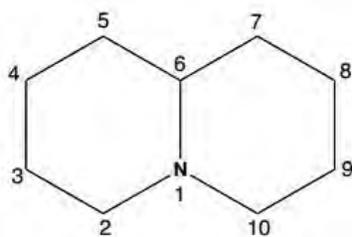
núcleo quinolizidínico representa la unidad básica del alcaloide más simple (lupanina) presente en los lupinos. La síntesis es regulada por la luz, por ello alcanzan sus niveles más altos durante el día, son transportados por el floema a otras partes de la planta y se acumulan predominantemente en estratos celulares sub-dérmicos. En las semillas pueden almacenar hasta el 8% de su peso seco. La concentración total de AQ varía de acuerdo a la etapa fenológica y partes de la planta analizada (Pizano, 2014)

Los AQ son sintetizados a partir del aminoácido L-lisina, la cual sufre un proceso de descarboxilación por la actividad de la decarboxilasa de lisina, una enzima presente en los cloroplastos de la planta. Lo anterior genera la cadaverina; un precursor e intermediario entre la lisina y los AQ. Así, los dos átomos de nitrógeno del núcleo quinolizidínico (quinolizidina) de los alcaloides son derivados de la lisina o cadaverina en su mayoría son bicíclicos o tetracíclicos (2 o 4 anillos) (Bermúdez *et al.*, 2000)

Se distinguen de otros alcaloides porque poseen al menos, un sistema de anillo quinolizidínico (Figura 7) Se pueden agrupar por lo menos en 8 grupos con los siguientes tipos estructurales: (1) Lupinina, (2) leontidina, (3) esparteina/lupanina/multiflorina, (4)  $\alpha$ -piridónico, (5) Matrina, (6) Ormosia, (7) Piperidínicos y dipiperidínicos, (8) Estructuras misceláneas (Pizano, 2014)

### Figura 7

*Estructura central de alcaloides quinolizidínicos, aparecen como aminas terciarias y como N-óxidos*



Fuente: Pizano, 2014

### 2.3.6.1 Toxicidad de los alcaloides quinolizidínicos

Zamora *et al.*, (2008) indica que la mezcla de los diversos AQ provocan envenenamiento agudo como fallo respiratorio, convulsiones y coma, lo cual fue reportado en animales que consumieron forraje de lupinos silvestres cuyo contenido es mayor al 1%.

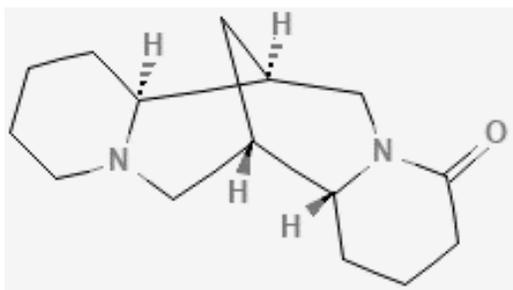
La dosis letal media ( $DL_{50}$ ) de la esparteína y la lupanina, varía dependiendo la vía de administración, como de la especie animal. En ratones, la  $DL_{50}$  de la lupanina vía intraperitoneal es 50 mg/Kg, mientras que la  $DL_{50}$  de esparteína vía oral es 350-510 mg/Kg (Zirena, 2014)

### 2.3.7 Lupanina

Del grupo de quinolizidínicos, se encuentra en mayor concentración con efectos neurotóxicos (Rodríguez, 2009). Con actividad antibacteriana, antinematicida contra lepidópteros y coleópteros, produce inhibición de las actividades moduladoras, inhibe la síntesis de proteínas, antiarrítmica, hipotensora, e hipoglucemiante. Esto demuestra que dichos alcaloides puros o en forma de sales (clorhidratos y sulfatos) administrados en dosis altas actúan como tóxicos, pero cuando se administran en dosis moderadas actúan como medicamento (Aguirre, 2018). Se caracteriza por su forma de prismas ortorrómbicos, soluble en agua, éter, alcohol o cloroformo, es una base fuerte, se difunde rápidamente a través de las membranas biológicas, la duración de su actividad es más corta que la esparteína (Zamora *et al.*, 2005)

**Figura 8**

*Estructura molecular de la lupanina*



Fuente: PUBCHEM, 2023

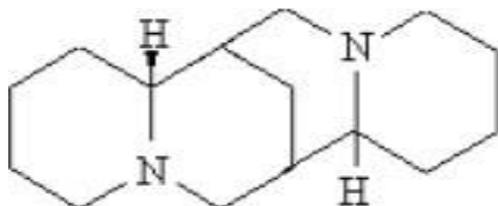
### 2.3.8 Esparteína.

Es un gangliopléjico poco potente, bloquea la transmisión por impedir la despolarización de la membrana post-sináptica; después de una fase transitoria de excitación ganglionar, aísla el miocardio de la influencia neurovegetativa central, disminuye la excitabilidad del tejido nodal, la conductibilidad, frecuencia y amplitud de las concentraciones. Sus efectos secundarios son poco importantes como trastornos digestivos, hipotensión ortostática (Kim y Joon, 2017)

La lupanina y esparteína son considerados tóxicos para los vertebrados por ser agonistas de los receptores de acetilcolina, inhibidores de los canales de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>, lo que bloquea la señal de transducción neuronal. (Harwood y James, 2009)

#### Figura 9

*Estructura molecular de la esparteína*



Fuente: Aguirre, 2018

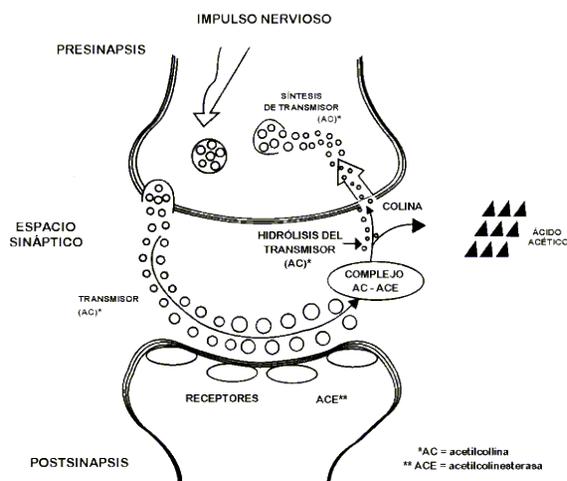
### 2.4 Efecto tóxico de los bioinsecticidas

La toxicidad de los insecticidas o de cualquier tóxico a un organismo, se expresa usualmente en términos de DL<sub>50</sub> (dosis letal media); este valor representa la cantidad de tóxico por unidad de peso que mata 50% de los animales empleados en la prueba. La DL<sub>50</sub> comúnmente se expresa en mg kg<sup>-1</sup> y ocasionalmente en mg por animal (Ponce *et al.*, 2006) En los casos en que no se sabe la cantidad de tóxico que entra en contacto con el insecto, pero si se sabe cuál es la cantidad de insecticida que rodea al organismo, se usa el término CL<sub>50</sub> (concentración letal media), concentración del compuesto tóxico que mata a un 50% de los animales expuestos, en un periodo específico (posaplicación 24 h) (Valle y Lucas, 2000)

Giannuzzi (2018) afirma que insecticidas organofosforados y carbamatos presentan su acción tóxica bloqueando enzimas del SNC llamadas colinesterasas. Durante la sinapsis el impulso es transmitido por la acetilcolina, la cual es destruida por la colinesterasa, de esta manera la sinapsis puede ser anulada para otra transmisión. En insectos el efecto de los organofosforados y carbamatos es principalmente afectar el SNC, desde la unión neuromuscular no colinérgica como en mamíferos. La única sinapsis colinérgica conocida en insectos es en el SNC. La unión neuromuscular química transmitida en insectos es ácido glutámico. Los primeros como insecticidas, pertenecen al tipo de ésteres sencillos del ácido fosfórico tales como el TEPP (Tetraetilpírofosfato) y otros, a los que se agregó después el paratión, a pesar de su antigüedad sigue siendo de uso común en todo el mundo (Ponce *et al.*, 2006)

### Figura 10

*Proceso fisiológico neuromuscular durante la estimulación*



Fuente: Giannuzzi, 2018

#### 2.4.1 Evaluación de toxicidad de los bioinsecticidas

La evaluación de la toxicidad de los plaguicidas, puede hacerse en insectos y animales superiores, para inferir sus riesgos en el hombre. Hay muchas formas de administrar insecticidas para evaluar toxicidad. El método empleado para insectos, es la aplicación tópica, en la que el insecticida se disuelve en un solvente volátil e inocuo, se puede administrar con un inyectable en

el abdomen a nivel intersegmentario evitando dañar el cordón nervioso abdominal. Para expresar la susceptibilidad, se grafican las unidades Probit del porcentaje de mortalidad, contra una escala logarítmica de la dosis. En forma empírica, se ha observado que, en muchos procesos bioquímicos y fisiológicos, incrementos iguales en efecto son producidos sólo cuando el estímulo se incrementa logarítmicamente (Giannuzzi, 2018).

## **2.5 Mosca de la fruta (Díptera: Tephritidae)**

Pertenecen a la familia *Tephritidae* del orden Díptera, se caracterizan porque las hembras colocan sus huevos en tejidos vegetales horto-frutícolas sanos de los cuales emergerán las larvas. Este tipo de hábito alimenticio lo separa de otro grupo de dípteros *Drosophilidae* en el que también las hembras ponen sus huevos en tejidos vegetales siempre y cuando presenten algún tipo de daño o deterioro (Bertolaccini, 2016), una sola hembra adulta es capaz de poner aproximadamente 500 huevos. Estos son puestos cerca de la superficie de cualquier comida que esta madurada o en alguna superficie que tenga material orgánico y humedad. Cuando eclosionan los huevos, las pequeñas larvas siguen su alimentación en la superficie de la fruta mientras se pudre. Su ciclo de vida entero, desde que la hembra pone el huevo hasta llegar a la fase adulta puede variar según la temperatura del espacio donde estén. Este además es completo, lo que quiere decir que atraviesan por 4 estados biológicos diferentes que son: huevo, larva, pupa y adulto (Hassan *et al.*, 2019)

Montoya *et al.* (2020) indica, en el año 1956 se registró por primera vez en Perú en el departamento de Huánuco, la introducción de la mosca del Mediterráneo *Ceratitis capitata*.

El género *Anastrepha*, es nativo del continente americano, de las 205 especies conocidas, en Perú se ha registrado 34 especies. Esta familia representa el grupo más diversificado de todos los grupos que constituyen las moscas, estando representados por aproximadamente 471 géneros y 4257 especies (Ramón, 2012 mencionado por Huaraca, 2018), indica la taxonomía de la mosca de la fruta.

**Orden:** Díptera

**Familia:** Tephritidae

**Género:** *Anastrepha*, *Ceratitis*, *Bactrocera*, *Dacus*, *Rhagoletis* y *Toxotrypana*

**Especie:** spp.

Los géneros, el *Anastrepha* spp. es considerado como el de mayor importancia económica resumida en la Tabla 2, debido a la magnitud del daño que causan sus larvas en frutos de plantas cultivadas en los países tropicales y subtropicales del Continente Americano (Pérez, 2014 mencionado por Huaraca 2018)

**Tabla 2**

Relación de familias de plantas asociadas con especies del género *Anastrepha* y *Ceratitis*

<b>Familia planta</b>	<b>Especie mosca</b>
Fabaceae (Pacae)	<i>Anastrepha distincta</i>
Myrtaceae (Guayaba)	<i>Anastrepha striata</i> , <i>Anastrepha fraterculus</i> , <i>Anastrepha suspensa</i>
Passifloraceae (Maracuyá, granadilla)	<i>Anastrepha pallidipennis</i>
Rutaceae (Naranja, limón, mandarina)	<i>Anastrepha ludens</i> , <i>Anastrepha fraterculus</i> , <i>Ceratitis capitata</i>
Sapotaceae (Níspero)	<i>Anastrepha serpentina</i> , <i>Anastrepha leptozona</i>
Anacardiaceae (Mango)	<i>Anastrepha oblicua</i> , <i>Anastrepha fraterculus</i>
Bombacaceae (zapote de los Andes)	<i>Anastrepha quararibea</i> , <i>Anastrepha mucronota</i>
Cucurbitaceae (Melon)	<i>Anastrepha grandis</i>
Euphorbiaceae (yuca)	<i>Anastrepha manihot</i> , <i>Anastrepha pickeli</i> , <i>Anastrepha montei</i>

Fuente: Huaraca, 2018.

Este género comprende actualmente un poco más de 200 especies descritas. De las cuales, cuatro son consideradas en la tabla 3, de importancia económica en frutales: *Anastrepha striata* Schiner, en guayaba, *A. fraterculus* (Wiedmann) en durazno, mango, jobo, y otros frutales, *A. oblicua* (Macquart) en mango y jobo y *A. serpentina* (Wiedmann) en níspero, caimito y otras sapotáceas. (Ramírez, 2009)

**Tabla 3**

Especies de moscas de la fruta reportadas en la Región Apurímac SIIMF (Sistema Integrado de Información de mosca de la fruta)

Región	Nº especies identificadas	Especies de moscas
Apurímac	4	<i>Anastrepha distincta</i> , <i>Anastrepha fraterculus</i> , <i>Anastrepha schultzi</i> , <i>Ceratitis capitata</i>

Fuente: SENASA (2015)

Además de éstas existen otras especies como: *Anastrepha pickeli* y *Anastrepha manihot*, son consideradas como plagas potenciales en yuca, cuando atacan los frutos no causan pérdidas económicas, pero cuando atacan los tallos, por las galerías se introduce y se contamina con la bacteria *Erwinia* sp. que puede causar daños severos, así también en el material de siembra, el uso de material infestado trae como consecuencia pérdidas en la germinación y por consiguiente en la producción (Valdez, 2010) como indica en la Tabla 4.

**Tabla 4**

Especies identificadas de la mosca de la fruta en los diferentes frutales en el Valle de Pachachaca

Familia	Hospederos	Nombre común	Especie de mosca de la fruta
Annonaceae	<i>Annona cherimolia</i>	Chirimoya	<i>Anastrepha fraterculus</i>
Fabaceae	<i>Inga feuillei</i>	Pacay	<i>Anastrepha distincta</i>
Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i> <i>Citrus aurantifolia</i>	Naranja dulce Limón sutil	<i>Ceratitis capitata</i>
Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i> L.	Guayaba común	<i>Anastrepha fraterculus</i>

Fuente: Huaraca, 2018

### 2.5.1 *Anastrepha* spp. (Díptera: Tephritidae)

De todas las especies conocidas, particularmente ocho de ellas son consideradas de importancia económica y cuarentenaria en los trópicos americanos por su amplia distribución o por el rango de hospederos en que se alimentan. *Anastrepha ludens* (mosca mexicana de la fruta), *A. obliqua* (mosca de las Indias Occidentales), *A. fraterculus* (mosca sudamericana de la fruta), *A. suspensa* (mosca del Caribe), *A. striata* (mosca de la guayaba), y *A. grandis* (mosca del melón), *A. serpentina* (mosca de los sapotes), y *A. curvicauda* (mosca de la papaya). Comprende especies de tamaño

medio a grande con cuerpo usualmente marrón amarillento a negro, con manchas y bandas amarillas, las alas son oval-alargadas con patrón de coloración constituido con una banda costal “S” y “V” (Huaraca, 2018)

### **Descripción de ciclo de vida de la mosca de la fruta**

Montoya (2020) afirma que este insecto desarrolla una metamorfosis completa (holometábola), atraviesan por 4 fases biológicas:

- **Huevo:** de forma ovoide, son de color blanco cremoso, su tamaño es menor de 2 mm y en algunos casos el corion se encuentra ornamentado.
- **Larva:** su longitud varía de 3 a 15 mm. Son de color blanco a blanco perlado alargadas de cabeza no esclerosada, retráctil y en forma de cono.
- **Pupa:** Es una cápsula cilíndrica color varias tonalidades entre café, rojo y amarillo, con 11 segmentos, el color varía en las distintas especies, su longitud es de 3 a 10 mm. y su diámetro de 1.25 a 2.00 mm.
- **Adulto:** Tiene el cuerpo amarillo, naranja, café o negro y combinaciones entre éstos, se encuentra cubierto de pelos o cerdas, cabeza grande y ancha, recta o inclinada hacia atrás; ojos grandes, de color verde luminoso o violeta, aparato bucal con probóscide corta, carnosa. En el tórax se encuentran tres regiones características que llevan gran cantidad de setas, están ampliamente cubiertas de fina pubescencia y presentan bandas o manchas que difieren en las distintas especies: preescuto, escuto y escutelo. Alas grandes, con bandas y manchas de color negro, café, naranja o amarillo, formando diversos patrones de coloración. El abdomen consta de 5 a 6 segmentos y puede llegar a vivir hasta tres meses bajo condiciones favorables, aunque puede prolongar su vida hasta por 10 meses en zonas templadas y frías.

## Figura 11

*Mosca de la fruta adulto (Anastrepha spp.)*



Fuente: Corresponde a trabajo experimental.

### 2.5.2 Larva de mosca de la fruta *Anastrepha* spp. (Díptera: Tephritidae)

Es una plaga muy grave de algunas frutas de hoja caduca, como durazno, mango, paca, guayaba, pera, manzana, etc. Se alimentan (Figura 12) de la pulpa de fruto hospedante, haciendo un túnel a través de él y reduciendo el todo a una masa jugosa no comestible, en algunos de los países mediterráneos, sólo las variedades precoces de cítricos se cultivan porque las moscas se desarrollan tan rápidamente que las frutas tardías están demasiado infestadas para ser comerciable. Algunas áreas han tenido casi el 100% infestación en frutas de hueso. La cosecha antes de completar la madurez se practica en las zonas generalmente infestado con esta mosca de la fruta (Hassan *et al.*, 2019)

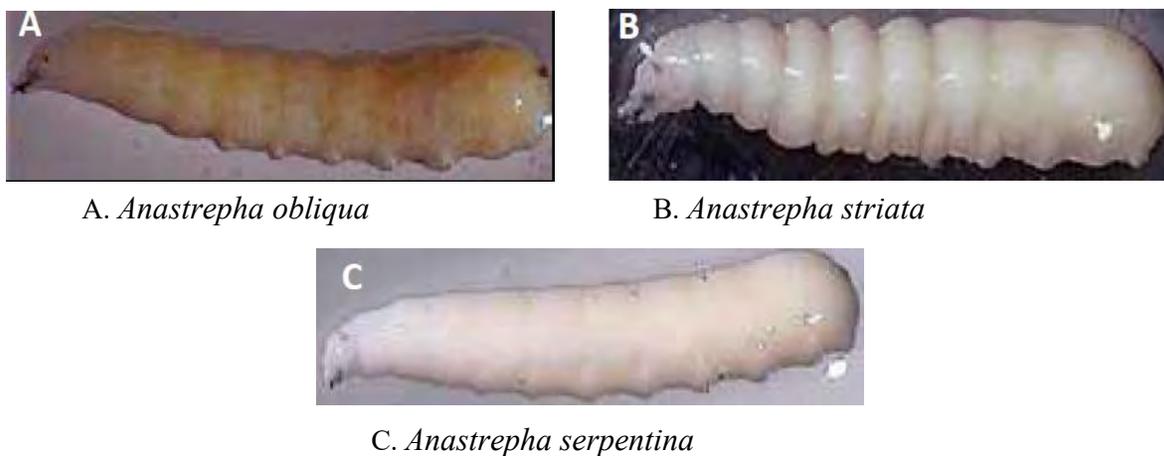
### 2.5.3 Morfología general

Las larvas de la mosca de la fruta al ir alimentándose pudren el sitio que las alberga, lo que imposibilita que pueda ser consumido por humanos u otros mamíferos. La voracidad es impresionante (Manayay, 2018), como en la Figura 12, al emerger las larvas comienzan de inmediato a alimentarse de la fruta gracias a la carina bucal mostrado en la Figura 13, estos

pequeños insectos pasan por 3 estadios, según las condiciones climáticas, puede tomar entre 6 a 11 días. Una vez la larva está madura en el *III* estadio abandona el fruto; si este se encuentra en un árbol dicho abandono coincide con la caída de la fruta (Nuñez, 2004)

### Figura 12

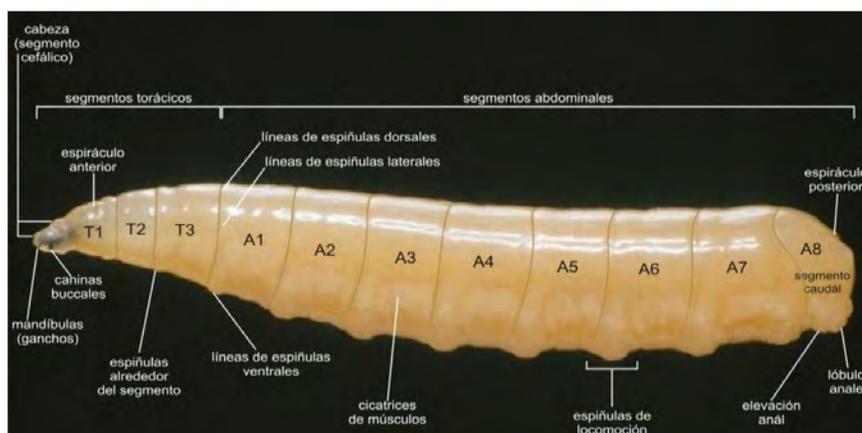
*Imagen lateral del III estadio larvario*



Fuente: Nuñez, 2014

### Figura 13

*Partes de la larva de mosca de la fruta*



Fuente: Thomas, 2000

Korytkowski, (2011) la larva tiene forma de cono-cilíndrico, alargada de 8 segmentos de color blanco a blanco perlado (Figura 13) con un extremo anterior estrecho y algo recurvado ventralmente, con boca anterior ganchos y aplanado extremo caudal. En la parte anterior tiene

antenas y papilas sensoriales, además, sus mandíbulas son dos ganchos esclerosados que están en paralelo y se distinguen sin problema en la abertura bucal, aunque están casi completamente cubiertas por labios, los cuales están formados por una serie de membranas carnosas que recuerdan a un abanico y son llamadas carinas bucales. El último estadio suele ser de 7 a 9 mm de longitud, con ocho áreas fusiformes ventrales, al emerger del fruto en su *III* estadio se entierra entre 2 a 3 cm. de profundidad en el suelo para transformarse en pupa, en un periodo de 9 a 15 días, dependiendo de la temperatura ambiental, si es baja este estado puede llegar a tomar meses, son de hábitos fitófagos estrictos de una gran variedad de tejidos vivos de diversas frutas, semillas, flores, tallos y raíces (Montoya, 2020)

En el caso particular de *A. fraterculus*, se sabe que esta especie nominal comprende en realidad un complejo de especies crípticas. Con base en estudios morfométricos han sido identificados 8 morfotipos en diferentes regiones biogeográficas de América tropical (Núñez, 2004).

## **2.6 Dosis letal (DL<sub>50</sub>)**

La dosis letal 50% es aquella concentración del insecticida que, al ser administrada por cualquier vía de ingreso oral o dermal, en un periodo de tiempo definido mata el 50% de la población de insectos evaluada (Silva y Arango, 2002). Cuando se realiza un experimento para conocer la toxicidad de un insecticida sobre un determinado insecto puede ocurrir que se use una metodología directa o indirecta, **la forma directa** se refiere a aplicar un volumen conocido de una sustancia con concentración conocida sobre el insecto (directamente) lo que se conoce como dosis y corresponde a la Dosis letal (DL<sub>50</sub>) (Huamán, 2015). **La forma indirecta** trata de la saturación de un medio en una sustancia de concentración conocida (sumergir una hoja en el insecticida, por ejemplo) y posteriormente colocar los insectos en el medio sin certeza de cuanto volumen está en contacto con cada organismo, ya esto se le conoce como dosificación y se habla de Concentración

letal ( $CL_{50}$ ) y es expresada en la unidad que la solución es evaluada (ppm, p/v%, g/kg) (Ramírez, 2009). Aunque la veracidad de la prueba es demostrada al matar la mitad de los organismos de prueba, los resultados siempre están en dependencia del metabolismo y las características genéticas del insecto, ya que unas son más resistentes que otras (González, 1993). También dependen de los factores ambientales y el modo de administración. Todos estos factores resultan limitantes a la hora de realizar la prueba (Manayay, 2018).

Los efectos secundarios en los insectos expuestos se observan cuidadosamente y se registran los signos y síntomas de toxicidad analizando durante intervalos regulares post aplicación, al final todos los insectos sobrevivientes se autopsian, incluye examinación al microscopio de órganos y tejidos para caracterizar las patologías asociadas con la exposición al químico de prueba (Penningroth, 2010 citado por Roldan, 2016).

## 2.7 Concentración letal ( $CL_{50}$ )

Zirena, (2014) afirma, que es la concentración, obtenida por estadística, es una dosis **estadística no es una dosis real**. Y se deriva de los estudios de toxicidad aguda, donde la mitad de los animales de prueba mueren y la otra mitad sobrevive. Cuando se reporta la  $LD_{50}$ , se deben señalar tanto la especie de los animales de prueba como la ruta de exposición, porque ambos son factores determinantes en la determinación de la  $LD_{50}$ . Por ejemplo, la  $LD_{50}$  para el arsénico en ratas expuestas por la vía de la ingestión oral se reporta como sigue:  $LD_{50}$  oral, rata = 48 mg/Kg. de una sustancia de la que puede esperarse que produzca la muerte, durante la exposición o en un plazo definido después de ésta, del 50% de los animales expuestos a dicha sustancia durante un periodo determinado. Además, los xenobióticos pueden tener diversos efectos a diferentes dosis.

Esta prueba fue creada en 1927 por el farmacólogo británico John William Trevan; la concentración letal 50% ( $CL_{50}$ ) es aquella concentración de insecticida, que al ser administrada

por cualquier vía de ingreso (por ingestión, contacto o inhalación), en un período de **tiempo** definido mata al 50% de la población de organismos objetivo (Matos *et al.*, 2019).

## 2.8 Regresión probit

Un modelo probit también llamado regresión probit, es una manera de realizar la regresión para las variables dependientes de resultados binarios, es decir con dos posibilidades (Ramos y Santacruz, 2012)

El método Probit es una alternativa logarítmica lineal para manejar conjunto de datos con variable dependiente categórica, este modelo se utiliza para analizar datos del tipo dosis-respuesta. Los datos obtenidos de un bioensayo no pueden ser analizados con la metodología estadística tradicional que se usa en los ensayos de campo, sino que se debe utilizar lo que se llama curva cuantil, que se caracteriza por la respuesta a un estímulo de  $n$  unidades experimentales donde  $r$  unidades responden y  $n - r$  no lo hacen. El principal objetivo de este tipo de análisis es evaluar el nivel de estímulo que es necesario para obtener una respuesta en un grupo de individuos de la población (Avilés *et al.*, 2013)

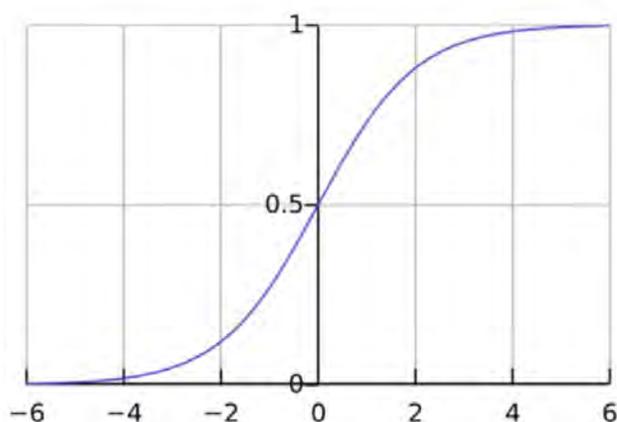
Es un método de ajustar una curva sigmoideal a los datos para comparar la relación de la variable de respuesta (Y) con la variable independiente (X) (Manayay, 2018)

Se basa en la cuantificación probabilística de la vulnerabilidad de un organismo al ser expuesto a un tóxico. Dicho método consiste en la aplicación de correlaciones estadísticas para estimar las consecuencias desfavorables sobre la población u otros elementos vulnerables a los fenómenos físicos peligrosos. El método de análisis Probit permite estimar la  $CL_{50}$  con los datos de mortalidad mediante una técnica de probabilidad para estimar los valores que siguen una distribución logarítmica de tolerancia. El porcentaje de organismos afectados o muertos por la acción tóxica de una sustancia se transforma a unidades Probit (Manayay, 2018).

Delgado (2016) afirma que, para el análisis de la curva dosis-Probit, cuando se hace análisis utilizando regresión Probit no necesariamente siempre se ajustará a una línea o recta, será dependiendo del comportamiento de los datos y lo que sucede en la mayoría de los casos lo que se ajusta es una curva sigmoidea a los datos como se observa en la Figura 14, se representa esta ecuación de regresión, se obtendrá una curva en S, como la que se muestra a continuación:

**Figura 14**

*Curva de regresión probit*



$$f(x) = \frac{1}{1+e^{-x}}$$

Cuando se trabaja con una regresión Probit es necesario que exista una distribución normal de la respuesta tóxica. El análisis Probit, es un tipo particular de regresión lineal que tiene como objetivo conocer la relación que existe entre una variable independiente (la concentración de un tóxico) y una variable dependiente (la respuesta=mortalidad) para una especie y una exposición determinada. Para ello la respuesta acumulada de los organismos (mortalidad acumulada) se transforma a unidades Probit (eje Y) y la concentración del tóxico se transforma logarítmicamente (eje X). El resultado es una recta en la cual se puede interpolar el 50% ó 95% de la respuesta y conocer que concentración de tóxico causa esa respuesta (CL<sub>50</sub> ó CL<sub>95</sub>), (Gutiérrez *et al.*, 2016).

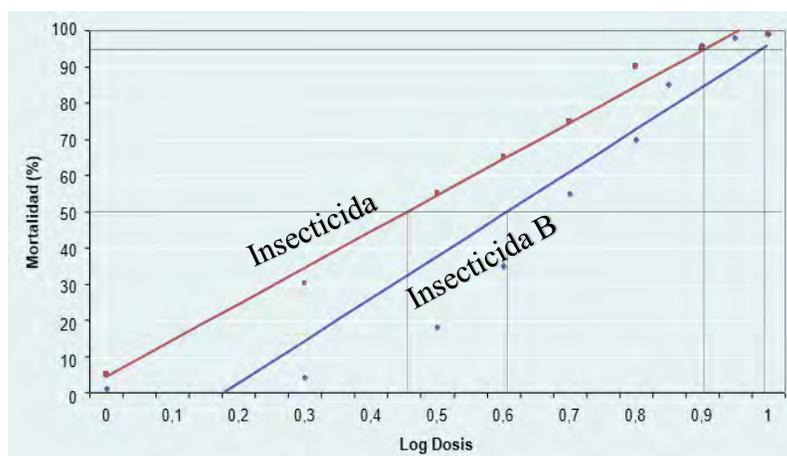
### 2.8.1 Métodos para la estimación de la DL<sub>50</sub> mediante análisis Probit

**Método gráfico (extrapolación):** Consiste en graficar los porcentajes de mortalidad observados en función del logaritmo de las dosis aplicadas. Una vez graficados los valores de mortalidad

observados. Posteriormente, se extrapola una línea horizontal desde el punto de 50% en el eje Y hacia la recta que contiene los valores de mortalidad esperados; en ese punto de corte, se traza otra recta perpendicular a la anterior dirigida hacia el eje X, el punto de corte en dicho eje nos indicará la dosis que produce un 50% de mortalidad o  $DL_{50}$  como se grafica en la Figura 15

### Figura 15

*Extrapolación desde el 50% y 95% de mortalidad hacia la recta de regresión y hacia el eje del Log dosis*



Fuente: Delgado, 2016

**Nota:** La regresión Log Dosis - % mortalidad (la mortalidad se transforma a unidades Probit).  
Variable dependiente: % Mortalidad (unid. Probit) Variable independiente: Log Dosis (Delgado, 2016)

**Método manual (uso de calculadores u hojas de cálculo).** Consiste en la estimación de las  $DL_{50}$  -  $DL_{95}$ , mediante la relación que existe entre la dosis o tiempo de exposición y el porcentaje de mortalidad. Se ajusta más exactamente a una línea recta, cuando las dosis son transformadas a logaritmo (base 10) y los porcentajes de mortalidad a unidades probit (Delgado, 2016) (Ver tabla 5)

$Y = a + bX$  donde; Y = mortalidad (en unidades probit)

X = Log (dosis o tiempo)

a = intercepto; b = pendiente de la recta

Esta transformación asume que la respuesta de los individuos se distribuye en forma normal, correspondiendo la curva de respuesta a una sigmoidea o función de distribución normal acumulativa. Esta curva solo se diferencia de la tradicionalmente usada, en que tiene una media de 5 y no de 0, valor que corresponde a un umbral proporcional de respuesta del 50%. Por esta razón es la más utilizada en la determinación de CL<sub>50</sub> (Delgado, 2016)

**Tabla 5**

*Transformación de los porcentajes de mortalidad a su equivalente probit*

<b>% de mort.</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>
<b>0</b>	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
<b>10</b>	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
<b>20</b>	4.16	4.199	4.23	4.26	4.29	4.35	4.36	4.39	4.42	4.45
<b>30</b>	4.48	4.5	4.53	4.59	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
<b>40</b>	4.75	4.77	4.8	4.85	4.85	4.87	4.9	4.92	4.95	4.97
<b>50</b>	5.00	5.03	5.05	5.1	5.1	5.13	5.15	5.18	5.2	5.23
<b>60</b>	5.25	5.28	5.31	5.36	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.5
<b>70</b>	5.52	5.55	5.58	5.64	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
<b>80</b>	5.84	5.88	5.92	5.99	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
<b>90</b>	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33

Fuente: Manayay, 2018

### **Uso de programas de computación**

**a. Análisis probit IBM.** El procedimiento Análisis probit informa de las estimaciones de los valores efectivos para las diferentes tasas de respuesta (incluyendo la dosis efectiva para la mediana), con coeficientes de regresión y errores estándar, intersección y su error estándar, chi-cuadrado de Pearson de la bondad de ajuste, frecuencias observadas y esperadas e intervalos de confianza para los niveles efectivos de la variable o variables independientes con gráficos de respuestas transformadas (IBM, 2022)

**b. Análisis probit Minitab.** El análisis probit examina la relación entre una variable de respuesta binaria y una variable de tensión continua. Para realizar el análisis, se aplica una tensión o estímulo a un número de unidades y luego se registra si cada unidad rompe o resiste la tensión. Con base en los datos de la muestra, Minitab calcula una ecuación probit que usted puede utilizar para hacer lo siguiente: Examinar cómo cambia la probabilidad de un evento a medida que cambian las variables de tensión. Pronosticar la probabilidad de un evento para cualquier valor de tensión en el rango experimental. Por ejemplo, en las ciencias de la vida, un entomólogo desea saber la probabilidad de que un insecto muera cuando se expone a cierta cantidad de pesticida (Soporte de Minitab, 2023)

## 2.9 Marco conceptual

### a) **Accesión**

Unidad de conservación que comprende semillas o plantas, que se identifica con un código alfanumérico, y que lo distingue del resto en un banco de germoplasma (Roldán, 2016)

### b) **Aglicón.**

Es el componente que reacciona con el OH anomérico de la glicona y que suele ser responsable de su actividad (Zamora, 2008)

### c) **Agonista**

Un agonista es aquella sustancia que es capaz de unirse a un receptor celular y provocar una acción determinada en la célula generalmente similar a la producida por una sustancia fisiológica. Es decir, aumenta la activación del receptor al unirse directamente que los neurotransmisores están en la hendidura sináptica (Cruz *et al.*, 2011)

### d) **Alomonas**

Son formas de defensa de la planta, como sustancias tóxicas o repelentes. Benefician al organismo que las emite (Miyazawa *et al.*, 2000)

**e) Cairomonas**

Son sustancias que atraen a los insectos herbívoros para atraer a sus depredadores y éstos colocan sus huevos sobre los insectos que dañan a las plantas para que luego las larvas se alimenten de ellos. Se cree que la planta produce estas sustancias las que una vez acumuladas dentro del insecto que la ataca, atrae de forma indirecta a los que la protegen de la plaga que la ataca (Miyasawa *et al.*, 2000)

**f) Ecdisona**

La ecdisona es una prohormona esteroide de la 20-hidroxiecdisona, es una de las principales hormonas de la muda, que es secretada en las glándulas protorácicas. A las hormonas de la muda de los insectos (ecdisona y sus homólogos), generalmente, se les llama ecdiesteroides y actúan como hormonas de la muda en artrópodos pero además se dan en otros filos relacionados donde pueden jugar diferentes roles (Riddiford *et al.*, 2000)

**g) Ecotipo**

Una misma especie que en ambientes diferentes tienen una expresión fenotípica distinta por la interacción de los genes con el medio ambiente.

**h) Genina.**

Porción de una molécula glucídica de azúcar.

**i) Glucósido**

Son moléculas en la cual un glúcido se enlaza a través de su carbono anomérico a otro compuesto de diferente naturaleza química, mediante un enlace O-glucósido o un enlace S-glucosídico, Muchos se utilizan como medicamentos (Rodríguez, 2009)

**j) Insecticidas clorados**

Presentan en su molécula átomos de C, H, Cl y rara vez O y contienen anillos cíclicos y heterocíclicos de C, son sustancias apolares y lipofílicos que conllevan poca reactividad

química, son muy estables, su acción residual persistencia en el ambiente contra insectos y a la vez peligrosos debido a su prolongado almacenamiento en tejidos grasos de mamíferos, como el DDT, BHC, clordano y dieldrín de baja toxicidad para mamíferos y otras especies de sangre caliente, debido a su alto grado de lipofilicidad, se acumulan en organismos a través del proceso de biomagnificación en la cadena trófica (Ponce *et al.*, 2006)

#### **k) Insecticidas organofosforados o fosforados**

Los compuestos orgánicos del fósforo presentaban toxicidad elevada contra insectos perjudiciales (Ponce *et al.*, 2006). La mayoría actúan como insecticidas de contacto, fumigantes de acción estomacal, también se encuentran materiales sistémicos, cuando se aplican al suelo y a las plantas son absorbidos por hojas, tallos, corteza y raíces, circulan en la savia haciéndola tóxica para los insectos que se alimentan al succionarla.

#### **l) Insecticidas carbamatos**

Son liposolubles, lo cual facilita su ingreso vía cutánea; también se absorbe a través de las vías respiratorias o digestivas. Presentan una vida media de 48 horas no se acumulan en el organismo es biotransformado mediante enzimas como oxidasas, hidrolasas y glutatión-S-transferasas a través de tres mecanismos básicos: hidrólisis, oxidación y conjugación; finalmente se eliminan principalmente a través de la orina (Manayay, 2018)

#### **m) Mortalidad de larva o larvicida**

Número de larvas expuestas a diferentes concentraciones de insecticidas y que pierden reacción frente a un estímulo físico.

#### **n) Plaga**

Cualquier especie, raza o biotipo vegetal o animal o agente patógeno dañino para las plantas o productos vegetales (SENASA, 2015)

**o) Población plaga**

Conjunto de insectos o cualquier otro que se encuentra en una determinada superficie y que causan daños o enfermedades graves a la agricultura (SENASA, 2015)

**p) Plaga cuarentenaria**

Plaga de importancia económica potencial para el área en peligro aun cuando la plaga no esté presente o, si está presente no está extendida y se encuentra bajo control oficial (SENASA, 2015)

**2.10 Antecedentes de la investigación**

**Hernández et al. (2020)**, describen la morfología y taxonomía de la especie Tephritidae de importancia económica y cuarentenaria, y que los miembros de la familia tephritidae: *Anastrepha* spp. son de hábitos fitófagos, ya que sus **larvas** se alimentan obligadamente de una gran variedad de tejidos vivos de diversas plantas, tales como frutos, semillas, flores, tallos y raíces. Por ello, algunos grupos poseen gran relevancia económica en los sistemas frutícolas del mundo, ya que algunas de sus especies se constituyen como plagas provocando un impacto económico severo y la imposición de restricciones cuarentenarias en muchos países.

**Brito et al., (2019)** determinaron la actividad plaguicida de la saponina del mojuelo de quinua. El objetivo fue recuperar el residuo del escarificado de quinua para generar un insecticida orgánico de saponina y validar el producto con muestras de mosca de fruta (*D. melanogaster*), el método más eficiente fue la maceración, en una solución 1:1 hidroetanólica por 96 horas a 20°C de temperatura., al realizarse con la materia prima seca (mojuelo) se obtuvo mayor rendimiento de saponina. Luego se realizó dos formulaciones con diferentes concentraciones de saponina extraída, la primera formulación con 20 g de saponina y la segunda formulación con 40 g de saponina, los tratamientos fueron aplicados por atomización basándose en prueba de la DL<sub>50</sub> con la muerte del

50% de insectos puestos a prueba. Los resultados indican que la formulación dos es el más eficiente ya que dio como resultado la muerte del 50% de insectos en un número determinado.

**Bonilla et al., (2019)** determinaron la actividad insecticida de la saponina de la quinua (*Chenopodium quinoa*) en larvas de *D. melanogaster*. Evalúan el aprovechamiento del agua de lavado de *Ch. quinoa* como fuente de saponina y su empleo como insecticida. La cuantificación se realizó empleando el método afrosimétrico y la saponina extraída no hidrolizada se identificó mediante cromatografía de capa fina. Para evaluar la natalidad de individuos de *D. melanogaster*, se les expuso a distintas concentraciones de saponina: 0.1, 0.4, 0.7 y 0,9%; así como controles positivos (bórax) y negativo. La electroforesis de proteínas a partir de glándulas salivales e intestino de larvas en III estadio de *D. melanogaster* evidencia diferencias en la expresión de proteínas entre el (T) 0,4% y el resto de tratamientos. Concluye, la saponina dificulta la supervivencia larval, debido a que la respuesta frente a éste variará conforme la concentración utilizada. Es recomendable utilizar concentraciones superiores a 0,9% para que la mortalidad sea mayor a 40% de individuos.

**Bushra et al., (2018)** estudiaron la toxicidad composición fitoquímica y actividades inhibitorias enzimáticas de algunos extractos de plantas de malezas indígenas en la mosca de la fruta *D. melanogaster*. El estudio fue diseñado para evaluar la toxicidad de extracto de petróleo de algunas malas hierbas, a saber, *Euphorbia prostrata*, *Parthenium hysterophorus*, *Fumaria indica*, *Chenopodium murale* y *Azadirachta indica*, contra *D. melanogaster*. La mortalidad a concentraciones del 10, 20 y 30% después de 24 y 48 horas fue encontrado comparativamente bajo. *E. prostrata* causó una alta mortalidad (51,64 %) a una concentración del 30 % y se encontró que era más tóxico ( $LC_{50}$  27,76;  $P$  valor 0.00) después de 72 horas. *A. indica* mostró un alto valor de  $LC_{50}$  (valor de  $P$  0.15) en comparación con otras plantas de malezas. La combinación de *E. prostrata* y *Bti* mostraron la mayor mortalidad (100 %;  $LC_{50}$  12,49; valor de  $P$  0,00) después de

72 horas. De manera similar, la misma combinación causó reducción máxima de la actividad de las enzimas AChE, AcP, AkP,  $\alpha$ -carboxilo y  $\beta$ -carboxilo. El análisis fitoquímico mostró la presencia de flavonoides, saponinas, taninos, esteroides, glucósidos cardíacos, alcaloides, antraquinonas y terpenoides. Análisis FTIR de *E. prostrata* mostró la presencia de compuestos fenólicos.

**Kim y Joon (2017)** investigaron la actividad larvicida de lignanos y alcaloides identificados en la corteza de *Zanthoxylum piperitum* sobre *Culex pipiens pallens* (CPP) y *Aedes aegypti* silvestre y susceptibilidad a insecticidas. El mosquito de la fiebre amarilla, *A. aegypti*, y el doméstico común, CPP, transmiten la fiebre del dengue y las enfermedades del virus del Nilo Occidental, respectivamente. El estudio se realizó para determinar la toxicidad de tres lignanos (–)-asarinina, sesamina y (+)-xantoxilol- $\gamma,\gamma$ -dimetilaliléter (XDA), y el alcaloide pelitorina de la corteza de *Zanthoxylum piperitum* (Rutaceae) sobre larvas de III estadio de CPP y *Ae. aegypti* así como CPP silvestre, resistente a deltametrina, ciflutrina, fentiión y temefos. Las toxicidades de todos los aislamientos se compararon con el larvicida de mosquitos temefos. Valores de CL<sub>50</sub> para cada especie y sus tratamientos fueron significativamente diferentes entre sí cuando sus intervalos de confianza del 95% no se superponen. Se aisló XDA de *Z. piperitum* como un nuevo principio larvicida CL<sub>50</sub>, 0,27 y 0,24 mg/l, fue 4, 53, y 144 veces y 4, 100 y 117 veces más tóxico que la pelitorina, la sesamina y la asarinina para las larvas de CPP y *Ae. aegypti*, respectivamente, todos los aislamientos fueron menos tóxicos que el temefos. (CL<sub>50</sub>, 0,006 y 0,009 mg/l). Estos constituyentes no difirieron en toxicidad para las larvas de las dos cepas *Culex*. Los lignanos, alcaloides y los insecticidas no comparten un modo común de acción larvicida o provocar resistencia cruzada.

**Amin et al. (2017)** investigaron la toxicidad y efectos fisiológicos de algunos extractos de plantas sobre la mosca de la fruta que infesta la calabaza de fresno. Los extractos acuosos de neem

(*Azadirachta indica*), eucalipto (*Eucalyptus globulus*), telakucha (*Coccinia indica*), caoba (*Swietenia macrophylla*) y hojas de joba (*Hibiscus rosa-sinensis*) se utilizaron para evaluar su toxicidad y efectos fisiológicos sobre la *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) criadas en calabaza de fresno *Benincasa hispida*. Con extractos al 1, 2 y 4% y una parte sin tratar control. La toxicidad varió con las especies de plantas, concentración y tiempo de exposición. Entre los tratamientos, neem reveló el efecto más tóxico ya que mostró los niveles más bajos de LC<sub>50</sub> y LC<sub>95</sub> así como la pendiente más pronunciada de la curva de concentración. El orden de la toxicidad de las plantas fue neem > eucalipto > telakucha > mehagony > Joba. Todos los extractos redujeron la formación de pupas, la emergencia de adultos y el contenido de proteínas en el cuerpo larvario y el peso corporal de moscas en ambos sexos, siendo el más efectivo con el extracto de neem al 4% y como el botánico más eficaz insecticida contra *B. cucurbitae*

**Núñez (2017)** investigó el plaguicida orgánico de los residuos del lavado de la quinua (*Ch. quinoa*) y los nematodos en cultivo de papas (*S. tuberosum*) en el cantón Quero. Estudió el efecto nematicida de los residuos de agua del primer lavado de quinua (*Ch. quinoa*). Los primeros análisis se llevaron a cabo con una selección de nemátodos in vitro a diferentes concentraciones, donde se determinó que, al cabo de 240 min, y a una concentración del 100% v/v de agua de lavado se produce mayor mortalidad de nemátodos (~94%). Posteriormente se realizó un estudio de campo aplicando el bionematicida en cultivos de *S. tuberosum*. El producto fue aplicado en diferentes períodos del cultivo como la etapa de siembra (A), etapa de siembra y rascadillo (B), etapa de siembra, rascadillo y aporque (C). Los mejores resultados en (C) donde la población de nemátodos se redujo en un 86%.

**Gutiérrez, Infantes y Cruces (2016)** evaluaron del efecto insecticida de las aguas residuales de *Lupinus mutabilis* sobre larvas de *Spodoptera eridania* (Lep.: Noctuidae) bajo condiciones de laboratorio *Spodoptera eridania* es una plaga común en todo América. Ataca a una

gran variedad de cultivos provocando pérdidas económicas. El *L. mutabilis* Sweet contiene alcaloides en todo el grano que son desechados junto con el agua de extracción luego de ser removidos de manera acuosa. Esta agua residual se aprovechó para que su aplicación contra *S. eridania* bajo dos concentraciones (0,1 y 1 g alcaloides totales/L). Los resultados demostraron que ambas concentraciones de alcaloides no tienen un efecto significativo sobre la mortalidad de las larvas en estadio tres y cinco; sin embargo, se apreció que existe una disminución de 18% en el consumo de hoja en larvas de estadio III.

**Añamuro (2016)**, determinó el efecto biocida del extracto acuoso de semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet (Tarwi) sobre *Thrips tabaci* Lindeman (*Trips*) en cultivos de cebolla (*Allium cepa*). Los cultivos pertenecientes a la familia Aliaceae, son afectados principalmente por los insectos trips. 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. Por lo cual el objetivo, es determinar el efecto biocida del extracto acuoso de *L. mutabilis* Sweet para reducir el daño ocasionado por trips. El extracto acuoso con mayor eficiencia en el control de la plaga de insectos adultos fue la concentración al 40% (P/V) que originó una mortandad de 96.67 % de éstos insectos después de 48 horas de aplicación. En el control de larvas fue la 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>) fue de 6.92% (P/V) y en el control de larvas fue de 6.31% (P/V) corresponde CL<sub>50</sub> adultos de 64.12 ppm y en el control de larvas de 19.57 ppm.

**Huamán (2015)** su trabajo tuvo como objetivo fue evaluar el efecto biotóxico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *L. mutabilis* sobre larvas de III instar del mosquito *Cx. quinquefasciatus*. La metodología consistió en preparar un extracto hidroalcohólico de las hojas de *L. mutabilis* (80000 ppm), a partir del cual se produjeron las siguientes concentraciones: 2000,

2500, 5000, 10000, 15000, 20000 y 30000 ppm, con las cuales se evaluó la mortalidad en 10 larvas de *Cx. quinquefasciatus* colocadas en vasos descartables conteniendo 90 mL de agua limpia de clorada y 10 mL del producto biotóxico. Cada dosis evaluada por cuatruplicado con su respectivo control. Las lecturas luego de 24 horas. Se calculó  $CL_{50}$  mediante el método de análisis Probit y el screening fitoquímico. Mortalidad larval de  $70 \pm 8,16$  a  $75 \pm 12,91$  %, a las concentraciones de 20000 a 30000 ppm, del extracto hidroalcohólico a un volumen de 10 mL por 100 mL de agua de criadero, % mortalidad estadísticamente diferente para cada concentración evaluada según la prueba de comparación de medias de Kruskal Wallis ( $\alpha=0,05$ ), dependiente del incremento de la concentración del producto biotóxico en el medio. La  $CL_{50}$  fue establecida en 17 470 ppm, reportándose a los fenoles y taninos pirogalotánicos (+++), como los más abundantes. De moderada presencia (++) los flavonoides y triterpenos. Los alcaloides como trazas (+). El efecto biotóxico de la planta probablemente esté relacionada con la actividad sinérgica de los alcaloides, triterpenos, algunos tipos de fenoles y taninos, y a la complejidad de los productos trazas.

**Lozano et al. (2012)** cuantificaron las saponinas en residuos de quinua real (*Ch. quinoa* Willd), el rendimiento de extractos y de saponinas en cascarilla generados en empresas exportadoras de quinua de los departamentos de La Paz, Oruro y Potosí, determinándose que los rendimientos de extracción varían desde 36,0 % hasta 39,4 % p/p, mientras que el % de saponinas en el extracto varía desde 47,3 % hasta 56,2 % y de saponinas en el mojuelo desde 17,3 % hasta 22,1%. Además, se optimizó un método de extracción de saponinas por maceración con mezclas hidroetanólicas, con los siguientes parámetros: Relación masa/volumen de extracción; tiempo de extracción y relación porcentual EtOH/H<sub>2</sub>O (v/v), determinándose que la mejor relación m/v de extracción es 1/9. El tiempo de extracción óptimo es de 72 h y la mejor mezcla de extracción es con 50/50 EtOH/H<sub>2</sub>O. El porcentaje de saponinas se determinó utilizando los métodos de Espuma,

Espectrofotométrico UV y por cromatografía HPLC, observándose que no hay grandes diferencias entre los 3 métodos, aunque el método HPLC es el que tiene menos error. Además, es muy importante utilizar como muestra de referencia un estándar de saponinas de quinua en todos los métodos.

**Avilés et al. (2013)** estudiaron el efecto repelente y biocida de un extracto oleoso obtenido a partir de especies silvestres (*Ricinus communis/Datura stramonium*) conocidas como tártago y chamico en Chuquisaca, contra *Aedes aegypti* insecto hematófago transmisor del dengue. La eliminación de criaderos y el control vectorial se encuentran entre las medidas de la lucha contra la enfermedad del dengue, con actividad insecticida y larvicida, que puedan controlar la población de mosquitos, sin presentar riesgos al humano y animales domésticos, insectos hematófagos (*Aedes aegypti*), para el cual se realizaron una serie de bioensayos con los extractos oleosos para comprobar su actividad y eficacia como repelente y/o biocida contra el mosquito de *Aedes aegypti* colectadas del relleno Sanitario de la ciudad. Presentaron actividad repelente al 100% de repelencia, con extracto oleoso al 5% a las 16 hrs. al 15% a las 8 horas y al 25% a las 4 horas para el estadio adulto. Los mayores porcentajes de mortalidad de *A. aegypti* 70% a las 64 Hrs. se presentaron con extracto oleoso al 25%. Se observó una marcada diferencia de actividad, entre las diferentes concentraciones o dosis utilizadas.

**Zamora et al. (2008)** estudiaron la composición de alcaloides en semillas de *Lupinus mexicanus* y evaluación antifúngica y alelopática del extracto alcaloideo, que las plantas sintetizan metabolitos secundarios que se pueden aislar y usar como una alternativa para el control de plagas y enfermedades. Se analizó por CG-EM, la composición de alcaloides en semillas de *L. mexicanus*; así mismo se estudió *in vitro* la actividad antifúngica y alelopática del extracto crudo de alcaloides. La acción antifúngica se evaluó con base en la inhibición del crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*, la actividad

alelopática se evaluó sobre la germinación de semillas de *Amaranthus hybridus* y *Echinochloa crusgalli*. El extracto reveló la presencia de lupanina, 3 $\beta$ -hidroxilupanina, multiflorina afilina, epiafilina y  $\alpha$ -isolupanina como compuestos mayoritarios. A concentración de 3 mg/mL, inhibió significativamente el crecimiento micelial de *R. solani* en 87.7%, mientras que el micelio de *S. rolfsii* sólo se inhibió 72.5% con la más alta. Sólo la germinación de semillas de *A. hybridus* mostró diferencias significativas por efecto del extracto, y la inhibición de la germinación fue 80% con la mayor concentración (1 mg/mL). La lupanina fue el más abundante (76.2%) en semillas de *L. mexicanus*. El extracto mostró actividad inhibitoria del crecimiento micelial de *R. solani* y *S. rolfsii*, y un efecto fitotóxico o inhibidor de la germinación de semillas de *A. hybridus*.

**Miyazawa, Nakamura e Ishikawa (2000)** en su estudio de un insecticida sesquiterpeno de *Alpinia oxyphylla* contra *D. melanogaster* tuvo como objetivo la detección de nuevos insecticidas naturales a partir de fármacos crudos chinos, se encontró que el extracto metanólico de *A. oxyphylla* posee actividad insecticida contra las larvas de *D. melanogaster* Meigen. Del extracto se aisló un compuesto insecticida por fraccionamiento guiado por bioensayo e identificado como nutkatona (1) por GC, GC-MS y espectroscopia RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ . En bioensayos para actividad insecticida, 1 mostró un valor de  $\text{CL}_{50}$  de 11.5  $\mu\text{mol/mL}$  de dieta contra larvas de *D. melanogaster* y un valor  $\text{DL}_{50}$  de 96  $\mu\text{g/adulto}$  contra adultos. Epirotkatol (1A), sin embargo, mostró una ligera actividad insecticida en ambos ensayos, lo que indica que el grupo carbonilo en la posición 2 en 1 estaba la función importante para mejorar la actividad de 1.

---

### III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

---

#### 3.1 Hipótesis

##### a. Hipótesis general

La mezcla de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* spp. *melanospermum* Hunz.) y alcaloides de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet.) aplicado sobre la larva de la mosca de fruta *Anastrepha* spp. (Díptera: Tephritidae) tiene efecto insecticida.

##### b. Hipótesis específica

- Se obtienen los extractos hidroetanólicos del grano integral, cascarilla de quinua y extractos metanólicos de semillas de tarwi con compuestos presentes de elevada actividad insecticida.
- El porcentaje de mortalidad de la larva de *Anastrepha* spp. es muy alta a causa de la mezcla de extractos de quinua y tarwi que actúan de manera sinérgica, es decir, mezclados tienen un efecto más potente que si se utilizan por separado.
- La dosis letal (DL<sub>50</sub>) de la mezcla de extractos de quinua y tarwi es muy baja, por ende, altamente efectiva para el control de la plaga.

#### 3.2 Identificación de variables e indicadores

##### a) Extractos

Un extracto es una sustancia obtenida por extracción, de una parte, de una materia prima ya sea de flores, semillas, hierbas, frutas, a menudo usando un solvente como etanol o agua.

##### b) Edad del insecto

El efecto de los insecticidas tiene relevancia considerando que se aplican en el periodo más vulnerable del insecto como es el estado larvario, ya que el insecto adulto ofrece resistencia a los insecticidas en general.

### c) Mezcla de saponinas:alcaloides

Se presume que, al ser mezclados, se dará el efecto aditivo o sinérgico que se produce entre ellos; así como también podrían presentarse efectos antagónicos respecto a cuándo son empleados independientemente. Con este trabajo se busca reemplazar y/o disminuir el uso de insecticidas sintéticos (clorados y fosforados) proporcionando una alternativa de control ecológico y en armonía con el medio ambiente.

### 3.3 Operacionalización de variables

Tipo de Variable	Variables	Indicadores	Índices
Independiente	1. Extractos	1.1 Saponinas de grano integral y cascarilla de quinua.	nominal
		1.2 Alcaloides de semilla de tarwi.	
	2. Dosis	2.1 C <sub>1</sub> Dosis 1	ppm
		2.2 C <sub>2</sub> Dosis 2	
		2.3 C <sub>3</sub> Dosis 3	
		2.4 C <sub>4</sub> Dosis 4	
2.5 C <sub>5</sub> Dosis 5			
2.6 C <sub>6</sub> Dosis 6			
Dependiente	1. Mortalidad de la larva de mosca de la fruta	1.1 Mortalidad de larvas de mosca de la fruta <i>Anastrepha</i> spp.	%
		1.2 Dosis letal (DL <sub>50</sub> )	ppm

---

## IV. METODOLOGÍA

---

### 4.1 Ámbito de estudio:

#### Localización política

Departamento: Apurímac; Provincia: Abancay; Distrito: Abancay y Tamburco

- Lugar de recolección del material: **a)** granos integrales de quinua (*Chenopodium quinoa* spp. *melanospermum* Hunz) de la Estación Experimental Agraria INIA Salcedo - Puno, y semillas secas de tarwi (*Lupinus mutabilis*) del Banco de Germoplasma de la Estación Experimental INIA Santa Ana – Huancayo. **b)** Larvas de mosca de la fruta colectadas del Valle de Pachachaca – Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac (UNAMBA) con árboles frutales como duraznero blanco, chirimoyo, palto, mango, naranjo, limonero, lúcuma, se encuentra a 7 km de la ciudad de Abancay entre **1932 a 2500** msnm, con temperatura promedio 20°C, con humedad relativa 69 a 75%, con vientos de 10.5 a 13 km/h, precipitación anual pluvial de 791 mm en los meses de enero a marzo del año 2020 – 2021, Carretera Panamericana Abancay-Lima.
- Laboratorio de Química general y Laboratorio de Procesos Agroindustriales de la Escuela Académica Profesional de Ingeniería Agroindustrial, Ciudad Universitaria UNAMBA. Se encuentra en el Km 3 de la Carretera Panamericana Abancay – Cusco a 2550 msnm. Provincia de Abancay, Departamento de Apurímac.

#### Localización geográfica

- Centro experimental Pachachaca de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac.
- Laboratorio de Química general de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial.

### 4.2 Tipo y nivel de investigación

- a) Tipo de investigación:** Experimental, debido a los cambios y modificaciones que producirá la manipulación de variables independientes (la dosis del insecticida se considera un factor de influencia importante) en la variable de respuesta: mortalidad larval.

**b) Nivel de investigación:** Explicativa porque se conocerá el efecto de la variable independiente sobre las dependientes.

#### **4.3 Unidad de análisis**

La unidad de análisis son las larvas de mosca de la fruta *Anastrepha* spp. (Díptera: Tephritidae) colectadas de productos cultivados en el Centro Experimental Pachachaca de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac.

#### **4.4 Población de estudio**

Para la extracción de saponinas, alcaloides, la población objetivo fue finita, compuesta por granos integrales, cascarilla de quinua ecotipo Ayara (*Chenopodium quinoa* spp. *melanospermum* Hunz) y semillas enteras de tarwi (*Lupinus mutabilis*).

Para la actividad insecticida de las saponinas, alcaloides y mezcla de ambas, la población objetivo fue finita constituido por la plaga horto-frutícola del Valle de Pachachaca *Anastrepha* spp. (Díptera: Tephritidae) proveniente de los frutos duraznero (*Prunus pérsica*) correspondiente al periodo agrícola 2020 -2021

#### **4.5 Tamaño de muestra**

El estudio es experimental, las variables independientes son los extractos de saponinas y alcaloides, la variable dependiente es la mortalidad de larvas de mosca de la fruta *Anastrepha* spp (Díptera: Tephritidae). En la investigación se utilizarán 10 kg de quinua (*Chenopodium quinoa* spp *melanospermum* Hunz.) y 8 kg de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) y 16 kg de durazno (*Prunus pérsica*) infestado de larvas.

#### **4.6 Técnica de selección de muestra**

Para la presente investigación fue un muestreo no probabilístico, debido a que los árboles frutales son cultivados en el Valle de Pachachaca – Distrito y Provincia de Abancay Departamento de Apurímac por tanto proceden de una flora diversificada.

Para muestrear las larvas *Anastrepha* spp. pertenecientes a la familia de Díptera: Tephritidae se encontraban en cultivos frutales de chirimoya (*Annona chirimolia*), lúcumo (*Pouteria lucuma*), naranjos (*Citrus sinensis*), mango (*Mangifera indica*) durazno (*Prunus pérsica*) en el ámbito del Valle del Pachachaca fueron identificadas por el Servicio Nacional de Sanidad Agraria - SENASA- Abancay como consta en el Anexo 2 fueron transportadas del campo al laboratorio donde se realizó la colecta de larvas de mosca de la fruta.

#### **4.7 Técnicas de recolección de información**

Para recolectar información, las fuentes fueron los resultados obtenidos de las determinaciones de la cantidad de compuesto activo insecticida de cada extracto.

En la evaluación de actividad insecticida, fue el conteo de larvas que sobreviven después de la aplicación del extracto preparado a la concentración definida con las saponinas, alcaloides y la mezcla de ambas con el fin de encontrar respuestas a los problemas de investigación se describe los métodos por objetivos específicos.

##### **4.7.1 Contenido de componentes activos tóxicos del grano integral de quinua, cascarilla de quinua por HPLC y semillas de tarwi por GC-MS.**

**Consiste en 3 etapas:** Corresponden al tipo **descriptivo** porque no se manipulan variables.

##### **Etapas A. Cuantificación de saponinas mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) según (Lim *et al.*, 2019 y Gómez *et al.*, 2014)**

Las muestras de 100 g de grano integral de quinua y 100 g de cascarilla de quinua fueron llevadas al laboratorio de Cromatografía y espectrometría de la UNSAAC y de acuerdo al Anexo 4. Los análisis de saponinas se realizaron en un cromatógrafo Agilent serie 1200 equipado con una columna Zorbax Eclipse 4.6x250mm 5.0 um, mediante el método del estándar externo, utilizando Saponina (Calbiochem, UPLC) como estándar.

**Etapa B. Cuantificación de alcaloides mediante Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas (CG-MS) según Romeo, *et al* (2018) Zamora *et al.*, (2008), Boschini, *et al.*, (2008)**

La muestra de 100 g de cada una de las cuatro accesiones de tarwi fueron llevadas al laboratorio de Cromatografía y espectrometría de la UNSAAC y de acuerdo al Anexo 5. Los análisis se realizaron en un cromatógrafo de gases Agilent 6890N equipado con un espectrómetro selectivo de masas Agilent 5973B y un automuestreador Agilent 7683B. La cuantificación de alcaloides se realizó mediante el método del estándar externo, utilizando (-)-esparteína como estándar. La curva de calibración se preparó inyectando tres soluciones de esparteína a diferentes concentraciones en el rango de 200 a 600 mg/L.

**Etapa C. Obtención de extractos de quinua y tarwi con alto contenido tóxico y rendimiento.**

La cuantificación de componentes de las muestras en el HPLC y CG-MS facilitó descartar muestras con bajo contenido de componente tóxico y seleccionar solo aquellas con contenido mayoritario de toxinas para que fueran extractadas y evaluar actividad insecticida.

Se obtuvo extracto hidroetanólico de cascarilla de quinua y extracto metanólico de tarwi INIA 081576, siguiendo los flujogramas según Figura 16 y 17, posteriormente los extractos fueron almacenados en refrigeración hasta su utilización.

Con los datos obtenidos para las cantidades finales se procedió a determinar los rendimientos porcentuales aplicando la ecuación (1).

$$\% R = \frac{w_i - w_f}{w_i} * 100 \dots\dots\dots(\text{Ec. 1})$$

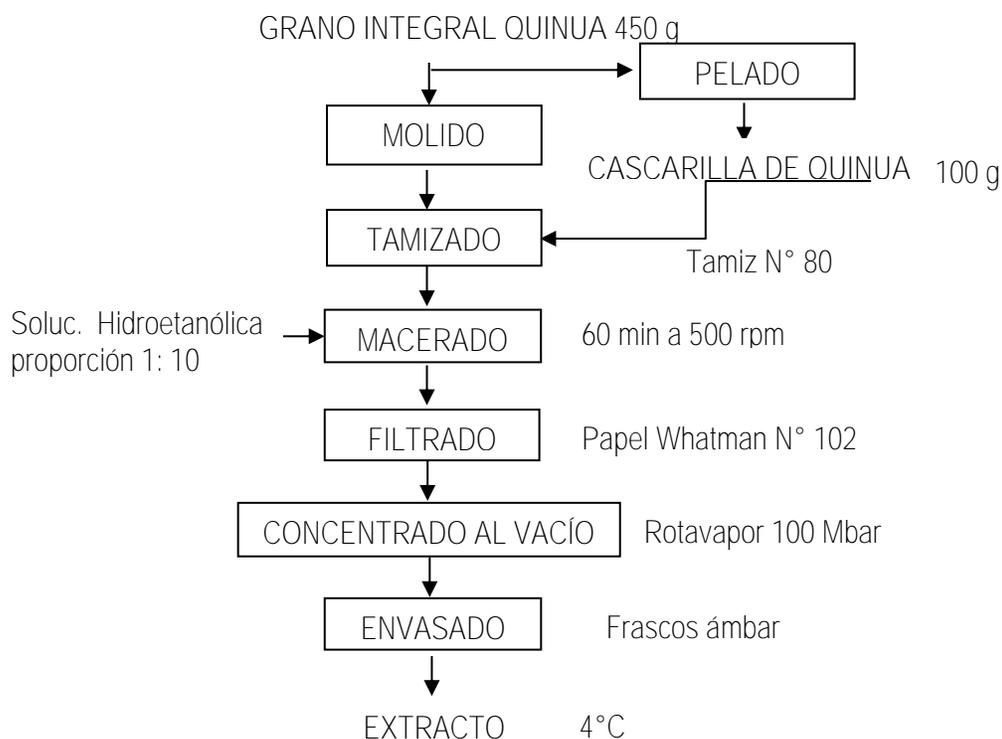
Donde % R = porcentaje de rendimiento,  $w_i$  = peso inicial y  $w_f$  = peso final (concentrado).

**Etapa C 1. Obtención de extracto hidroetanólico de cascarilla de quinua ecotipo Ayara (*Ch. quinoa* spp. *melanospermum* Hunz.) y extracto metanólico de semillas de tarwi INIA 081576 (*Lupinus mutabilis* Sweet.)**

- De los 5 kg de grano integral de quinua se destinó 3.5 kg a un proceso mecánico de pelado para obtener cascarilla de quinua, resultando una cantidad total de 108 g de ello se tomó 100 g para la obtención del extracto según Figura 16.
- De los 2 kg de semilla integral de tarwi accesión INIA 081576 se tomó 100 g y se procedió a la obtención del extracto siguiendo el flujograma según Figura 17.

**Figura 16**

Flujograma de obtención del **extracto** de saponinas de quinua (Adaptado de Huamán y Shuan, 2018)

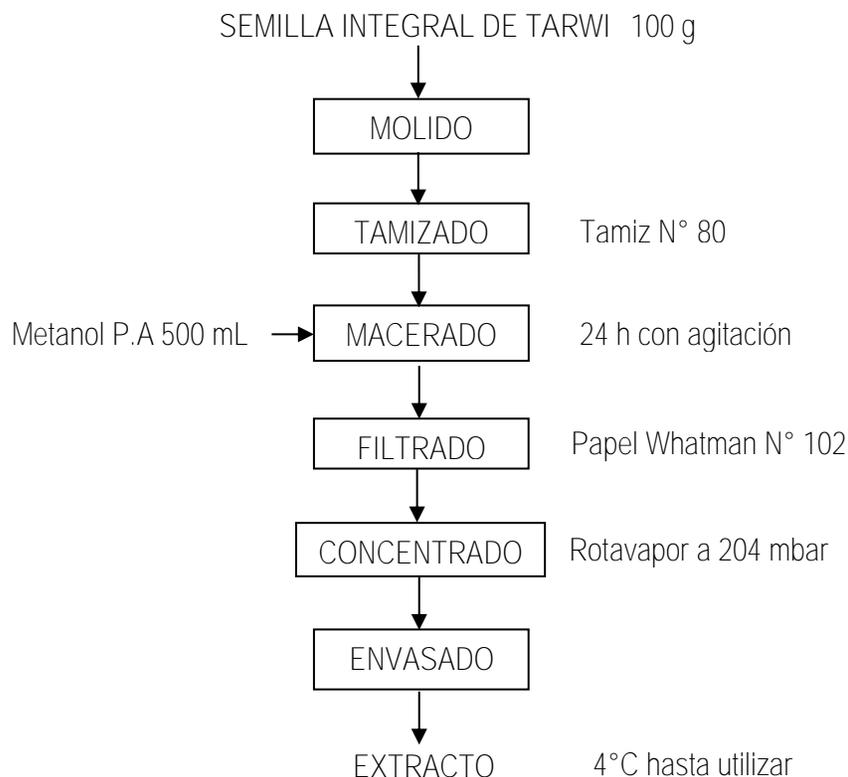


**Descripción del proceso de obtención del extracto de saponinas de quinua ecotipo Ayara (*Chenopodium quinoa* spp. *melanospermum* Hunz)**

- a) **Pesado.** Pesar en una balanza digital por separado granos de quinua integral y la cascarilla de quinua.
- b) **Molido.** Solo para el grano entero en molino de discos eléctrico marca Makorito ® y para obtener la cascarilla la quinua integral a pelado en seco en una escarificadora.
- c) **Tamizado.** Utilizar tamiz metálico N°80
- d) **Macerado.** En un vaso de precipitados mezclar en proporción de quinua:solución hidroetanólica al 50% en proporción 1:10 (p/v) en agitación constante por 60 minutos utilizando un agitador magnético a 500 rpm a 20°C.
- e) **Filtrado.** Filtrar con un embudo de vidrio con papel Whatman N° 102 con recepción del filtrado en un matraz Erlenmeyer de vidrio (Cap. 200 mL)
- f) **Concentrado al vacío.** Vaciar el filtrado en el balón del Rotavapor Buchi® y evaporar a vacío de 100 mbar. a 100 rpm. Controlando el tiempo entre 22 a 25 minutos.
- g) **Envasado** Transferir el concentrado a un frasco ámbar de vidrio y rotular fecha, hora y cantidad de extracto.
- h) **Extracto.** Almacenado a temperatura de 4°C. Hasta su utilización.

**Figura 17**

Flujograma de obtención del **extracto** de alcaloides de tarwi (Adaptado de Hassan *et al.*, 2019)



**Descripción del proceso de obtención del extracto de alcaloide de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet)**

- a) **Pesado.** Pesar en una balanza digital 100 g de granos secos de semilla entera tarwi
- b) **Molido.** Moler en molino de discos eléctrico marca Makorito ®
- c) **Tamizado.** Utilizar tamiz metálico de laboratorio N°80
- d) **Macerado.** En un vaso de precipitado de 1 L. agitar la harina de tarwi en metanol grado P.A en proporción de **1:5** (p/v) en agitación constante por 24 horas utilizando un agitador magnético a 500 rpm a 20°C.
- e) **Filtrado** Filtrar el macerado con un embudo de vidrio con papel Whatman N° 102 y recibir el filtrado en un matraz Erlenmeyer.

- f) **Concentrado al vacío.** Vaciar el filtrado en el balón del Rotavapor Buchi® y evaporar a vacío de 204 mbar a 100 rpm de rotación.
- g) **Envasado** Transferir el concentrado a un frasco ámbar y rotular hora, fecha, cantidad de extracto obtenido.
- h) **Almacenado.** A temperatura de 4 °C hasta su utilización.

#### 4.7.2 Evaluar el efecto insecticida del extracto de saponinas, alcaloides y mezcla de ambas aplicados en larvas de *III* estadio de *Anastrepha* spp. (Huamán, 2015)

La mezcla insecticida de extractos de saponinas de quinua y alcaloides de tarwi se supone tiene efecto sinérgico o aditivo, respecto a cuándo son empleados por separado, así como también podrían presentarse efectos antagónicos.

##### Consiste en 3 etapas:

##### **Etapas 1. Colecta de frutos infestados de larvas de *Anastrepha* spp (Díptera: Tephritidae)**

Se colecta frutas, procedente del duraznero (*Prunus pérsica*) cultivadas en el Valle de Pachachaca – Abancay -Apurímac

- Se toman las frutas maduras y no maduras sobre el árbol preferentemente los de temporada infestados de larvas de *Anastrepha* spp. Cada muestra (20 unidades por árbol o grupo de árboles de la misma variedad) se coloca en una bolsa plástica, se etiqueta y se pesa.
- Las muestras de frutas son transportadas al laboratorio y se sumergen en una solución de 2% de benzoato de sodio por 3 minutos, se dejan escurrir, luego se disectan y con una pinza de plástico punta roma se extraen las larvas de *III* estadio *Anastrepha* spp. según se detalla en el Anexo 11. y fueron colocadas en una bandeja de plástico (55cm x 28cm x 12cm), conteniendo rodajas de pulpa de durazno (0.5mm de grosor) en donde permanecieron 2 horas bajo condiciones ambientales de  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , 52% de HR y un fotoperiodo de 12:12 luz-oscuridad hasta ser seleccionadas para su evaluación.

## **Etapa 2. Preparación de las soluciones con diferentes concentraciones (dosis)**

A partir de extracto concentrado de saponina obtenida de cascarilla de quinua ecotipo Ayara que contiene **2764 mg/100 g** y extracto concentrado de alcaloides obtenida de semillas de tarwi Accesoión INIA 081576 que contiene **1712 mg/100 g**, se preparó 6 dosis en concentraciones (Tabla 7) con más detalle en el Anexo 12, utilizando la siguiente expresión matemática:

$$C_1 V_1 = C_2 V_2 \dots\dots\dots (\text{Ec. 2})$$

Donde:

$C_1$  = Concentración inicial de la solución madre       $V_1$  = Volumen inicial de la solución madre  
 $C_2$  = Concentración inicial de la solución diluida       $V_2$  = Volumen inicial de la solución diluida

El diluyente es agua destilada que se añade al matraz aforado hasta el enrase y con el tapón puesto invertir varias veces para homogenizar. Teniendo 6 dosis de cada extracto por separado también se mezclan en seis dosis en proporción de 50:50 (v/v)

**Tabla 6**

***Dosis (ppm) de diluciones de saponinas, alcaloides y mezcla de saponinas más alcaloides***

	<b>Dosis (ppm) Saponina</b>	<b>Dosis (ppm) Alcaloides</b>	<b>Dosis (ppm) Mezcla de saponinas más alcaloides</b>
B <sub>1</sub> Dosis 1	460	300	760
B <sub>1</sub> Dosis 2	900	580	1480
B <sub>1</sub> Dosis 3	1300	880	2180
B <sub>1</sub> Dosis 4	1800	1185	2985
B <sub>1</sub> Dosis 5	2200	1480	3680
B <sub>1</sub> Dosis 6	2764	1712	4476

## **Etapa 3. Porcentaje de mortalidad de las dosis de saponinas, alcaloides y mezclas sobre larvas de *Anastrepha* spp. a nivel laboratorio.**

De la bandeja, se toman entre 10 a 12 larvas de *III* estadio como organismo de prueba, se llevan cuidadosamente con una pinza de plástico punta roma a placas Petri de vidrio (12cm diámetro x 2.5 cm altura), con base cubierta de papel Whatman de 110 mm de diámetro y sobre

ella se depositan las larvas que correspondieron a las unidades experimentales para formar grupos de 10 a 12 unidades de larvas para cada placa y con 2 repeticiones cada uno y un testigo o blanco (Ver Anexo 10)

Se aplicó el método de contacto forzado por aspersión los extractos de dosis conocida (Tabla 7) sobre larvas de *Anastrepha* spp. (Díptera: Tephritidae), el conteo de larvas muertas se realizó a las 24 horas posaspersión y debido a que se manipula de forma intencionada las variables independientes (extractos hidroetanólicos, metanólicos y mezclas) se dimensiona el efecto en la variable dependiente (porcentaje de mortalidad de larvas) a la vez este dato es necesario para la determinación de la Dosis Letal media (DL<sub>50</sub>).

Las larvas se declaran muertas cuando no reaccionan al momento de ser tocadas con un puntero roma en la región cervical. También se observó el blanco y al no hallarse mortalidad, no se realizó la corrección de los resultados del bioensayo. Con el conteo de larvas muertas, se determinó el porcentaje de mortalidad para cada dosis, aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje mortalidad larvaria} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de larvas muertas}}{\text{N}^\circ \text{ de larvas expuestas}} \times 100 \quad \dots\dots(\text{Ec.3})$$

Para el diseño experimental de esta etapa se realizó un análisis de varianza de **un factor** (ANOVA) con seis tratamientos y dos repeticiones y para determinar la diferencia estadística entre las medias de los factores e interpretación se empleó la prueba de Tukey con nivel de confianza ( $\alpha = 0,05$ ) con el programa InfoStat 2017 versión libre el cual cuenta con un nivel de confianza de 95 %. (Rienzo et al, 2017)

#### **4.7.3 Determinar la dosis letal media (DL<sub>50</sub>) de los extractos de saponinas, alcaloides y mezclas de ambas mediante análisis probit (Matos, 2019)**

Para hallar la Dosis Letal media (DL<sub>50</sub>) que es la concentración que produce el 50% de mortalidad, se determinó mediante análisis probit. con el uso de programas de computación del software estadístico IBM SPSS Statistic V21 que usa la inferencia sobre una proporción, donde se

toma el **número** de casos (larvas muertas por prueba) sobre el **tamaño** de la muestra, para lo cual previamente fue elaborada una base de datos de los resultados de **porcentaje** de mortalidad halladas en las pruebas experimentales. El método de análisis Probit permite estimar la  $DL_{50}$  ajustando los datos de mortalidad mediante una técnica de probabilidad para estimar los valores que siguen una distribución logarítmica de tolerancia.

#### 4.8 Técnicas de análisis e interpretación de la información: Análisis estadístico

##### 4.8.1 Para evaluación del efecto insecticida

Para el procesamiento de datos se utilizó el análisis de varianza ANOVA de **un solo factor** bajo el diseño completamente al azar (DCA) para determinar si hubo o no efecto significativo de los tratamientos sobre la mortalidad de los insectos, seguidamente se procedió a utilizar la Prueba de Tukey para realizar las respectivas comparaciones entre tratamientos:

Variable independiente: Dosis (ppm)

Variable dependiente: Mortalidad de larvas

**Tabla 7**

Factores de estudio

Factor	Nivel			
Extractos	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Saponinas de cascarilla de quinua</li> <li>▪ Alcaloides de semilla de tarwi</li> <li>▪ Mezcla de saponinas + alcaloides</li> </ul>			
		<b>S</b>	<b>A</b>	<b>M</b>
	Actividad insecticida	Control	0	0
	Dosis 1	460	300	760
	Dosis 2	900	580	1480
	Dosis 3	1300	880	2180
	Dosis 4	1800	1185	2985
	Dosis 5	2200	1480	3680
	Dosis 6	2764	1712	4476

**S** = saponinas    **A**= alcaloide    **M**= mezcla

La significancia se evaluó en base a:

$P > 0.05$  Diferencia no significativa

$P < 0.05$  Diferencia significativa

#### **4.8.2 Para determinación de la dosis letal media (DL<sub>50</sub>)**

Para determinar la dosis letal media (DL<sub>50</sub>) se procedió a utilizar el modelo de regresión Probit procesando los datos respecto a: *Dosis (ppm)*, *Número de larvas evaluadas* y *Número de larvas muertas*, de forma individual para saponinas, alcaloides y la mezcla de ambas en el software **IBM SPSS Statistic V21** para verificar su ajuste adecuado a los datos se utilizó el criterio de bondad de ajuste de Pearson de la Prueba Chi cuadrado.

#### **4.9 Técnicas para demostrar la verdad o falsedad de la hipótesis planteada.**

Para contrastación de hipótesis de la actividad larvicida a nivel laboratorio con 6 dosis de saponinas, 6 dosis de alcaloides y 6 dosis de mezclas de ambas, el resultado se clasificó en dos niveles: insecticida y no insecticida, cuyo resultado proviene de una distribución binomial con probabilidad de éxito denotado por  $p$ , para lo cual se llevaron a cabo 2 repeticiones de cada extracto con la finalidad de realizar una prueba de hipótesis para un nivel de significancia de  $\alpha = 5\%$ , planteando las siguientes hipótesis:

$H_0: p > 0.5$  (no tiene efecto insecticida)

$H_1: p < 0.5$  (si tiene efecto insecticida)

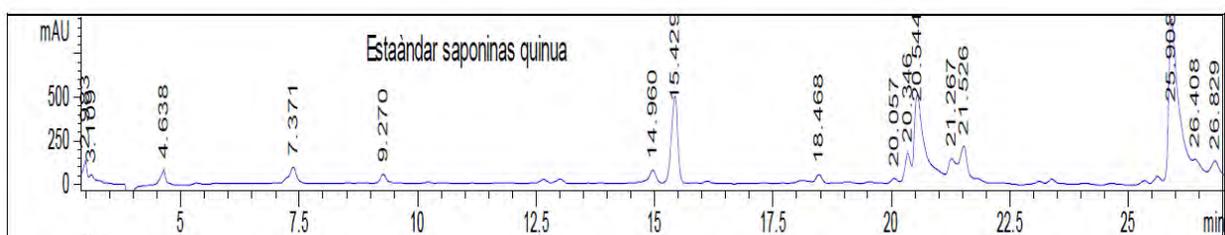
## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Contenido de saponinas en grano integral, cascarilla de quinua (*Chenopodium quinoa* spp. *melanospermum* Hunz) y semillas de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet).

#### 5.1.1 Cuantificación de saponinas por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

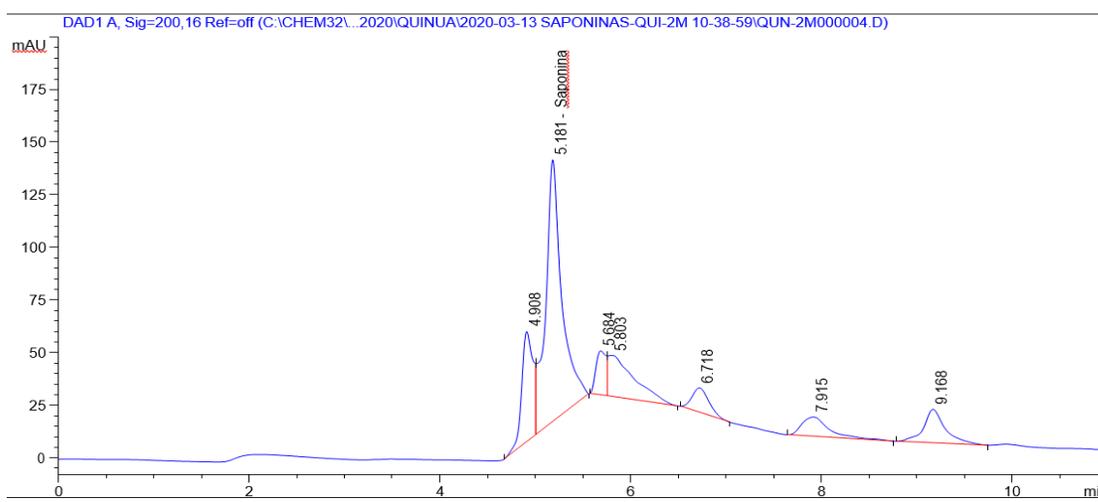
**Figura 18**

Cromatograma HPLC del estándar de saponinas



**Figura 19**

Cromatograma de HPLC de saponinas de **cascarilla** de quinua ecotipo Ayara (*Chenopodium quinoa* spp. *melanospermum* Hunz.)



El análisis del perfil cromatográfico en HPLC del estándar muestra cuatro picos principales a **Tiempo de Retención de 5.181 minutos** que corresponderían a saponinas, los picos comparando el perfil estándar con el cromatograma de la cascarilla se observó parte de las curvas en minutos finales presenta una gran cantidad de otros compuestos y una menor proporción de las saponinas,

el cromatograma muestra perfiles muy similares entre sí. El extracto de cascarilla presenta una gran cantidad de otros compuestos por debajo de los 10 minutos y una menor proporción de las saponinas a 25.9 minutos

Los resultados expuestos en la Tabla 8 del análisis del extracto de quinua ecotipo Ayara por HPLC, determinándose un rendimiento entre 1.3 al 2.7% que se detalla en el Anexo 3.

### Tabla 8

Perfil cromatográfico de contenido de saponinas en granos integrales y cascarilla de la quinua ecotipo Ayara (*Chenopodium quinoa* spp. *melanopermum* Hunz)

Quinua ( <i>Chenopodium quinoa</i> )	Saponinas mg/100g muestra	Rendimiento (%)*
Grano integral de quinua	1291.9	1.3
Cascarilla de quinua	2764.4	2.7

\* Considerando que 100 000 mg = 100 g de muestra

Gianna (2013), afirma que las saponinas de quinua se concentran en el exterior de las capas del grano y que el contenido oscila entre el 0,1 y el 5%, queda demostrado con los datos de la Tabla 8, el contenido de saponinas de quinua ecotipo Ayara en grano entero fue de 1291.9 mg/100 g. corresponde al 1.3% y en la cascarilla fue de 2764.4 mg/100 g corresponde al 2.76 % de rendimiento. Las estimaciones del contenido en los granos en diferentes cultivares van desde valores próximos a 0 a 1200 mg/100 g (0 a 1,2%). Ahumada (2016) corrobora que las saponinas triterpénicas están ubicadas principalmente en las capas exteriores de la semilla, el proceso de pelado suele reducir el amargor en un 50% de las saponinas totales además son el principal factor antinutricional de los granos de quinua y son las responsables del sabor amargo, el contenido permite distinguir las variedades de quinua como dulces (< 110 mg/100 g) o amargas (> 110 mg/100 g).

Zarate, (2016) los pequeños granos de *Chenopodium quinoa* Willd. están recubiertas de una delgada cascarilla que contiene hasta un 4% de saponinas triterpénicas, sustancia sumamente amarga que produce abundante espuma al agitar la semilla en agua, se han identificado alrededor

de 30 saponinas derivadas de la hederagenina y de los ácidos oleanólico, fitolacagénico y serjánico en la planta. El consumo del grano de quinua implica la remoción de la cascarilla a fin de reducir su sabor amargo, está constituida por 4 capas: una externa de superficie rugosa, quebradiza, la cual se desprende fácilmente con agua y al frotarla, cuya adherencia a la semilla es variable con los genotipos (Ahumada *et al.*, 2016)

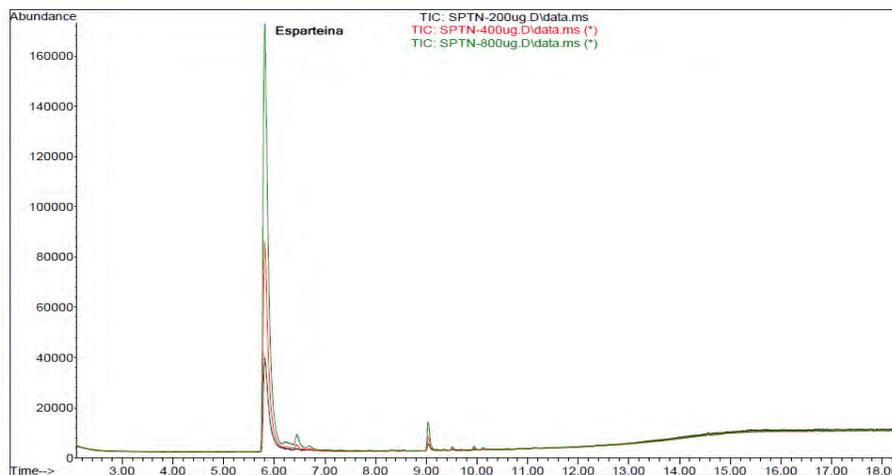
Lim *et al.*, (2019) destaca que las saponinas son glucósidos de alto peso molecular que consisten de un azúcar ligada a un núcleo policíclico, agrega que suele obtenerse un contenido promedio total de saponinas entre 238.9 y 328.0 mg/100 g. en quinua entera de cultivar dulce y su presencia no se restringe a las semillas, también se han detectado en las hojas de la planta hasta 900 mg/100 g. el ácido oleanólico es el principal componente de las saponinas con un porcentaje de 76-85%, le sigue la hederagenina con 10-18%, y la fitolacagenina con 4-5%.

Góngora *et al.*, (2022) corrobora que los usos actuales de las saponinas están directamente relacionados con su estructura química. Estas son moléculas anfifílicas, con una parte hidrofóbica y otra hidrofílica. Esta característica hace que tengan propiedades emulgentes y estabilizantes que han encontrado aplicación en el área farmacéutica y en la industria agroalimentaria, muchas de las aplicaciones propuestas para las saponinas se basan en que su efecto y actividad generalmente son inocuas y biocompatibles.

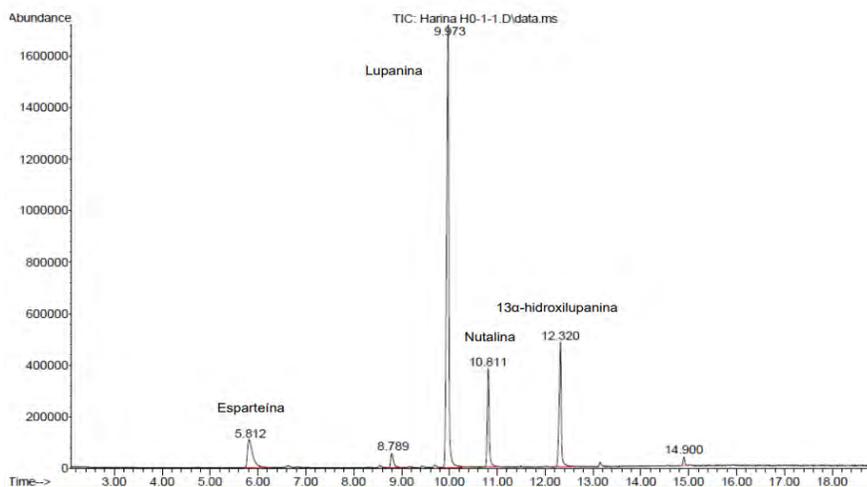
El contenido de saponinas en planta depende de diversos factores desde el tipo de cultivar, la edad, el estado fisiológico, la localización geográfica o el órgano vegetal. Así se pueden encontrar en el *Panax ginseng* donde su producción se da en la parte subterránea mientras en el *Centella asiática*, se producen o acumulan en la parte aérea es decir en las hojas (Silva y Arango, 2002)

**Figura 20**

Cromatograma de GC-MS de la solución estándar del alcaloide:

**Figura 21**

Cromatograma del GC-MS de la accesión tarwi INIA



El perfil de los alcaloides se muestra en la Figura 21, en los tiempos de retención 5.812 min; 9.973 min; 10.811 min; 12.320 min para alcaloides: esparteína, lupanina, nuttaline y 13 $\alpha$ -hidroxilupanina respectivamente. Bushra *et al.*, (2018) menciona que los metabolitos secundarios con actividad tóxica de los bioinsecticidas, puede actuar en diferentes niveles en la fisiología del insecto, los más destacados afectan a las células nerviosas dañando la sinapsis; cada componente activo presenta diferentes efectos como insecticidas naturales. Añade que los alcaloides afectan al sistema respiratorio, nervioso, irritándoles y causándoles bloqueos irreversibles de los receptores.

Gutiérrez, Infantes y Cruces (2016) mencionaron que, la esparteína es uno de los alcaloides más tóxicos del grupo de alcaloides quinolizidínicos (AQ) por sus altos efectos neurotóxicos, determinó que la esparteína a altas dosis cerca de la DL<sub>100</sub>, tiene efectos parecidos a los de la nicotina mientras que a más bajas dosis (<DL<sub>50</sub>) tiene efectos sedativos debido a su acción de bloqueo ganglionar. Roberts y Wink (1998) añade la acción repelente y toxicidad en diversas especies de insectos por esparteína.

**Tabla 9**

Perfil cromatográfico de alcaloides quinolizidínicos en semillas de cuatro accesiones de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet.)

Tarwi ( <i>Lupinus mutabilis</i> S.)					
Alcaloide mg/100g	Andenes	130944	081576	CA	Rendimiento* (%)
Lupanina	1114.12	687.96	<b>1,328.20</b>	963.67	77.58
Esparteina	83.65	96.52	<b>177.25</b>	80.17	10.34
13OH Lupanine	109.83	119.15	<b>120.97</b>	195.34	7.06
Nuttaline	164.98	23.61	<b>86.31</b>	207.59	5.03
<b>TOTAL</b>	1472.58	927.24	<b>1,712.73</b>	1446.77	100.0

\* En base al contenido total de alcaloides de la accesión 081576 (Anexo 12)

De la Tabla 9, de la accesión INIA 081576, la lupanina fue el más abundante con **77.58%** y esparteína con 10.34%, fueron los alcaloides mayoritarios como también es mostrado en su estudio por Zamora *et al.*, (2008) con su determinación de lupanina en 76.2%, lo que confiere a la semilla sabor extremadamente amargo y ser potencialmente tóxico, donde la concentración de alcaloides como la lupanina no representa un riesgo de toxicidad una vez desamargado y removido los alcaloides que aún conserva, corroborado por Zamora *et al.*, (2008) quien halló el contenido de alcaloides totales promedio en las hojas y flores se encuentra entre 1.12 y 1.06%, la reducción de alcaloides en hojas y tallos de *L. albus* y *L. mutabilis* en sus últimas etapas del crecimiento, se debe a que los alcaloides almacenados en los órganos que están por alcanzar la senescencia, son transferidos a los frutos y semillas, por ser compuestos metabólicamente activos.

El análisis de alcaloides por CG-MS muestra la separación y cuantificación de alcaloides Anexo 3, se presenta el patrón de fragmentación de los alcaloides más abundantes en el extracto, así como su abundancia relativa. La lupanina, fue reportada como el alcaloide mayoritario en especies originarias de Norteamérica, Sudamérica y Europa según Zamora *et al.*, (2005). Además, afirma que en especies nativas de México como *L. campestris*, *L. elegans* HBK, *L. montanus* HBK, *L. madrensis* Seemann y *L. aschenborni* Schauer no se reportó a la lupanina como el alcaloide mayoritario.

**Tabla 10**

Rendimiento de obtención de extractos

<b>Muestra</b>	<b>Extracto</b>	<b>Rendimiento** (%)</b>
Cascarilla de quinua	hidroetanólico	36.667
Tarwi INIA 081576	metanólico	29.80

\*\* Se determina con la Ec. 1, para mayor detalle ver el anexo 13

En los dos métodos, los dos componentes se maceraron 1 hora y 24 horas respectivamente en un recipiente bien tapado de material de vidrio.

## **5.2 Efecto larvicida de los extractos de saponinas, alcaloides y mezcla de ambas en larvas de III estadio de *Anastrepha* spp. a diferentes dosis según Kim y Joon, 2017; Bonilla *et al.*, 2019.**

Se evaluó la actividad larvicida frente a las larvas *Anastrepha* spp. Díptera: Tephritidae. Colectadas de los frutales del valle de Pachachaca.

Las hembras de *Anastrepha* spp., ovopositaron y atacaron frutos verdes que habían completado su desarrollo, frutos pintones y maduros, la larva emergida se introdujo y se alimentó de la pulpa. En el laboratorio se encontraron en promedio entre 6 a 8 larvas por fruto dentro y en la periferia de la cáscara, atacó todas las variedades de infrutescencias, barrenaron el fruto y cuando las larvas son de I estadio no hay síntomas externos de la infestación, a medida que crecen producen manchas negras y exudado gomoso acompañado de maduración precoz, con fermentación. Las larvas se desarrollaron tal como da a conocer Arellano *et al.*, (2015), confirma

lo encontrado al describir que son ápodas de aspecto vermiforme y de color amarillento, con un par de espiráculos posteriores muy pronunciados y el cuerpo dividido en 11 segmentos que portan pequeñas espículas que ayudan a la locomoción.

### 5.2.1 Efecto insecticida de los extractos de saponinas a nivel laboratorio

**a. Característica del concentrado de saponinas:** El concentrado de saponinas a partir de la cascarilla de quinua, tiene coloración blanquecina tenue, con solo verter de un frasco a otro formó espuma, no es denso, con un contenido de saponinas de 2764 mg/100 mL de concentrado.

**Tabla 11**

**Mortalidad de larvas de III estadio (N° y %) *Anastrepha* spp. por efecto de extracto de saponinas de cascarilla de quinua Ayara, en 24 horas de evaluación**

Concentración Saponinas (ppm) <sup>a</sup>	Densidad larval inicial (N°)	Mortalidad de larvas por repetición		Promedio mortal. <sup>a</sup>	% de mort. ***
		I	II		
0	10	0	0	0	0
460	12	0	0	0	0
900	12	0	1	0.5	4
1300	11	2	3	2.5	23
1800	11	6	7	6.5	59
2200	12	8	9	8.5	72
2764	12	11	9	10	86

<sup>a</sup> Los datos sombreados se utilizan para el análisis de varianza y la prueba de Tukey mostrado en la Tabla 12.

\*\*\* Para el cálculo se utiliza la Ec. 3, mayor detalle en el Anexo 15

Los datos de la tabla 11 reportan la mortalidad al ser sometidos a distintas concentraciones del extracto de saponinas de **cascarilla** de *Chenopodium quinoa* ecotipo Ayara. Se aprecia que la mortalidad larval se incrementó conforme se incrementaron las concentraciones del extracto hidroetanólico en la solución, alcanzando los máximos valores de mortalidad a partir de la concentración de 2200 y 2764 ppm, en la que se logró eliminar entre el 72 a 86 % del total de larvas evaluadas. Las soluciones acuosas de insecticidas penetran con dificultad debido a que

tienen una fuerte tensión superficial; los aceites minerales y las soluciones que contienen un agente mojante penetran mucho más fácilmente (Velásquez, 2020)

Vásquez *et al.*, (2007) corrobora el resultado obtenido afirmando que, el efecto tóxico sobre la fisiología de los insectos es inducida por los glicósidos se le asocia con sus propiedades disruptivas de la membrana, su inhibición de la actividad de la acetilcolinesterasa, la inducción del estrés oxidativo, la composición de la cadena lateral del glicósido y la naturaleza de la aglicona son para definir la funcionalidad de sus diferentes actividades biológicas que son influenciadas por su concentración. Amin (2017) afirma que los bioinsecticidas actúan de manera gradual, las especies vegetales insecticidas tiene la acción fulminante de los insecticidas sintéticos. La población de insectos no disminuye drásticamente con el uso de insecticidas naturales, su efecto radica en: **a)** repelencia en larvas y adultos, **b)** suspensión de la alimentación, **c)** reducción de la movilidad del intestino, **d)** impedimento de la formación de quitina, **e)** bloqueo de la muda en ninfas y larvas, **f)** reducción del desarrollo y crecimiento, **g)** toxicidad en larvas y adultos, **h)** interferencia de la comunicación sexual en la cópula, **i)** suspensión de la ovipostura, y **j)** esterilización de adultos. La mayoría de los efectos de los insecticidas naturales son fisiológicos, por lo que el insecto tiene que ingerirlos. Y desde otro ángulo, Lozano *et al.* (2012) enfoca a la saponina como un glucósido tipo triterpenoidal y tiene efectos alomónicos contra especies fitófagas, como un compuesto secundario que confiere resistencia al ataque de aves, roedores e insectos; sin embargo, aparentemente tiene acción kairomónica para la kona kona *Eurysacca quinoae* (Lepidoptera: *Gelechiidae*), insecto plaga en el cultivo quinua.

Los análisis de comparación entre el factor dosis – mortalidad del ANOVA de la tabla 12 se aprecia que existe diferencias entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ), es decir que el extracto con 2200 ppm y 2764 ppm tienen la misma actividad larvicida, ello permite afirmar que el tipo, edad, temporada, vía de administración del insecto dependerá el efecto insecticida, además de las

características propias del extracto, es decir, resistencia a los rayos UV, mecanismo de acción como lo indica Nuñez, (2017) en la que concluye que a concentraciones de 30000 ppm tiene efecto nematicida. Los que presentaron mayor cantidad de larvas muertas o los más efectivos, son los extractos puros o alta concentración del compuesto activo insecticida. Cuanto más diluidas se aprecia menor cantidad de larvas muertas y en la comparación de medias mediante Tukey, en donde se puede ver grupos estadísticamente similares entre sí (agrupados con diferentes letras) más que todo en función de la concentración y difieren estadísticamente con los tratamientos 1300, 900, 460 y 0 que son de baja concentración.

**Tabla 12**

Análisis de varianza ANOVA del efecto larvicida de los tratamientos con extractos de **saponinas** con prueba de Tukey

<b>Saponinas del extracto de cascarrilla de quinua</b>					
<b>Cuadro de análisis de la varianza</b>					
<b>F.V</b>	<b>SC</b>	<b>g.l</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Saponinas (ppm)	218	6	36.33	63.58	<0.0001
Error	4	7	0.57		
Total	222	13			
<b>Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=2.99638</b>					
Error: 0.5714	g.l: 7				
<b>Saponinas (ppm)</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E</b>		
2764	10	2	0.53	A	
2200	8.5	2	0.53	A	B
1800	6.5	2	0.53		B
1300	2.5	2	0.53		C
900	0.5	2	0.53		C
0	0	2	0.53		C
460	0	2	0.53		C
<b>Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p&gt;0.05)</b>					

La larva de *Anastrepha* spp. sin aplicación del extracto de saponina (blanco) presentó totalidad de larvas vivas, en comparación con los demás tratamientos, lo que mostró diferencias

significativas con relación a los tratamientos con la aplicación de saponinas. En el tratamiento con 460 ppm presentó mayor cantidad de fracasos con 0% de mortalidad en comparación con la de mayor concentración, se debe resaltar que la aplicación de 2764 ppm tuvo un efecto larvicida considerable que llega al 86%.

Arisaca, (2016) *Ch. quinoa* spp. *melanospermum* Hunz. tiene un mayor porcentaje de mortalidad, debido a su composición y modo de acción biocida ya que además contiene antocianinas, flavonoides, ácido fítico, taninos, glicoalcaloides, triterpenos y sesquiterpenlactona; además, en la cascarilla contiene saponinas triterpénicas como ácido oleanólico, hederagenina y ácido serjánico, por ende, una correlación de la mortalidad con el tipo de aglicona enlazado en su estructura. Nuñez, (2017) afirma, la toxicidad de la saponina extraída con solventes acuoso, etanólico, metanólico presenta diferencias de gran magnitud con el testigo para el control de *Radopholus similis*, se consideró el solvente con mayor potencial para compuesto nematicida causando mortandad en todos los intervalos de evaluación de hasta un 76 % y concluyendo que lo compuestos extraídos, fueron flavonoides y sesquiterpenlactonas con efecto biocidas.

### **5.2.2. Efecto insecticida de los extractos de alcaloides a nivel laboratorio**

**a. Característica del concentrado de alcaloides:** El concentrado de alcaloides de semillas de tarwi INIA 081576 tiene una coloración amarilla, densa con un contenido de alcaloides 1712 mg/100 mL de concentrado.

La tabla 13 reporta la mortalidad al ser sometido a distintas concentraciones del extracto de alcaloides de *Lupinus mutabilis*. Se aprecia que la mortalidad larval se incrementó conforme se incrementaron las concentraciones del extracto metanólico en la solución, alcanzando los máximos valores de mortalidad a partir de la concentración de 1480 y 1712 ppm, en la que se logró eliminar entre el 75 a 83% del total de larvas evaluadas.

**Tabla 13**

Mortalidad de larvas de *III* estadio (N° y %) de mosca de la fruta por efecto de extracto de alcaloides de semilla de tarwi INIA 081576 en 24 horas de evaluación

Concentración Alcaloides (ppm) <sup>a</sup>	Densidad larval inicial (N°)	Mortalidad de larvas por repetición		Promedio mortal. <sup>a</sup>	% de mort.
		I	II		
0	10	0	0	0	0
300	12	1	0	0.5	0
580	12	2	0	1	0
880	10	4	4	4	40
1185	10	7	8	7.5	75
1480	10	7	8	7.5	75
1712	12	8	9	8.5	83

<sup>a</sup> Los datos sombreados se utilizan para el análisis de varianza y la prueba de Tukey mostrado en la Tabla 14

Rosas (2019) menciona que los AQ provenientes del tarwi tiene efecto neurotóxico en los insectos parecidos a los de la nicotina. Comparando con Añamuro (2016), en Arequipa, determinó el efecto bioinsecticida del extracto de *L. mutabilis* Sweet sobre *Thrips tabaci* L. el extracto contiene esparteína en condiciones de laboratorio a una concentración de 5000 ppm, registró una mortandad del 41,6% a las 24 horas en adultos y larvas; a 40000 ppm una mortandad de 90% mientras que en larvas un 93,33%.

Al comparar los resultados de mortalidad larval reportados en la presente investigación con los desarrollados por Tapia (2015) manifiesta que los alcaloides quinolizidínicos (AQ) son utilizados para la protección de las plantas contra plagas de insectos, pero la acumulación en altos niveles de AQ en el grano de tarwi, hace que su consumo se vea afectado.

Huamán (2015) afirma que los extractos hidroetanólicos de semillas de *L. mutabilis*, son efectivas para el control de las larvas *III* estadio del mosquito (*Culex quinquefasciatus*), generando

mortalidades que oscilaron entre 32,5 y 35% de mortalidad larval a las concentraciones de 3000 a 5500 ppm.

Mariños *et al.* (2004) reporta a las 24 horas la mortalidad alcanzó el 99 y 94% usando agua destilada como diluyente, para *Lonchocarpus utilis* «barbasco» evaluada en el control de larvas de anofeles, difieren respecto al extractante utilizado, pero que evaluada en el estudio del extracto hidroalcohólico de las semillas de *Lupinus mutabilis* sobre larvas de *Culex quinquefasciatus*.

Bonilla *et al.*, (2019) los alcaloides se encuentran en plantas y animales, tienen efectos tóxicos sobre los insectos, además recomienda aplicar concentraciones superiores a 9000 ppm para que la mortalidad sea mayor a 40% de individuos en larvas en *III* estadio de *D. melanogaster*. Quiroz *et al.*, (2020) añade en este caso al ser alcaloide de tipo quinolizidínico muy resistente a la radiación UV, resistente a temperaturas mayores a 70°C la hace que poseedora de efectos agudos y crónicos con efecto residual a más de 48 horas luego de aplicada.

De acuerdo a la tabla 14, la larva de *Anastrepha* spp. sin aplicación del extracto (blanco) presentó totalidad de larvas vivas, tiene el mismo comportamiento con las concentraciones de 300, 580 y 880 ppm, lo que mostró diferencias significativas con relación a los tratamientos por encima de 1000 ppm de alcaloides. En el tratamiento con 580 ppm presentó mayor fracaso o sobrevivientes en oposición a la de mayor concentración, se debe resaltar que la dosis de 1712 ppm tuvo un efecto larvicida del 83%. Hassan *et al.*, (2019) con su investigación evalúa la eficacia larvicida de aplicación del extracto metanólico tiene **mayor** toxicidad que el extracto acuoso de alcaloides de semillas de tarwi sobre larvas de mosquitos, larvas de moscas y larvas de pulgas, en condiciones de laboratorio. De los frutos de pimienta negra (*Piper nigrum*) han sido aislados alcaloides de isobutilamida, los cuales fueron probados contra el *III* estadio de la larva de los insectos de zancudo doméstico (*Culex pipiens pallens*), *Aedes aegypti* y *Ae. togoi* observando que el compuesto más tóxico para la *I* estadio de la larva fue la pipericida. En el caso de las larvas de *Ae. aegypti* y *Ae.*

*togoi*, la actividad larvicida fue más pronunciada para retrofractamida A. (Araujo *et al.*, 2003)  
También se ha reportado el uso efectivo de alcaloides de quinolina y quinolona para evitar el crecimiento de larvas *Colletotrichum* sp (González *et al.*, 1993)

**Tabla 14**

**Análisis de varianza ANOVA del efecto larvicida de los tratamientos con extractos de alcaloides con prueba de Tukey.**

Alcaloides del extracto de semillas de tarwi					
Cuadro de análisis de la varianza					
F.V	SC	g.l	CM	F	p-valor
Alcaloides (ppm)	163.71	6	27.29	47.75	<0.0001
Error	4	7	0.57		
Total	167.71	13			
<b>Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=2.99638</b>					
Error: 0.5714	g.l: 7				
Alcaloides (ppm)	Medias	n	E.E		
1712	8.5	2	0.53	A	
1480	7.5	2	0.53	A	
1185	7.5	2	0.53	A	B
880	4	2	0.53		C
580	1	2	0.53		C
300	0.5	2	0.53		C
0	0	2	0.53		C
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p>0.05$ )					

De igual forma Huamán (2013) al llevar a cabo estudios de biotoxicidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lupinus mutabilis* sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* demostró mortalidad larval de  $70 \pm 8,16$  a  $75 \pm 12,91$  %, a las concentraciones de 20000 a 30000 ppm.

Zamora *et al.*, (2008) indica que la mezcla de los diversos AQ provocan envenenamiento agudo como fallo respiratorio, convulsiones y coma, lo cual fue reportado en animales que consumieron forraje de lupinos silvestres cuyo contenido es mayor al 1%.

### 5.2.3 Efecto insecticida de la MEZCLA de saponinas más alcaloides a nivel laboratorio

**a. Característica de la MEZCLA de saponinas más alcaloides:** El concentrado mezclado al 50 % (v/v) tiene consistencia viscosa muy ligera y de color amarillo cristalino.

**Tabla 15**

Mortalidad de larvas de *III* estadio (N° y %) de mosca de la fruta por efecto de extracto de la MEZCLA de saponinas más alcaloides de tarwi en 24 horas de evaluación

Concentración MEZCLA Saponinas y alcaloides (ppm) <sup>a</sup>	Densidad larval inicial (N°)	Mortalidad de larvas por repetición		Promedio mortal. <sup>a</sup>	% de mort.
		I	II		
<b>0</b>	10	0	0	0	0
<b>760</b>	10	2	1	1.5	15
<b>1480</b>	10	1	2	1.5	15
<b>2180</b>	10	5	6	5.5	55
<b>2985</b>	10	9	9	9	90
<b>3680</b>	10	7	7	7	70
<b>4476</b>	10	9	9	9	90

<sup>a</sup> Los datos sombreados se utilizan para el análisis de varianza y la prueba de Tukey mostrado en la Tabla 16

La tabla 15 reporta la mortalidad al ser sometido a distintas concentraciones de la mezcla de extractos de saponinas y alcaloides, alcanzando los máximos valores de mortalidad a partir de la concentración de 2180 y 4476 ppm, en la que se logró eliminar entre el 70 a 90% del total de larvas evaluadas.

Pizano, (2014) algunos alcaloides son neurotóxicos a insectos y vertebrados herbívoros. Es así, como algunos metabolitos secundarios constituyen una parte importante de la respuesta de la defensa de las plantas sometidas al ataque por las plagas. Matos, (2019), señala que las diferencias en la toxicidad de diferentes extractos pudieran deberse a la solubilidad de sus compuestos activos

en los solventes o a la presencia de inhibidores activos en los solventes o de inhibidores de principios insecticidas. Resultados obtenidos en otros estudios indican la presencia de carbohidratos, compuestos fenólicos, esteroides y alcaloides

En diferentes tipos de neuronas de insectos, los segundos mensajeros  $Ca^{2+}$  y cAMP actúan como reguladores del comportamiento, además, el aumento de cAMP o liberación de  $Ca^{2+}$  sirve para la activación de varias quinasas como PKA y CAMKII que fosforilan una amplia variedad de proteínas relacionadas con la vía y enzimas involucradas en la síntesis de precursores de ecdisona y 20-hidroxiecdisona (Quiroz *et al.*, 2020). Además, sostiene que, en *D. melanogaster*, un incremento en la concentración de ecdisona induce la expresión de genes que codifican para proteínas que son requeridas por la larva, y causa la formación de puff cromosómicos (bandas de material cromático acumulado localizadas en lugares específicos de cromosomas gigantes).

Chang *et al.* (2000) En la glándula paratorácica, la síntesis de ecdisona está controlada por la activación de octopamina. receptores La octopamina (OA), la tiramina (TA), la dopamina (DA), la serotonina (5-HT) y la histamina (HA) son aminas biogénicas que surgen de diversos procesos fisiológicos y de comportamiento en los invertebrados, hallazgos recientes indican que un sistema adrenérgico adicional existe en al menos algunos invertebrados, donde OA y su precursor TA han resultado a los neurotransmisores noradrenalina y adrenalina

En este trabajo, el principal compuesto causante de la actividad larvicida de *Anastrepha* spp. corresponde a lupanina y saponinas cada uno en su individualidad Camarena *et al.*, (2012) añade también que actúa en forma de regulador de crecimiento y antialimentario

En la tabla 16. Los resultados de la mortalidad de larvas de III estadio de la mosca de la fruta *Anastrepha* spp. se demuestra que los extractos hidroetanólico y metanólico y las mezclas producidas a partir del extracto, son efectivas para el control de las larvas generando mortalidades que puede superan el 70% de las larvas expuesta conforme se incrementen las concentraciones en

las diluciones revelan la tendencia creciente del efecto tóxico del extracto aplicado en las unidades experimentales.

**Tabla 16**

**Análisis de varianza ANOVA del efecto de los tratamientos de MEZCLA de extractos de saponinas más alcaloides sobre la mortalidad de larvas con prueba de Tukey**

Mezclas saponina más alcaloide					
Cuadro de análisis de la varianza					
F.V	SC	g.l	CM	F	p-valor
Mezclas (ppm)	170.86	6	28.48	132.89	<0.0001
Error	1.5	7	0.21		
Total	172.36	13			
<b>Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=2.99638</b>					
Error: 0.2143	g.l: 7				
Mezclas (ppm)	Medias	n	E.E		
1712	9	2	0.33	A	
1480	9	2	0.33	A	
1185	7	2	0.33		B
880	5.5	2	0.33		B
580	1.5	2	0.33		C
300	1.5	2	0.33		C
0	0	2	0.33		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p>0.05$ )

Sólo la concentración más alta tanto de saponinas, alcaloides y la mezcla de ambas se manifiesta un aumento significativo de la mortalidad de las larvas. Los efectos son dependientes de la concentración, dentro del rango de concentraciones probado, que causó efecto estadísticamente significativo solo cuando se aplicó la concentración más alta. A consecuencia de la mortalidad alta se puede calcular la letalidad sobre la base del análisis Probit. El extracto de saponinas administrados a larvas de *Anastrepha* spp. que se muestra en el ANVA, y los coeficientes de correlación fueron moderados, los extractos puros causaron mortalidad significativa de larvas expuestas.

La mezcla de saponinas y los alcaloides han demostrado tener propiedades larvicidas, lo que las convierte en una alternativa para el control de plagas, como la larva de *Anastrepha* spp.

Lozano, (2012), recalca que depende de los tipos de extractos y de los extractos hidroalcohólicos de *Ch. quinoa* contiene saponinas, fenoles, flavonoides, cumarinas y quinonas; siendo los triterpenos responsables de la actividad tóxica.

Howard y Baker (2004) afirma que la dificultad del efecto insecticida dependerá porque el estado de larva y pupa está recubierto con 2-acil-1,3-ciclohexanodionas depositadas y tienen propiedades físicas que se parecen mucho a las de los hidrocarburos cuticulares e hidrofobicidad en su estudio de sustancias químicas superficiales específicas de la etapa de *Plodia interpunctella*: sirven como lípidos cuticulares para conservación del agua.

### **5.3 Dosis letal media (DL<sub>50</sub>) de los extractos de saponinas, alcaloides y mezclas de ambas mediante análisis probit en IBM SPSS Statistic V21 a diferentes dosis.**

Según Delgado (2016) si se utiliza un gran número de dosis con un gran número de animales para cada dosis, se obtiene una curva dosis-respuesta sigmoidea, como se ve en la figura 23. Esta curva sigmoidea se aproxima a una respuesta del 0% a medida que disminuye la dosis y al 100% cuando aumenta, aunque teóricamente nunca pasa por los puntos 0 y 100%. Sin embargo, la dosis mínima efectiva que produce una respuesta del tipo todo o nada se llama dosis umbral, aunque no puede determinarse experimentalmente. La curva sigmoidea como se observa en la figura 14, tiene una porción lineal entre 16 y 84%. Estos valores representan los límites de una desviación estándar (S.D.) de la media en una población que presenta una distribución normal o gaussiana.

## Análisis PROBIT para saponinas de la cascarilla de quinua ecotipo Ayara

a. Modelo PROBIT:  $\text{PROBIT}(p) = \text{Intersección} + BX$  (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo en base 10,000.)

El modelo ajustado para esta aplicación es:

$$\Phi^{-1}(P) = -21.934 + 6.742 \cdot \log \text{DOSIS}$$

Contrastes de chi-cuadrado				
		Chi-cuadrado	gl <sup>b</sup>	Sig.
PROBIT	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	1,162	3	0,762 <sup>a</sup>

Como el nivel de significación es mayor que 0,050, no se utiliza un factor de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza.

b. Los estadísticos basados en casos individuales difieren de los estadísticos basados en casos agregados.

### Se presenta la prueba de bondad de ajuste:

El contraste de la bondad de ajuste de Pearson (1.162) mediante la hipótesis:

**H<sub>0</sub>**: el modelo está bien ajustado, ( $P > 0.05$ )

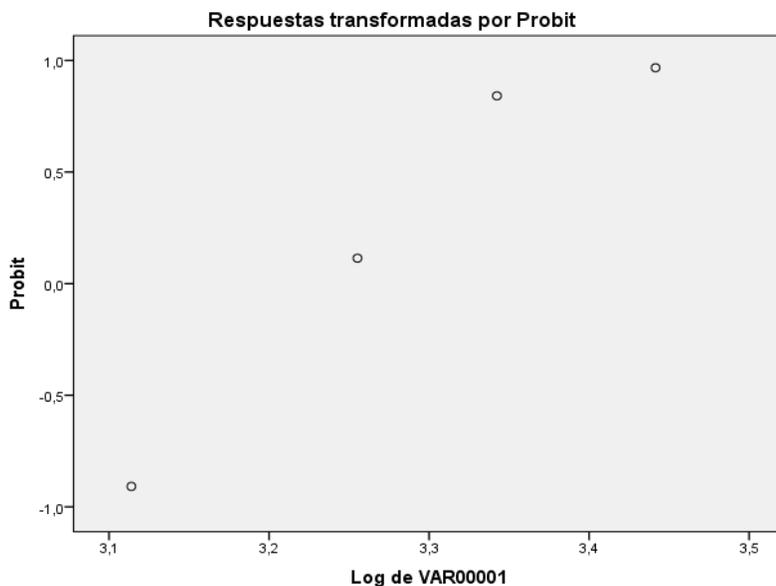
**H<sub>i</sub>**: el ajuste del modelo no es bueno ( $P < 0.05$ )

$P = 0.762 > 0.05$  permite concluir que no hay razones para dudar del modelo, es decir, se presenta un buen ajuste del modelo Probit.

El  $DL_{50}$  correspondió a una dosis de **saponina** de quinua ecotipo Ayara **1792.98 ppm**, para alcanzar un 50% de mortalidad larval.

## Figura 22

*Respuestas transformadas por Probit para saponinas de cascarilla de quinua*



La figura 22 muestra la efectividad insecticida de las saponinas de la cascarilla de quinua para matar larvas de mosca de la fruta y la dosis adecuada que se debe utilizar. Aplicando la regresión Probit a los datos de porcentajes de mortalidad de larvas puede determinarse la fuerza de la relación entre la concentración y la mortandad causada por el insecticida. Se observó que a medida que aumentaba la concentración también la mortalidad de las larvas *Anastrepha* spp., esto indica la acción dosis-dependiente.

Corroborado por López (2001) afirmando que las saponinas tienen propiedades detergentes, son capaces de romper las membranas celulares de los insectos, lo que resulta en su muerte. Actúa por contacto y sofocación, en contra de insectos plaga (inmaduros y adultos) de cuerpo blando, además, son biodegradables y poco persistentes en los agroecosistemas (Bazile *et al.*, 2014)

### **Análisis PROBIT para alcaloides de la accesión tarwi INIA 081576**

a. Modelo PROBIT:  $\text{PROBIT}(p) = \text{Intersección} + BX$  (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo en base 10,000.) el modelo ajustado para esta aplicación es:

$$\Phi^{-1}(P) = -13.033 + 4036 \cdot \log \text{DOSIS}$$

**Tabla 17***Contrastes de chi-cuadrado*

Contrastes de chi-cuadrado				
		Chi-cuadrado	gl <sup>b</sup>	Sig.
PROBIT	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	0,531	3	0,912 <sup>a</sup>

a. Como el nivel de significación es mayor que 0,050, no se utiliza un factor de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza.

b. Los estadísticos basados en casos individuales difieren de los estadísticos basados en casos agregados.

Se presenta la prueba de bondad de ajuste:

El contraste de la bondad de ajuste de Pearson (0.531) mediante la hipótesis:

Ho: el modelo está bien ajustado, ( $P > 0.05$ )

Hi: el ajuste del modelo no es bueno ( $P < 0.05$ )

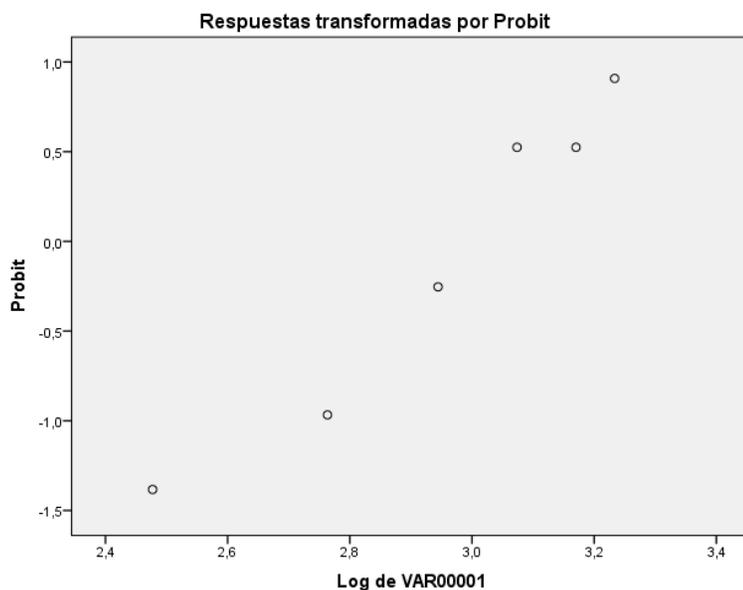
$P = 0.912 > 0.05$  permite concluir que no hay razones para dudar del modelo, es decir se presenta un buen ajuste del modelo Probit.

El  $DL_{50}$  correspondió a una dosis de **1063.5 ppm**, es decir que con esta concentración se obtuvo un 50% de mortalidad larval con alcaloide de la accesión de tarwi INIA 081576

Los resultados del ajuste al modelo probit para determinar la  $DL_{50}$  del extracto de *Ch. quinoa* y *L. mutabilis* se presentan en la Figura 22 y 23, se aprecia que el modelo probit explica mejor la mortalidad de larvas debido a que hay un buen grado de asociación entre los datos, por lo que la ecuación construida tiene una confiabilidad muy alta para realizar estimaciones y predicciones este resultado es corroborado por Delgado, (2016), quien menciona que los modelos no lineales explican mejor los fenómenos biológicos en comparación con los modelos lineales.

### Figura 23

Respuestas transformadas por Probit para alcaloide de la accesión de tarwi INIA 081576



La figura 23 muestra la efectividad larvicida del alcaloide de la accesión INIA 081576. Aplicando la regresión Probit a los datos de porcentajes de mortalidad de larvas puede determinarse la fuerza de la relación entre la concentración y la mortandad causada por el insecticida y como indica Delgado (2016) obedece a una curva sigmoideal, las ecuaciones no lineales sólo eran planteadas ocasionalmente, debido a que eran demasiado complejas y eran reemplazadas por aproximaciones lineales lo que ha conllevado a errores permanentes al creerse que los fenómenos naturales podrían ser descritos por ecuaciones lineales. Capra (2002) el modelo probit (Figura 23), sigue un patrón creciente, es decir que a mayor dosis hay mayor mortalidad de insectos debido a que no hay puntos de concavidad, dando como resultado coeficientes positivos, sin embargo el modelo no es confiable cuando se trata de estimar el  $DL_{50}$  pero se vuelve más confiable al incrementar la dosis de aplicación, coincidiendo con Rienzo *et al.* (2017), quienes mencionan que el análisis probit es el que más se ajusta para ensayos de plaguicidas, siempre que las dosis sean crecientes, por lo que el modelo en general es aceptable además los coeficientes de regresión son significativos.

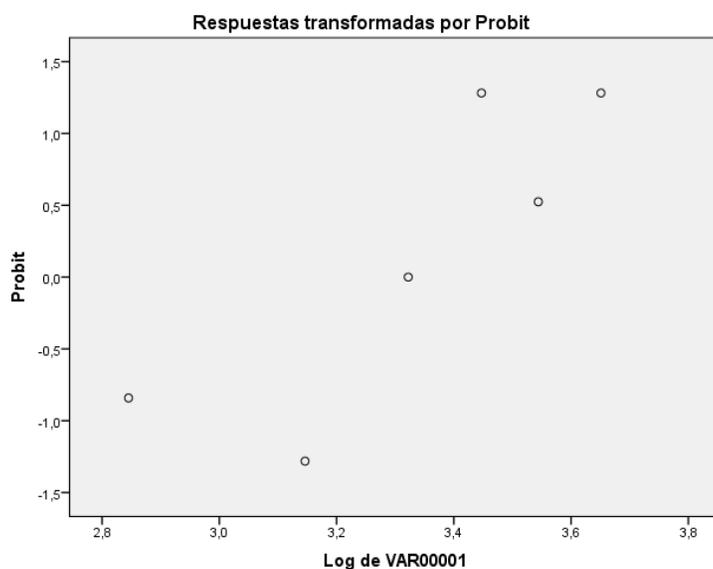
La dosis letal media ( $DL_{50}$ ) de la esparteína y la lupanina, varía dependiendo la vía de administración, como de la especie animal. En ratones, la  $DL_{50}$  de la lupanina vía intraperitoneal es 50 mg/Kg, mientras que la  $DL_{50}$  de esparteína vía oral es 350-510 mg/Kg (Zirena, 2014)

### Probit Mezcla Saponinas más Alcaloides

El  $DL_{50}$  correspondió a una dosis de **1063.5 ppm** es decir que con esta dosis es suficiente para eliminar el 50% de mortalidad larval con la mezcla de alcaloides más saponinas.

### Figura 24

Respuestas transformadas por Probit para mezcla de saponinas y alcaloides



Silva (2003) en su artículo dice, si se grafica el estímulo contra la respuesta, se obtendrá una línea sigmoide asimétrica con la curvatura inferior muy pequeña cuyos valores son de muy difícil interpretación. Al transformar la dosis a la función Log dosis, la respuesta se vuelve una línea sigmoide simétrica. A pesar de ello, resulta complicado analizar estadísticamente líneas curvas, además, arriba del 95% de respuesta, no se sabe con certeza la dirección que tomará dicha curva.

La mortalidad de larvas con saponinas, alcaloides y las mezclas en diferentes dosis resulta mejor y evidente por la influencia del factor dosis a medida que se incrementa para todas las evaluaciones en comparación con las demás dosis de baja concentración.

---

## CONCLUSIONES

---

1. Mediante el análisis en HPLC de grano integral y cascarilla de quinua Ayara se logró conocer el contenido 2764.4 mg/100 g de saponinas y de las cuatro accesiones de semillas de tarwi en GC-MS destacó INIA 081576 con 1712.73 mg/100 g con el principal componente tóxico en Lupanina (1328.20 mg/100 g) causante de la mortalidad de larvas de *Anastrepha* spp. a la vez en menor contenido de esparteína, 13-OH-Lupanina.
2. Las concentraciones denotan la tendencia creciente, ser insecticidas en grados variables ( $p < 0.05$ ), logrando porcentajes de mortalidad del extracto de saponina con 86%, seguido del extracto alcaloideo con un 83% de mortalidad y la mezcla de ambas con un promedio del 90 % de mortalidad, de modo tal que, cuanto mayor sea la concentración del extracto aplicado sobre las unidades experimentales mayor será el número de larvas muertas.
3. Se determinó  $DL_{50}$ , con el programa de IBM SPSS V21 resultando que la dosis de **saponina** necesaria para eliminar al 50% de la población larval *Anastrepha* spp. es de 1792.98 ppm a 24 h de exposición, éste valor es importante para determinar la eficacia y respecto al  $DL_{50}$  del **alcaloide** se determinó que la dosis necesaria es 1063.501 ppm a 24 h de exposición y  $DL_{50}$  de las **mezclas** de extractos de saponinas más alcaloides determinó que la dosis necesaria es 1915.512 a 24 horas de exposición, el efecto más tóxico que mostró los niveles más bajos de  $DL_{50}$  así como la pendiente más pronunciada de la curva de concentración de acuerdo a la toxicidad fue: alcaloides > saponinas > mezcla de saponinas más alcaloides.

---

## RECOMENDACIONES

---

1. Evaluar si el alcaloide tiene efecto residual insecticida por ser del grupo de los quinolizidinicos muy resistentes a altas temperaturas, rayos UV.
2. Ensayos de aplicación con pruebas en campo, para evaluar efecto residual insecticida, efectividad en el control de larvas de mosca de la fruta, comparando resultados obtenidos en el trabajo.
3. Profundizar los mecanismos asociados al desarrollo de resistencia a insecticidas naturales.

---

**BIBLIOGRAFÍA**

---

- Aguirre, E. (2018). Propiedades de biocida del alcaloide del chocho en tunales infestados por la cochinilla de escudo en la asociación agroindustrial Llanavilla, Villa María. (Tesis Grado, Universidad Cesar Vallejo]
- Ahumada, A.; Ortega, A.; Chito, D.; y Benítez, R. (2016). Saponinas de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 45(3), 438–469.  
<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v45n3.62043>
- Amin, A.; Shafiullah, S.; Mondal, E. y Ahmed, T. (2017). Toxicity and physiological effects of some plant extracts on fruit fly infesting ash gourd Department of Entomology, Bangabandhu Sheikh Mujibur Rahman Agricultural University Gazipur, Bangladesh  
*SAARC J. Agri.*, 15(2): 125-135 (2017) DOI: <http://dx.doi.org/10.3329/sja.v15i2.35162>
- Añamuro, C. (2016). Determinación del efecto biocida del extracto acuoso de semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) sobre *Thrips tabaci Lindeman* (Trips) en cultivos de cebolla. [Tesis Maestría, Universidad Católica de Santa María – Arequipa]
- Araújo, E.; Silveira, E.; Lima, M.; Andrade, M.; Santiago, G. y Mesquita, A. (2003). Actividad insecticida y composición química de los aceites volátiles de *Hyptis martiusii* Benth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 3760-3762 doi: 10.1021/jf021074s. PMID: 12797740.
- Arango, G. (2002) Alcaloides y compuestos nitrogenados. Facultad de Química Farmacéutica - Universidad de Antioquía Colombia.
- Arellano, G.; Vergara, Cl.; Bello, S.; (2015) Plagas entomológicas y otros artrópodos en el cultivo de piña (*Ananas comosus* var. *comosus* (L.) Merr., Coppens y Leal) en Chanchamayo y

- Satipo, Departamento de Junín, Perú. Rev. Ecología Aplicada, Vol.14 Núm 2 pp. 175-189
- Arisaca, A. (2016) Capacidad antioxidante de tres procesos agroindustriales de la quinua (*Chenopodium quinoa*) ecotipo Ayara y variedad INIA 420 negra Collana y disponibilidad de litio. [Tesis Licenciatura, Universidad Nacional del Altiplano Puno] <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/6592>
- Avilés, M.; Flores, R.; Flores, G.; Flores, P.; y Charcas, A. (2013) Estudio del efecto repelente y biocida de un extracto oleoso obtenido a partir de especies silvestres (*Ricinus communis*/*Datura stramonium*) contra *Aedes aegypti* insecto hematófago transmisor del dengue. Revista Ciencia, Tecnología e innovación. Vol. 7, Núm 8 465-470 [https://handbook.usfx.bo/nueva/Dicyt/RevistaCienciaTecnolog%C3%ADaeInnovaci%C3%B3n/7\\_RevCienciaTecnologiaeInnovacionVol7\\_n8/Revista%20Vol.%207%20Nro.%2008\\_articulo\\_03.pdf](https://handbook.usfx.bo/nueva/Dicyt/RevistaCienciaTecnolog%C3%ADaeInnovaci%C3%B3n/7_RevCienciaTecnologiaeInnovacionVol7_n8/Revista%20Vol.%207%20Nro.%2008_articulo_03.pdf)
- Bartolaccini, I. Castro, D. Curis, M, y Zucchi, R. (2016). Nuevos registros de dos especies de *Toxotrypana* (Diptera: *Tephritidae*) en la Argentina. Universidad Nacional de Cuyo. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias Padre Luis Kreder. Esperanza, Santa Fe, Argentina
- Bazile D.; Bertero, D. y Nieto, C. (2014). “Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013”: FAO (Santiago de Chile) y CIRAD, (Montpellier, Francia), 18 páginas
- Bermúdez, K.; Robledo, N.; y Martínez, J. (2000). Patrón de acumulación de alcaloides en hojas y semillas de *Lupinus aschenbornii* crecidos en México. Disponible en [https://www.researchgate.net/figure/REVISTA-LATINOAMERICANA-DE-QUIMICA\\_fig1\\_333429569](https://www.researchgate.net/figure/REVISTA-LATINOAMERICANA-DE-QUIMICA_fig1_333429569)
- Bonilla, H.; Carbajal, Y.; Gonzales, M.; y López, A. (2019) Determinación de la actividad insecticida de la saponina de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) en larvas de

- Drosophila melanogaster*. Scientia Agropecuaria 10(1): 39-45 recuperado de <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop/article/view/2316/2203>
- Brito, M., Castañeda, V., Parada, M., y Manobanda, P. (2019). Determinación de la actividad plaguicida de la saponina del mojuelo de quinua. Revista ESPAMCIENCIA ISSN 1390-8103, 10(2), 37-42. Disponible en: [http://revistasespam.espam.edu.ec/index.php/Revista\\_ESPAMCIENCIA/article/view/195](http://revistasespam.espam.edu.ec/index.php/Revista_ESPAMCIENCIA/article/view/195)
- Bushra, R.; Kashif, M.; Asif, M.; Naz, H.; Javed, I.; Ahmad, A.; Jabeen, F.; Zuhssaln, M.; y Sultana (2018). Toxicidad, composición fitoquímica y actividades inhibitorias enzimáticas de algunos extractos de plantas de malezas indígenas en la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*. University of Agriculture Faisalabad, Pakistan. DOI: 10.1155/2018/2325659 [https://www.researchgate.net/publication/324487672\\_Toxicity\\_Ph\\_chemical\\_Composition\\_and\\_Enzyme\\_Inhibitory\\_Activities\\_of\\_Some\\_Indigenous](https://www.researchgate.net/publication/324487672_Toxicity_Ph_chemical_Composition_and_Enzyme_Inhibitory_Activities_of_Some_Indigenous)
- Camarena, F.; Huaranga, J.; Joaquin, A.; Jimenez, J. y Mostacero, E. (2012). Revaloración de un cultivo subutilizado chocho o tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) (2. ed.). Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina. Disponible en <https://catalogo.biblio.unc.edu.ar/Record/agropecuarias.11431>
- Capra, F. (2002) La trama de la vida. Una nueva perspectiva de los sistemas vivos. Anagrama. Barcelona, España. 65 p.
- Chang, F.-R.; Chen, C.-Y.; Wu, P.-H.; Kuo, R.-Y.; Chang, Y.-C.; y Wu, Y.-C. (2000). New alkaloids from *Annona purpurea*. Journal of Natural Products 63, 746- 748. <https://www.redalyc.org/pdf/724/72440509.pdf>
- Cruz, A.; Rodríguez, C. y Ortiz, C. (2011) Efecto insecticida in vitro del extracto etanólico de algunas plantas sobre la mosca adulta *Haematobia irritans*. Rev Cubana Plant Med, Ciudad de la Habana, v. 16, n. 3, p. 216-226,

- Disponible en <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v16n3/pla01311.pdf>
- Delgado, N. (2016) Evaluación de la eficacia de un insecticida biológico mediante análisis probit. Facultad de Agronomía Universidad Central de Venezuela. [http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_agronomia/Zoologia\\_Agricola/Manejo\\_Integrado/Competencia3/Clase\\_practica\\_control\\_microbiologico\\_FMIP\\_2016.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/Zoologia_Agricola/Manejo_Integrado/Competencia3/Clase_practica_control_microbiologico_FMIP_2016.pdf)
- Devine, J., Eza, D, Ogusuku, E., y Furlong, M. (2008). Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica, 25(1), 74-100. Recuperado en 05 de mayo de 2022, de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-46342008000100011&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342008000100011&lng=es&tlng=es).
- Enciclopedia digital de la vida (2022) disponible en <https://www.botanical-online.com/naturaleza/enciclopedia-vida>.
- Ferrer, A. (2003). Intoxicación por plaguicidas. Anales del Sistema Sanitario de Navarra, 26 (Supl. 1), 155-171. Recuperado en 20 de noviembre de 2022, de [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1137-66272003000200009&lng=es&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272003000200009&lng=es&tlng=es).
- Fernícola, N. (1985) Toxicología de los insecticidas organoclorados. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana 98(1) disponible en: <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/16966/v98n1p10.pdf>
- Fuertes, R., Roque, M., y Tristan, M. (1998) Flavonoides y alcaloides de *Lupinus ballianus* Smith con actividad antibacteriana y antifúngica. Ciencia e Investigación Perú.
- García, P.; De la Mora, P.; Wysoka, W.; Maiztegui, B. Alzugaray, M.; y Del Zotto, H. (2004). Los alcaloides de quinolizidina aislados de especies de *Lupinus* mejoran la secreción de insulina. Eur J Pharmacology (1-2): pp. 139-42. 10.1016/j.ejphar.2004.09.008

- Gianna, V. (2013) Extracción, cuantificación y purificación de saponinas de semillas de *Chenopodium quinoa* Will provenientes del Noreste argentino. [Tesis de Doctorado Fac. ICs. Exactas Físicas y Naturales. Universidad Nacional del Córdoba]
- Giannuzzi, L. (2018) Efectos tóxicos de los plaguicidas, insecticidas organofosforados y carbamatos Edit. Universidad Nacional del Plata. Facultad Ciencias Exactas 286-315
- Gómez, A.; Iafelice, G.; Verardo, V.; Marconi, E.; y Caboni, M. (2014) Influencia del proceso de perlado sobre el contenido de fenoles y saponinas en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) recuperado de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24679767/>
- Góngora, G.; Lizardi, J.; López, Y.; López, M. y Quihui, L. (2022) Métodos de extracción, funcionalidad y bioactividad de saponinas de *Yucca*: una revisión. Revista de ciencias biológicas de la salud. DOI:10.18633/biotecnia.v25i1.1800
- González, A.; Jiménez, I.; Ravelo, I. y Bazzocchi, L. (1993). Sesquiterpenos menores de *Maytenus canariensis* con actividad insecticida y antialimentaria. Rev. ELSEVIER Vol. 49, Num. 30 [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)81833-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)81833-0)
- Gutiérrez, A., Infantes, M., y Cruces, L. (2016). Evaluación del efecto insecticida de las aguas residuales de tarwi (*Lupinus mutabilis*) sobre larvas de *Spodoptera eridania* (Lep.: Noctuidae) bajo condiciones de laboratorio. Agroindustrial Science, 6(1), 151-153. <https://doi.org/10.17268/agroind.science.2016.01.18>
- Harwood, R. y James, M. (2009) Entomología médica y veterinaria. Edit. LIMUSA
- Hassan, M.; Nour, A.; y Micheal, M. (2019) Efecto larvicida de alcaloides extraídos de semillas de lupino amargo contra mosquitos (*Culex pipiens*), moscas (*Musca domestica*) y pulgas (*Xenopsylla cheopis*) bajo condiciones de laboratorio en Egipto. [https://jesp.journals.ekb.eg/article\\_68192.html](https://jesp.journals.ekb.eg/article_68192.html)

- Hernández, V.; Hernández, M.; Steck, G. (2020) Morfología y taxonomía de Tephritidae: especies de importancia económica y cuarentenaria en América. Institute of Ecology INECOL. <https://www.researchgate.net/publication/340680808>
- Hernández, R. (1996) Obtención de crudos de saponinas hipocolesteromizantes del *Chenopodium quinoa* Willd Instituto Superior de Medicina Militar. Ciudad de La Habana, Cuba.
- Hernández, A. y Hermosilla, V. (2014). Efecto de la concentración de saponinas en la actividad hemolítica de extracto de ocho plantas de uso medicinal en Guatemala Universidad San Carlos de Guatemala
- Herrera, V.; Ticona, J.; Udaeta, E.; Chuqui, R.; y Giménez, A. (2008). Validación del método analítico para la cuantificación de alcaloides quinolínicos del extracto de *Galipea longi* Kallunki. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-997955>
- Howar, R. y Baker, J. (2004) Stage-specific surface chemicals of *Plodia interpunctella*: 2-acyl-1,3-cyclohexanediones from larval mandibular glands serve as cuticular lipids. Published by Elsevier Inc. doi:10.1016/j.cbpc.2004.03.008  
[https://www.fio.unicen.edu.ar/usuario/gmanrique/images/Toxicologia\\_de\\_Alimentos\\_VeigaFlorentino.pdf](https://www.fio.unicen.edu.ar/usuario/gmanrique/images/Toxicologia_de_Alimentos_VeigaFlorentino.pdf)
- Huamán, N. (2015). Biotoxicidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lupinus mutabilis* “tarwi” sobre larvas de *Culex quinquefasciatus*. Tesis de grado recuperado de [http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/1696/TESIS%20B745\\_Hua.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/1696/TESIS%20B745_Hua.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Huamán, H. y Shuan, S. (2018) Obtención de saponina de la corteza de quinua (*Chenopodium quinoa*) mediante extracción hidroalcohólica [Tesis de licenciatura Fac. Ingeniería Química Universidad del Callao]

- Huaraca, R. (2018) Identificación de las especies (*Anastrepha sp.* y *Ceratitis capitata*) y hospedantes de la mosca de la fruta en el sector Pachachaca, Abancay – Apurímac. Tesis [https://repositorio.utea.edu.pe/bitstream/utea/86/1/Tesis-Identificaci%  
c3%b3n%20de%20la%20especies%20y%20hospedantes%20de%20la%20mosca.pdf](https://repositorio.utea.edu.pe/bitstream/utea/86/1/Tesis-Identificaci%c3%b3n%20de%20la%20especies%20y%20hospedantes%20de%20la%20mosca.pdf)
- IBM (2022) Análisis probit. Disponible <https://www.ibm.com/docs/es/spss-statistics/25.0.0?topic=regression-probit-analysis>
- Kim, S. y Joon Ahn, Y. (2017) Actividad larvicida de lignanos y alcaloides identificados en la corteza de *Zanthoxylum piperitum* hacia *Culex pipiens pallens* y *Aedes aegypti* silvestres y susceptibles a insecticidas. DOI 10.1186/s13071-017-2154-0
- Korytkowski, C. (2011). Memorias “Curso de Taxonomía de Moscas de la Fruta”. Manual, AGROCALIDAD-APHIS-CORPEI, Ecuador. Recuperado el 29 de 08 de 2022, de <https://es.scribd.com/document/285064074/Anastrepha-Ludens>
- Liberman, M. (2002). El cultivo tradicional de la quinua: una alternativa agrícola sostenible para las poblaciones andinas. Bolivia.
- Lim, J.; Park, H.; y Yoon, K. (2019) Analysis of saponin composition and comparison of the antioxidant activity of various parts of the quinoa plant (*Chenopodium quinoa* Willd.) DOI:10.1002/fsn3.1358
- López, T. (2010) Fitoestrógenos, eficacia y seguridad Rev. ELSEVIER Vol. 29. Num. 3 Pag. 86-90 <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-fitoestrogenos-eficacia-seguridad-X0212047X10511945#:~:text=Las%20isoflavonas%20constituyen%20la%20familia,e1%20miso%20y%20el%20licuado.>
- López, M. (2001) Saponósidos. Revista ELSEVIER Vol. 20. Núm. 6. páginas 124-129 <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13015492>

- Lozano, M; Ticona, E; Carrasco, C; Flores, Y; y Almanza, A. (2012). Cuantificación de saponinas en residuos de quinua real (*Chenopodium quinoa* Willd). Instituto de Investigaciones Químicas, UMSA, Campus Universitario de Cota Cota Edificio de la FCPN c. Andrés Bello y c. 27 s/n, CP 303 La Paz, Bolivia.  
[http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0250-54602012000200002](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602012000200002)
- Manayay, C. (2018) Toxicidad de cuatro insecticidas utilizados como cebos sobre adultos de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) bajo condiciones de laboratorio Tesis UNT Pregrado Ingeniero Agronomo
- Mariños, C.; Castro, J.; y Nongrados, D. (2004) Efecto biocida del barbasco (*Lonchocarpus utilis*) como regulador de larvas de mosquitos. Universidad Nacional de la Amazonía, Perú. *Revista Peruana de Biología*, 11 (1), 87-94. Recuperado el 30 de agosto de 2022, de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-99332004000100011&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332004000100011&lng=es&tlng=es).
- Matos, M.; Balcázar, L.; Gil, J. y Sales, F. (2019). Determinación de la Dosis Letal Media de los Extractos de *Paullinia clavigera* var. bullata Simpson y *Solanum mammosum* L. para controlar áfidos en condiciones de laboratorio. Universidad Agraria de la Selva, Huánuco, Tingo María-Perú. recuperado de:  
<https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/facccbiol/article/view/2730/2817>
- Miyazawa, M.; Nakamura, Y. y Ishikawa, Y. (2000). Insecticidal Sesquiterpene from *Alpinia oxyphylla* against *Drosophila melanogaster* Department of Applied Chemistry, Faculty of Science and Engineering, Kinki University, Kowakae, Higashiosaka-shi, Osaka 577-8502, Japan, and Laboratory of Applied Entomology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0032, Japan

- Montoya, P; Toledo, J. y Hernández, E. (2020). Moscas de la Fruta: Fundamentos y Procedimientos para su Manejo. S y G editores. México. pp. 71-116.
- Mujica, A. (2013). La importancia de los cultivos andinos. Universidad Nacional del Altiplano. Puno. Rev. Venezolana. de Soc. y Ant. v.13 n.36 Mérida abr.
- Mujica, A. Izquierdo, J. y Marathee J (2003). La importancia de los cultivos andinos. Universidad Nacional del Altiplano. Puno. Rev. Venezolana. de Soc. y Ant. v.13 n.36 Mérida abr.
- Mujica, A. y Jacobsen, S. (2006) El tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) y sus parientes silvestres. Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, 2006: 458-482.
- Núñez, L. (2004). Moscas de las frutas (Diptera: *Tephritidae*) y parasitoides asociados con *Psidium guayava* L. y *Coffea arabica* L. en tres municipios de la Provincia de Vélez (Santander Colombia). Rev. CORPOICA Ciencia y tecnología agropecuaria Vol. 5 núm. 1. Pp. 13-21  
Disponible en <https://www.redalyc.org/pdf/4499/449953025002.pdf>
- Núñez, V. (2017). El plaguicida orgánico de los residuos del lavado de la quinua (*Chenopodium quinoa*) y los nematodos en cultivo de papas (*Solanum tuberosum*) en el cantón Quero [Tesis grado Master, Universidad técnica de Ambato-Ecuador].  
<https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/25357>
- Pérez, M. (2017) Evaluación del temefos y pyriproxifeno para el control de larvas de *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio. Horiz Med 2017; 17(4): 24-29  
<https://doi.org/10.24265/horizmed.2017.v17n4.05>
- Pizano, J. (2014). Determinación de efecto genotóxico de extractos totales de alcaloides de *Lupinus exaltatus* mediante la prueba de micronúcleos [Tesis Grado Universidad de Guadalajara]  
[http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5753/Pizano\\_Andrade\\_Juan\\_Carlos.pdf?sequence=1](http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5753/Pizano_Andrade_Juan_Carlos.pdf?sequence=1)

- Ponce, G.; Cantú, P.; Flores, A.; Badii, M.; Zapata, R.; López, B. y Fernández, I. (2006). MODO DE ACCIÓN DE LOS INSECTICIDAS. RESPYN Revista Salud Pública Y Nutrición, 7(4). Recuperado a partir de <https://respyn.uanl.mx/index.php/respyn/article/view/178>
- PUBCHEM (2023) Estructura del alcaloide lupanina. Disponible en <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Quiroz, S.; Pastene, E.; Espinoza, C; Muñoz, E.; Devotto, L. Cespedes C.; y Alarcon, E. (2020) Evaluación de la actividad insecticida de alcaloides de bencilisoquinolina de plantas Rhamnaceae chilenas contra la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* y la plaga lepidóptera *Cydia pomonella*. Universidad de Concepción-Chile. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33153001/>
- Ramírez, M.; Cruz, A. y Rodríguez, C. (2009). Evaluación preliminar del efecto de los extractos etanólicos de cinco plantas medicinales sobre la mosca de los cuernos *Hematobia irritans* L. (Diptera: Muscidae) Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica 12 (1): 69-78
- Ramos, N. y Santacruz, S. (2012). Evaluación de tres diluciones de un extracto de *Allium sativa* (ajo) y su posible como insecticida natural con el *Zabrotes subfasciatus* (gorgojo común del frijol) en grano almacenado [Tesis Licenciatura Química y Farmacia, Universidad de El Salvador] Disponible en: [https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2330/1/EVALUACION\\_DE\\_TRES\\_DILUCIONES\\_DE\\_UN\\_EXTRACTO\\_DE\\_Allium\\_sativum\\_%28AJO%29\\_Y\\_SU\\_POSIBLE\\_USO\\_COMO\\_INSEC.pdf](https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2330/1/EVALUACION_DE_TRES_DILUCIONES_DE_UN_EXTRACTO_DE_Allium_sativum_%28AJO%29_Y_SU_POSIBLE_USO_COMO_INSEC.pdf)
- Riddiford, L.; Cherbas, P.; Truman, J.W. (2000) Ecdysone receptors and their biological actions. Vitam. Horm., 60, 1–73.

- Rienzo, J.; Casanoves, M.; Balzarini, L.; Gonzalez, M. y Robledo. (2017) INFOSTAT versión libre.
- Roberts, M. y Wink, M. (1998) Alkaloides: bioquímica, ecología y aplicaciones medicinales. Plenum Press, Nueva York. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2905-4>
- Rodríguez, A. (2009). Evaluación “in vitro” de la actividad antimicrobiana de los alcaloides del agua del agua de cocción del proceso de desamargado del chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*) [Tesis Escuela Superior Politécnica de Chimborazo-Ecuador]. Repositorio institucional de la ESPOCH <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/219>
- Romeo, F.; Fabroni, S.; y Rapisarda, P. (2018) Caracterización and antimicrobial activity of alkaloid extracts from sedes of different genotypes of *Lupinus* spp. *Sustainability*, 10(3). 788. <https://doi.org/10.3390/su10030788>
- Roldán, E. (2016) Introducción a la toxicología. Zaragoza, ISBN: 978-607-02-8172-3
- Rosas, Y. (2019) Eliminación de los alcaloides del *Lupinus mutabilis Sweet*. (Tarwi) por fluidos supercríticos (CO<sub>2</sub>) con co-solventes [Tesis de licenciatura Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa] repositorio institucional de la UNSA <http://proyectos-vri.unsa.edu.pe/handle/91.103.221022/2830>
- SENASA (2015) Erradicación de la mosca de la fruta y métodos de trampeo. *Boletín informativo*
- Silva, G. y Arango, G. (2002) Alkaloides y compuestos nitrogenados. Universidad de Antioquia. Medellín Colombia
- Soporte de Minitab (2023) Revisión general del análisis probit. Disponible en <https://support.minitab.com/es-mx/minitab/20/help-and-how-to/statistical-modeling/reliability/how-to/probit-analysis/before-you-start/overview/>
- Tapia, M. (2015). El tarwi, lupino andino. Fondo italo-peruano

- Tapia, M. y Fries, A. (2007). *Guía de campo de los cultivos andinos*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación - FAO y Asociación Nacional de Productores Ecológicos del Perú - ANPE. Lima, Perú. Disponible en <https://www.fao.org/3/ai185s/ai185s.pdf>
- Thomas, M.; Heppner, R.; Woodruff, H.; Weems, G.; Steck, J. y Fasulo, T. (1969) Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Insecta: Díptera: Tephritidae) disponible en <https://www.researchgate.net/publication/239589472>
- Valdez, C. (2010). Reconocimiento de adultos de moscas de la fruta de importancia económica y cuarentenaria. Módulo IV Moscas de la Fruta realizado en la Dirección General de Sanidad Vegetal. México, D. F.
- Valle, P. y Lucas, B. (2000) Toxicología de alimentos. Instituto Nacional de salud pública. México.
- Vásquez, A. Pérez, L. y Díaz, R. (2007). Biomoléculas con actividad insecticida: una alternativa para mejorar la seguridad alimentaria Sociedad Mexicana de Nutrición y Tecnología de los Alimentos Journal Ciencia. Tecnología. Alimentos. 5(4) 306-313
- Velásquez, B. (2020) Caracterización de poblaciones de mosca de la fruta (*Tephritidae*) en el área libre de la mosca del Mediterráneo, del suroccidente de Guatemala [Tesis de grado Ingeniero Agrónomo, Universidad Rafael Landívar]. Repositorio institucional de la URL – <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesiseortiz/2021/06/14/Velasquez-Berny.pdf>
- Villeda, M.; Barrera, H.; Lara, J. y Ruiz, P. (2008) Histología del tubo digestivo de *Dythemis velox* (Libellulidae: Odonata) Revista de Zoología, núm. 19, pp. 1-6 Universidad Nacional Autónoma de México Tlalnepantla, México Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49812529001>
- Viñuela, E.; Budia y Del Estal, P. (1991). Los insecticidas reguladores del crecimiento y la cutícula. Bol. San. Veg. Plagas, 17:391-400 disponible en:

[https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf\\_plagas/BSVP-17-03-391-400.pdf](https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_plagas/BSVP-17-03-391-400.pdf)

Yucra, Y. (2021). Cinética de desamargado del tarwi (*Lupinus mutabilis*) por congelación acoplado con microondas y ultrasonido. [Tesis de licenciatura Universidad Nacional de Juliaca].

<http://repositorio.unaj.edu.pe/bitstream/handle/UNAJ/128/Tesis%20tarwi%20Eliana.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Zamora J.; Bernal, A.; Ruiz, M.; Soto, M.; Escalante, A.; y Vibrans, H. (2005) Perfil de alcaloides de *Lupinus exaltatus* zucc (Fabaceae) y evaluación antifúngica del extracto de alcaloideo y lupanina contra fitopatógenos. Revista mexicana de fitopatología Julio/diciembre, año/vol. 23 numero 002. Sociedad mexicana de fitopatología, A,C Ciudad de Obregón México. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61223203.pdf>

Zamora, F.; García, P.; y Salcedo, E. (2008) Composición de alcaloides en semillas de *Lupinus mexicanus* (Fabaceae) y evaluación antifúngica y alelopática del extracto alcaloideo. Rev. AGROCIENCIA 42 (2) pp. 185-192  
<https://www.redalyc.org/comocitar.oa?id=30211199006>

Zarate, S. (2016). Evaluación del método de extracción sólido – líquido de la saponina de 5 cultivares de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*), su encapsulamiento y utilización en la alimentación [Tesis Pregrado Ingeniero Químico, Universidad Nacional del Altiplano – Puno]. Repositorio institucional de la UNAP.  
<http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/2432>

Zirena, D. (2014). Evaluación del efecto escabicida del extracto *Lupinus mutabilis* Sweet (tarwi), para el tratamiento de la escabiosis, “Sarna Humana”, en pacientes del Hospital Regional Honorio Delgado. Arequipa – Perú

---

**ANEXOS**

---

## MATRIZ DE CONSISTENCIA

Actividad insecticida de la mezcla de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) y alcaloides de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) sobre la mosca de la fruta *Anastrepha* spp.

Problemas	Objetivos	Justificación	Hipótesis	Variables	Indicadores	Metodología
<p><b>Problema general</b> ¿Tendrá efecto tóxico la mezcla de extractos de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.) y tarwi (<i>Lupinus mutabilis</i> Sweet) evitando el desarrollo de la larva <i>Anastrepha</i> (<i>Tephritidae</i> spp)?</p> <p><b>Problema específico N°1</b> ¿Poseen componentes bioactivos insecticidas de granos integrales de quinua y semillas de tarwi?</p> <p><b>Problema específico N°2</b> ¿Cuál será la concentración de los extractos y mezclas que cause mayor porcentaje de mortalidad?</p> <p><b>Problema específico N°3</b> ¿Cuál es la dosis letal media (DL50) de los extractos de saponina, alcaloides y la mezcla, sobre larvas de la mosca de la fruta?</p>	<p><b>Objetivo general</b> Determinar la actividad insecticida de los extractos de saponinas de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> W.) y alcaloides de tarwi (<i>Lupinus mutabilis</i>) sobre la larva de la mosca de fruta (<i>Tephritidae</i> spp)</p> <p><b>Objetivo específico 1</b> Conocer el contenido de componentes activos tóxicos en el extracto hidroetanólico de grano integral y la cascarilla de quinua y extractos metanólicos de semillas de tarwi.</p> <p><b>Objetivo específico 2</b> Evaluar el efecto insecticida de los extractos de saponinas, alcaloides y mezcla de ambas en larvas del III estadio de la <i>Anastrepha</i> spp.</p> <p><b>Objetivo específico N°3</b> Determinar la dosis letal media (DL<sub>50</sub>) de los extractos de saponinas, alcaloides y mezclas mediante análisis probit</p>	<p><b>Justificación</b> Las saponinas y los alcaloides son compuestos naturales que han sido ampliamente estudiados por sus propiedades insecticidas. En particular, se ha investigado su efecto sobre las larvas de <i>Anastrepha</i> spp., una mosca de la fruta que puede causar graves daños en los cultivos. Los alcaloides, son compuestos nitrogenados que se encuentran en plantas como la belladona, estramonio y la quinina. Estos compuestos tienen propiedades tóxicas para los insectos y pueden ser utilizados como bioinsecticidas. Estas sustancias tienen propiedades detergente y emulsionante, lo que las hace efectivas para combatir plagas de insectos.</p>	<p><b>Hipótesis general</b> La mezcla de saponinas de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> W.) y alcaloides de tarwi (<i>Lupinus mutabilis</i>) aplicado sobre la larva de mosca de fruta <i>Anastrepha</i> spp. tiene efecto insecticida.</p> <p><b>Hipótesis específico N°1</b> Se obtienen extractos hidroetanólicos del grano integral, cascarilla de quinua y extractos metanólicos de semillas de tarwi con compuestos presentes de elevada actividad insecticida.</p> <p><b>Hipótesis específico N°2</b> El porcentaje de mortalidad larval es muy alta a causa de la mezcla de extractos.</p> <p><b>Hipótesis específico N°3</b> La dosis letal (DL50) de la mezcla de extractos de quinua y tarwi es muy baja, por ende, altamente efectiva.</p>	<p>Independiente</p> <p>1. Extractos</p> <p>2. Dosis</p> <p>Dependiente</p> <p>Mortalidad larval</p>	<p>1.1 Grano integral y Cascarilla de quinua</p> <p>1.2 Semilla de 4 accesiones de tarwi</p> <p>2.1 ppm</p> <p>1.1 % de mortalidad</p> <p>1.2 Dosis letal media (DL<sub>50</sub>)</p>	<p><b>Tipo de investigación:</b> Aplicada</p> <p><b>Nivel de Investigación:</b> Experimental</p> <p><b>Estructura del diseño</b> El diseño experimental es análisis multivariado de 2x1x6 con 18 tratamientos y 2 repeticiones</p> <p><b>Población:</b> Larvas de III estadio <i>Anastrepha</i> spp. (Diptera: <i>Tephritidae</i>)</p> <p><b>Muestra</b> Larvas 36 larvas</p> <p><b>Técnicas e instrumentos de recolección de datos</b> Experimentos en laboratorio</p> <p>Conocer componentes insecticidas de la materia prima y extraer para evaluar actividad</p> <p><b>Estrategia</b> Procesamiento de datos. Contrastación de datos con investigaciones relacionadas <b>Técnicas estadísticas de análisis y procesamiento de datos</b> * Análisis por ANOVA * SPSS IBM V21 para análisis probit</p> <p><b>Instrumentos</b> Fichas técnicas SENASA Cartillas de registros de datos</p>

**b. Instrumentos de recolección de información****Anexo 2. Constancia del trabajo con el insecto****CONSTANCIA**

Con respecto al trabajo de investigación titulado "Actividad insecticida de la mezcla de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) y alcaloides de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) sobre la mosca de la fruta *Anastrepha* spp, ejecutado por: Ing Lourdes Salcedo Sucasaca.

Se da constancia que los especímenes trabajados corresponde según las características morfológicas de adultos y larvas de mosca de la fruta al género *Anastrepha* (especie *Anastrepha fraterculus*) y al género *Ceratitis* (especie *Ceratitis capitata*) que prevalece en el Sector Soccoshuayco Distrito Tamburco, Provincia Abancay.

Se expide la presente constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que estime conveniente.

Abancay, 25 de julio de 2023



Ing. Josué Abel Juro Ferrel.  
Responsable de Laboratorio  
Mosca de la fruta Apurímac

### Anexo 3. Procedimiento de extracción de saponina de la quinua ecotipo Ayara (*Chenopodium quinoa* spp. *melanospermum* Hunz)



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO  
 FACULTAD DE CIENCIAS  
 LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRÍA – Pabellón de Control de Calidad  
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

#### RESULTADOS

##### Metodología desarrollada para la extracción de Saponinas

Solicitante : Dra Guadalupe Chaquilla Quilca / Lourdes Salcedo Sucasaca

##### Reactivos y Materiales

- Agua ultra pura Barnstead tipo I
- Etanol 96% (farmacia)
- Micropipetas Eppendorf 1, 5, 10 ml
- Micropipeta Jenncos 100 uL
- Tubos Falcon 15ml
- Algodon
- Jeringas de 10 mL
- Mortero de porcelana
- Viales headspace 20 mL, transparente Agilent P/N: 5183-4474
- Viales de vidrio de rosca 8 - 425, transparentes, 2 ml Agilent P/N 5183-4428
- Tapa rosca 8-425, septa de PTFE rojo/silicona Agilent P/N 5183-4442
- Balanza analítica Ohaus Explorer Pro EP214C
- Homogenizador VWR Fixed-Speed Mini Vortex Mixer 945302
- Centrifuga GreedMed
- Baño ultrasónico Branson 3510R-MTH
- IKA RV Digital-10

##### Procedimiento. (1)

- Pesar 2 g aproximadamente de granos molido, añadir 10ml de etanol al 80%, se homogenizo por 5 minutos en Vortex, la mezcla se llevo a 60°C en un baño de agua durante 1 hora, luego se centrifugo por 10 minutos a 4000rpm, el sobrenadante se filtró a través de algodón, se repitio la extracción con 10 ml y luego con 5ml.
- Se tomo 2ml del sobrenadante juntado y se concentró a presión reducida
- El residuo se disolvió en 1mL de metanol, luego se paso por un filtro de jeringa de 0.45um a un vial de 2mL y se analizo por HPLC (2)

##### Referencia consultada

1. Lim, J. G., Park, H., & Yoon, K. S. (2019). Analysis of saponin composition and comparison of the antioxidant activity of various parts of the quinoa plant (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Science & Nutrition*, 8(1), 694-702. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1358>.
2. Gómez-Caravaca, A. M., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., & Caboni, M. F. (2011). Simultaneous determination of phenolic compounds and saponins in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) by a liquid chromatography-diode array detection-electrospray ionization-time-of-flight mass spectrometry methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(20), 10815-10825. <https://doi.org/10.1021/jf202224j>



  
 Químico. Jorge Choquenaira Parí  
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
 Espectrometría – UNSAAC.  
 CQP - 914

## Anexo 4. Resultado de análisis de contenido de saponina de la quinua ecotipo Ayara (*Chenopodium quinoa* spp. *melanospermum* Hunz)



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
 LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRÍA – Pabellón de Control de Calidad  
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

### RESULTADOS

Cusco, 08 de Julio del 2020

Solicitante : Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac  
 Atención : Dra Guadalupe Chaquilla Quilca  
 Tipo de Análisis : Determinación de Saponinas  
 Método : Cromatografía Líquida  
 Tipo de Muestras : Granos de Quinua y Escarificado  
 Cantidad de Muestra : 2 con 100gr aproximadamente  
 Almacenamiento : 4°C.

Muestra	Repeticiones			Promedio Saponinas gr/100g de muestra
	1	2	3	
Ayara	1.2944	1.2922	1.2891	1.2919
Escarificado	2.7388	2.7634	2.7909	2.7644

#### Condiciones de Análisis por HPLC

Cromatógrafo : Agilent serie 1200  
 Columna : Zorbax Eclipse 4.6 x 250mm 5.0um  
 Flujo de Columna : 0.5 ml/min.  
 Temperatura : 50 °C  
 Solvente A : 50 % H3PO4 0.1%  
 Solvente B : 50 % Acetonitrilo  
 Detección DAD : 200 nm

Nota: Los resultados obtenidos de la muestra fue realizado por triplicado, la cuantificación se basó utilizando un estándar de Saponina, expresa el porcentaje de saponinas que están presentes en 100 g de muestra. La metodología desarrollada es de acuerdo con la literatura descrita.

1. Lim, J. G., Park, H., & Yoon, K. S. (2019). Analysis of saponin composition and comparison of the antioxidant activity of various parts of the quinoa plant (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Science & Nutrition*, 8(1), 694-702. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1358>.
2. Gómez-Caravaca, A. M., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., & Caboni, M. F. (2011). Simultaneous determination of phenolic compounds and saponins in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) by a liquid chromatography-diode array detection-electrospray ionization-time-of-flight mass spectrometry methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(20), 10815-10825. <https://doi.org/10.1021/jf202224j>

Quím. Jorge Choquenaira Parí  
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
 Espectrometría – UNSAAC.  
 CQP-914

## Anexo 5. Procedimiento de extracción de alcaloides de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet)



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO  
 FACULTAD DE CIENCIAS  
 LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad  
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERU Contacto 973868855

### Metodología desarrollada para la extracción de alcaloides

Solicitante : Dra Guadalupe Chaquilla Quilca / Lourdes Salcedo Sucasaca

#### Reactivos y Materiales

- HCl J.T. Baker
- NaOH J. Backer
- Cloroformo J. Backer
- Agua ultra pura Barnstead tipo I
- Micropipetas Eppendorf 1, 5, 10 ml
- Micropipetas Jenncos 100 uL
- Tubos Falcon 15ml
- pipeta Paster
- Mortero de porcelana
- Viales headspace 20 mL, transparente Agilent P/N: 5183-4474
- Viales de vidrio de rosca 8 - 425, transparentes, 2 ml Agilent P/N 5183-4428
- Tapa rosca 8-425, septa de PTFE rojo/silicona Agilent P/N 5183-4442
- Balanza analítica Ohaus Explorer Pro EP214C
- Homogenizador VWR Fixed-Speed Mini Vortex Mixer 945302
- IKA RV Digital-10

#### Procedimiento.

- Pesar 0.5 g aproximadamente de muestra, añadir 10ml de HCl 0,1 N, homogenizar el Vortex por 1 min y filtrar (1), (2).
- Colocar los filtrados y alcalinizaron con 1mL de NaOH 10 M.
- Añadir Cloroformo (3 x 2mL) para extraer los alcaloides (1) (2).
- Los extractos crudos se concentraron a presión reducida a 40 °C hasta sequedad (1), (2) (3).
- El residuo se disolvió en 1mL de metanol (3), se paso a un vial de 2mL para el análisis por GC-MS (1), (2) (3)

#### Referencia consultada

- 1) Boschin, G., Annicchiarico, P., Resta, D., D'Agostina, A., & Arnoldi, A. (2008). Quinolizidine Alkaloids in Seeds of Lupin Genotypes of Different Origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(10), 3657-3663. <https://doi.org/10.1021/jf7037218>
- 2) Romeo, F. V., Fabroni, S., Ballistreri, G., Muccilli, S., Spina, A., & Rapisarda, P. (2018). Characterization and Antimicrobial Activity of Alkaloid Extracts from Seeds of Different Genotypes of Lupinus spp. *Sustainability*, 10(3), 788. <https://doi.org/10.3390/su10030788>
- 3) Zamora-Natera, F., García-López, P., Ruiz-López, M., & Salcedo-Pérez, E. (2008). Composición de alcaloides en semillas de *Lupinus mexicanus* (Fabaceae) y evaluación antifúngica y alelopática del extracto alcaloideo. *Agrociencia*, 42(2), 185-192.



*[Firma manuscrita]*  
 Químico Jorge Choquenaira Pari  
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
 Espectrometría – UNSAAC.  
 CQP - 914

## Anexo 6. Resultado de contenido de alcaloides en 4 accesiones de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet)



### UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO FACULTAD DE CIENCIAS

LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad  
AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERU Contacto 973868855

### RESULTADOS

Cusco, 08 de Julio del 20;

Solicitante : Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac  
Atencion : Dra Guadalupe Chaquilla Quilca  
Tipo de Análisis : Determinación de alcaloides en granos de tarwi  
Metodo : Cromatografía de Gases GC-MS.  
Tipo de Muestras : Tarwi  
Cantidad de Muestra : 4 bolsas con 100 gramos aproximadamente de cada uno  
Almacenamiento : 4 °C.

Muestra	Alcaloide	Repeticiones			Promedio
		1	2	3	Alcaloides mg/100g
Andenes	Esparteina	86.15	81.07	83.74	83.65
	Lupanina	1145.36	1076.88	1120.11	1114.12
	Nuttalline	170.22	159.18	165.53	164.98
	13-OH-Lupanine	113.03	105.91	110.55	109.83

Muestra	Alcaloide	Repeticiones			Promedio
		1	2	3	Alcaloides mg/100g
130944	Esparteina	96.86	97.44	95.28	96.52
	Lupanina	690.35	694.31	679.21	687.96
	Nuttalline	23.47	24.06	23.29	23.61
	13-OH-Lupanine	118.31	120.85	118.28	119.15

Muestra	Alcaloide	Repeticiones			Promedio
		1	2	3	Alcaloides mg/100g
81576	Esparteina	175.18	178.93	177.64	177.25
	Lupanina	1316.84	1340.66	1327.11	1328.20
	Nuttalline	85.28	87.39	86.26	86.31
	13-OH-Lupanine	119.48	122.03	121.40	120.97

Muestra	Alcaloide	Repeticiones			Promedio
		1	2	3	Alcaloides mg/100g
CA	Esparteina	79.97	79.13	81.41	80.17
	Lupanina	960.43	952.43	978.17	963.67
	Nuttalline	207.45	204.72	210.60	207.59
	13-OH-Lupanine	194.48	192.27	199.26	195.34

Quim. Jorge Choquenaira Pari  
Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
Espectrometría – UNSAAC.  
CQP- 914

Columna: Agilent HP-5MS 5% Fenil Metil Siloxano 30m x 0.25id x 0.5um film

Temperatura del Horno inicial 100 °C por 2 minutos, 10 °C/minuto hasta 300 °C por 5 minutos  
Tiempo de Análisis: 19.0 min

Inyector Automático Agilent : 7683B  
Puerto de Inyección  
Modo : Split (con división)  
Relación de Split : 1:1  
Temp. Inicial : 250 °C  
Tipo de Gas : Helio  
Volumen de Inyección : 0.1 uL  
Muestra inyecta : puro

Nota: El resultado obtenido, expresa el contenido de los alcaloides que están presentes en las muestras, para la cuantificación se elaboro una curva de calibración en función a la concentración del estándar Esparteina y las áreas. La identificación de los otros alcaloides se realizo por comparación de los espectros de masas de la muestra con la biblioteca de espectros de National Institute of Standards and Technology versión 11 (NIST v11). La metodología desarrollada es de acuerdo con la literatura descrita.

- Romeo, F. V., Fabroni, S., Ballistreri, G., Muccilli, S., Spina, A., & Rapisarda, P. (2018). Characterization and Antimicrobial Activity of Alkaloid Extracts from Seeds of Different Genotypes of *Lupinus* spp. *Sustainability*, 10(3), 788. <https://doi.org/10.3390/su10030788>
- Zamora-Natera, F., García-López, P., Ruiz-López, M., & Salcedo-Pérez, E. (2008). Composición de alcaloides en semillas de *Lupinus mexicanus* (Fabaceae) y evaluación antifúngica y alelopática del extracto alcaloideo. *Agrociencia*, 42(2), 185-192.
- Boschini, G., Annicchiarico, P., Resta, D., D'Agostina, A., & Arnoldi, A. (2008). Quinolizidine Alkaloids in Seeds of Lupin Genotypes of Different Origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(10), 3657-3663. <https://doi.org/10.1021/jf7037218>



Quim. Jorge Choquenaira Pari  
Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
Espectrometría – UNSAAC.  
CQP - 914

### Anexo 7. Datos para la determinación del área de la curva cromatográfica HPLC para quinua

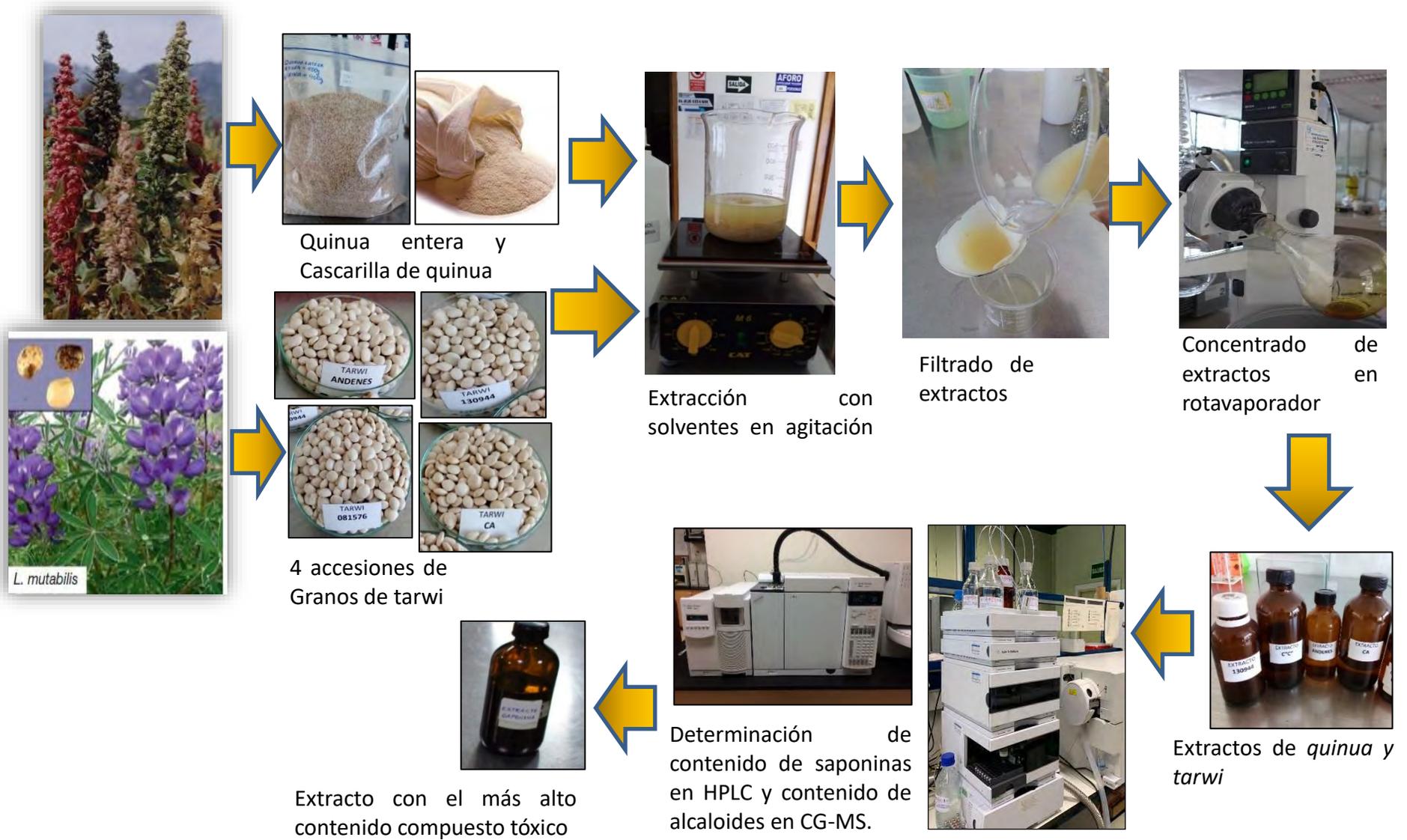
	Saponinas mg/ml	otro diferente	Saponinas mg/ml	Fact Vol lny	Saponinas mg/ml	Saponinas gr	Vol Aforo ml	Muestra gr	Muestra 100 gr	gr/100 g
	2.82368	1.32E-01	2.69176	10	26.9176	0.0269176	1	2.0796	100	1.2944
<b>Ayara</b>	2.81157	1.24E-01	2.687323	10	26.87323	0.02687323	1	2.0796	100	1.2922
	2.82888	1.48E-01	2.68E+00	10	26.80858	0.02680858	1	2.0796	100	1.2891
<b>Cascarilla</b>	6.42269	9.22E-01	5.500824	10	55.00824	0.05500824	1	2.0085	100	2.7388
	6.45217	9.02E-01	5.550344	10	55.50344	0.05550344	1	2.0085	100	2.7634
	6.40144	7.96E-01	5.605485	10	56.05485	0.05605485	1	2.0085	100	2.7909

### Anexo 8. Datos para la determinación del área de la curva cromatográfica GC-MS para tarwi INIA 081576

Header=	PK	RT	Area Pct	Library/ID	Ref	CAS	Qual	Area		
1=	1	5.8166	9.9896	Dodecahydro-7,14-methanodipyrido[1,2-a:3',4'-c]pyridine	89163	006917-37-9	99	1141990		
2=	2	6.8145	0.0722	Ethyl isopropyl dimethylphosphoramidate	57372	099520-56-6	35	8255		
3=	3	8.7808	1.9203	4-Pentenylamine, N,N-dimethyl-	7013	001001-91-8	30	219520		
4=	4	9.1403	0.097	Acetophenone, 4'-(trimethylsiloxy)-	67414	018803-29-7	22	11094		
5=	5	9.4109	0.2425	Lupanine	100710	000550-90-3	99	27720		
6=	6	9.7069	0.2269	1H-Isoindole-1,3(2H)-dione, 2-phenyl-	80242	000520-03-6	22	25939		
7=	7	9.9691	75.6812	Lupanine	100708	000550-90-3	99	8651732		
8=	8	10.7937	4.817	7,14-Methano-4H,6H-dipyrido[1,2-a:1',2'-c]pyridine	113988	023360-87-4	94	550676		
9=	9	12.2779	6.7847	13-OH-Lupanine	113970	055869-89-1	99	775612		
10=	10	14.8447	0.1686	7,14-Methano-4H,6H-dipyrido[1,2-a:1',2'-c]pyridine	99117	035611-60-0	35	19278		
[INT TIC: TW-081576-3-1.D\data.ms]										
Time=	Tue Jul 07 14:23:07 2020									
Header=	Peak	R.T.	First	Max	Last	PK TY	Height	Area	Pct Max	Pct Total
1=	1	5.817	858		882	959 rBV4	156817	1141990	13.2	9.99
2=	2	6.815	1105		1118	1145 rVB4	1716	8255	0.1	0.072
3=	3	8.781	1566		1583	1627 rBV2	49617	219520	2.54	1.92
4=	4	9.14	1656		1668	1688 rBV4	2787	11094	0.13	0.097
5=	5	9.411	1720		1732	1757 rBV7	7062	27720	0.32	0.242
6=	6	9.707	1787		1802	1830 rBV5	5939	25939	0.3	0.227
7=	7	9.969	1833		1864	1920 rBV2	2285579	8651732	100	75.681
8=	8	10.794	2043		2059	2111 rBV3	156161	550676	6.36	4.817
9=	9	12.278	2392		2410	2471 rBV3	169641	775612	8.96	6.785
10=	10	14.845	3010		3017	3034 rVB4	7430	19278	0.22	0.169

## Anexo 9

Proceso de obtención de los extractos y cuantificación de componentes activos tóxicos



**Anexo 10**

*Proceso de evaluación del efecto insecticida de los extractos puros y mezclados aplicados en larvas de III estadio de Anastrepha spp.*



Extractos concentrados de quinua y tarwi



Extractos concentrados con dosis determinadas



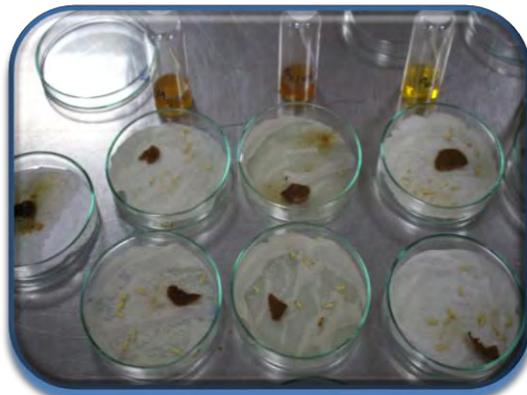
Dilución de concentrados



Disección y extracción de larvas del fruto hospedero



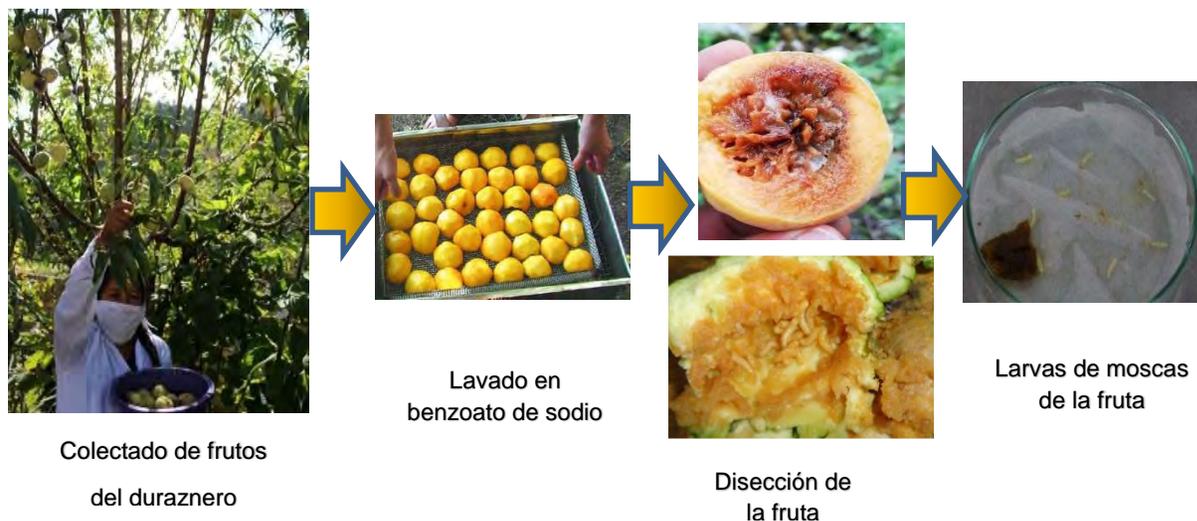
Larvas *Tephritidae* del III estadio de mosca de la fruta



Aplicación de los extractos sobre larvas *Tephritidae*

## Anexo 11

*Proceso de colecta de frutos infestados de larvas de Anastrepha spp. (Diptera: Tephritidae).*



**Anexo 12.** Para calcular el porcentaje de Lupanina, Esparteína, 13OH Lupanine, Nuttaline

considerando que: 1712.73 mg es el total acumulado de alcaloides equivale al 100%

1712.73 mg ----- 100%

1328.20 mg ----- ¿? % ---→ 77.58%

**Anexo 13.** Se utilizó la Ec. 2

$$C_1 V_1 = C_2 V_2 \quad V_2 = \frac{C_1 V_1}{C_2} \quad V_2 = \frac{50 \text{ mL} \cdot 2764 \text{ mL}}{2200 \text{ mL}} \quad V_2 = 62 \text{ mL}$$

**Anexo 14.** Se utilizó la Ec. 1

$$\% R = \frac{w_i - w_f}{w_i} * 100 \quad \% R = \frac{148 \text{ mL} - 93.4 \text{ mL}}{148 \text{ mL}} * 100 \quad \% R = 36.6$$

**Anexo 15.** Se utilizó la Ec. 3

$$\% \text{ mortalidad larvaria} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de larvas muertas}}{\text{N}^\circ \text{ de larvas expuestas}} * 100; \text{ reemplazando} = \frac{0.5}{12} * 100 = 4$$

**Anexo 16. Análisis probit para saponinas de la quinua ecotipo Ayara (*Chenopodium quinoa* spp. *melanospermum* Hunz)**

**Estimaciones de los parámetros**

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	
PROBIT <sup>a</sup>	VAR DOSIS	6,742	1,697	3,972	,000	3,415
	Intersección	-21,934	5,646	-3,885	,000	-27,581

a. Modelo PROBIT:  $\text{PROBIT}(p) = \text{Intersección} + BX$  (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo en base 10,000.)

el modelo ajustado para esta aplicación es:

$$\Phi^{-1}(P) = -21.934 + 6.742 \cdot \log \text{DOSIS}$$

**Contrastes de chi-cuadrado**

		Chi-cuadrado	gl <sup>b</sup>	Sig.
PROBIT	Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	1,162	3	,762 <sup>a</sup>

a. Como el nivel de significación es mayor que 0,050, no se utiliza un factor de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza.

b. Los estadísticos basados en casos individuales difieren de los estadísticos basados en casos agregados.

**Se presenta la prueba de bondad de ajuste:**

El contraste de la bondad de ajuste de Pearson (1.162) mediante la hipótesis:

**H<sub>0</sub>:** el modelo está bien ajustado, (P>0.05)

**H<sub>i</sub>:** el ajuste del modelo no es bueno (P<0.05)

P = 0.762 > 0.05 permite concluir que no hay razones para dudar del modelo, es decir, se presenta un buen ajuste del modelo Probit.

**Residuos y frecuencias de casillas**

	N°	DOSIS (ppm)	Número de sujetos	Respuestas observadas	Respuestas esperadas	Residuos
PROBIT	1	2,663	12	0	,000	,000
	2	2,954	12	0	,262	-,262
	3	3,114	11	2	1,906	,094
	4	3,255	11	6	5,550	,450
	5	3,342	10	8	7,254	,746
	6	3,442	12	10	10,769	-,769

**Límites de confianza**

Probabilidad	Límites de confianza al 95% para VAR <b>DOSIS SAPONINA</b>			Límites de confianza al 95% para log(VAR DOSIS) <sup>a</sup>	
	Estimación	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Límite inferior
,010	810,039	307,496	1155,809	2,909	2,488
,020	889,081	368,028	1235,214	2,949	2,566
,030	943,183	412,293	1288,964	2,975	2,615
,350	1571,889	1064,465	1926,435	3,196	3,027
,400	1644,364	1150,108	2008,629	3,216	3,061
PROBIT ,450	1717,662	1237,063	2095,644	3,235	3,092
,500	1792,987	1326,061	2189,894	3,254	3,123
,550	1871,616	1417,777	2294,330	3,272	3,152
,600	1955,045	1512,913	2412,796	3,291	3,180
,980	3615,874	2824,735	6567,072	3,558	3,451
,990	3968,701	3032,266	7824,920	3,599	3,482

#### Anexo 17. Análisis probit para Alcaloides de la accesión de tarwi INIA 081576

Estimaciones de los parámetros						
	Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%
						Límite inferior
PROBIT <sup>a</sup>	DOSIS	4,306	1,584	2,718	,007	1,201
	Intersección	-13,033	4,928	-2,644	,008	-17,961

a. Modelo PROBIT: PROBIT(p) = Intersección + BX (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo en base 10,000.)

el modelo ajustado para esta aplicación es:

$$\Phi^{-1}(P) = -13.033 + 4036 * \log \text{DOSIS}$$

#### Covarianzas y correlaciones de estimaciones de los parámetros

	VAR00001	Respuesta natural
PROBIT VAR00001	2,509	,541
Respuesta natural	,073	,007

Covarianzas (abajo) y correlaciones (arriba).

#### Contrastes de chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl <sup>b</sup>	Sig.
PROBIT Contraste de la bondad de ajuste de Pearson	,531	3	,912 <sup>a</sup>

a. Como el nivel de significación es mayor que 0,050, no se utiliza un factor de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza.

b. Los estadísticos basados en casos individuales difieren de los estadísticos basados en casos agregados.

Se presenta la prueba de bondad de ajuste:

El contraste de la bondad de ajuste de Pearson (0.531) mediante la hipótesis:

Ho: el modelo está bien ajustado, ( $P > 0.05$ )

Hi: el ajuste del modelo no es bueno ( $P < 0.05$ )

$P = 0.912 > 0.05$  permite concluir que no hay razones para dudar del modelo, es decir se presenta un buen ajuste del modelo Probit.

#### Límites de confianza

Probabilidad	Límites de confianza al 95% para VAR DOSIS ALCALOIDES			Límites de confianza al 95% para log(VAR DOSIS) <sup>a</sup>	
	Estimación	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Límite inferior
,010	306,520	7,376	575,222	2,486	,868
,020	354,624	12,396	628,188	2,550	1,093
,030	388,988	17,226	664,572	2,590	1,236
,040	417,016	22,057	693,512	2,620	1,344
,050	441,298	26,965	718,126	2,645	1,431
,300	803,432	220,288	1066,738	2,905	2,343
,350	865,465	283,495	1129,968	2,937	2,453
,400	928,752	358,505	1198,953	2,968	2,554
,450	994,383	447,025	1277,918	2,998	2,650
,500	1063,501	550,252	1373,573	3,027	2,741
,550	1137,422	667,837	1497,346	3,056	2,825
,600	1217,800	796,339	1668,908	3,086	2,901
,650	1306,850	928,610	1920,360	3,116	2,968
,700	1407,752	1056,923	2300,034	3,149	3,024
,750	1525,399	1178,561	2881,635	3,183	3,071
,800	1668,010	1297,708	3797,658	3,222	3,113
,850	1851,153	1424,162	5340,925	3,267	3,154
,950	2562,972	1803,069	16361,301	3,409	3,256
,960	2712,206	1871,531	19953,875	3,433	3,272
,970	2907,631	1957,751	25488,690	3,464	3,292
,980	3189,385	2076,405	35328,835	3,504	3,317
,990	3689,914	2274,240	59203,600	3,567	3,357

### Anexo 18. Análisis probit MEZCLA saponinas y alcaloides

#### Residuos y frecuencias de casillas

	Número	VAR00001	Número de sujetos	Respuestas observadas	Respuestas esperadas	Residuos
PROBIT	1	2,845	10	2	,937	1,063
	2	3,146	10	1	3,407	-2,407
	3	3,322	10	5	5,479	-,479
	4	3,447	10	9	6,905	2,095
	5	3,544	10	7	7,851	-,851
	6	3,651	10	9	8,669	,331

#### Límites de confianza

Probabilidad	Límites de confianza al 95% para VAR Mezcla saponinas más alcaloides			Límites de confianza al 95% para log(VAR Mezcla) <sup>a</sup>	
	Estimación	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Límite inferior
,010	324,300	53,670	624,029	2,511	1,730
,020	399,330	79,833	721,519	2,601	1,902
,030	455,699	102,643	791,616	2,659	2,011
,040	503,289	123,954	849,142	2,702	2,093
,050	545,642	144,468	899,281	2,737	2,160
,200	1007,470	454,419	1412,908	3,003	2,657
,250	1144,583	572,746	1563,118	3,059	2,758
,300	1283,546	702,126	1718,695	3,108	2,846
,350	1427,335	843,776	1885,976	3,155	2,926
,400	1578,642	998,436	2072,304	3,198	2,999
,450	1740,283	1166,198	2287,218	3,241	3,067
,500	1915,512	1346,389	2543,704	3,282	3,129
,550	2108,385	1537,781	2859,565	3,324	3,187
,600	2324,268	1739,390	3259,144	3,366	3,240
,650	2570,656	1951,804	3776,370	3,410	3,290
,700	2858,632	2178,596	4461,527	3,456	3,338
,940	6277,617	4137,381	18241,538	3,798	3,617
,950	6724,535	4350,142	20754,035	3,828	3,639
,960	7290,422	4611,927	24163,002	3,863	3,664
,970	8051,780	4952,515	29147,804	3,906	3,695
,980	9188,359	5440,066	37431,860	3,963	3,736
,990	11314,164	6298,680	55602,067	4,054	3,799