



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

Obtención de alcaloides de la planta de *Lupinus mutabilis* mediante la extracción por arrastre de vapor y soxhlet, para controlar *Brevicoryne brassicae* en cultivos hortícolas

YANICK SEBASTIÁN SUÁREZ GONZÁLEZ

Trabajo de Titulación modalidad Proyectos de Investigación y Desarrollo, presentado ante el Instituto de Posgrado y Educación Continua de la ESPOCH, como requisito parcial para la obtención del grado de:

MAGÍSTER EN INGENIERÍA QUÍMICA APLICADA

RIOBAMBA – ECUADOR

Junio - 2023

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Yanick Sebastián Suárez González, declaro que soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en el **Trabajo de Titulación modalidad Proyectos de Investigación y Desarrollo**, y que el patrimonio intelectual generado por la misma pertenece exclusivamente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Yanick Sebastián Suárez González

N°. CI. 0603387085

@ 2023, Yanick Sebastián Suárez González

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho del Autor.



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

EL TRIBUNAL DE TRABAJO DE TITULACIÓN CERTIFICA QUE:

El trabajo de Titulación modalidad Proyectos de Investigación y Desarrollo, denominado **“OBTENCIÓN DE ALCALOIDES DE LA PLANTA DE *Lupinus mutabilis* MEDIANTE LA EXTRACCIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR Y SOXHLET, PARA CONTROLAR *Brevicoryne brassicae* EN CULTIVOS HORTICOLAS”**, de responsabilidad del Ing. Yanick Sebastián Suárez González, ha sido minuciosamente revisado por los miembros del Tribunal del trabajo de titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

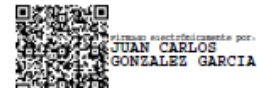
Dra. Lourdes Cumandá Carrera Beltrán, Mgtr.

PRESIDENTE



Ing. Juan Carlos Gonzalez García, PhD.

DIRECTOR



Ing. Danielita Fernanda Borja Mayorga, Mgtr.

MIEMBRO



Ing. Carlos Francisco Carpio Coba, Mgtr.

MIEMBRO



Riobamba, junio 2023

DEDICATORIA

Este trabajo de titulación está dedicado a mi hijo, a mi esposa, a mis padres, a mi abuelita; a mi familia que con su amor, apoyo y comprensión me guiaron en cada paso de mi formación, y me motivan a ser mejor cada día, apoyando mis sueños y siendo el pilar fundamental en mi vida.

Yanick Sebastián Suárez González

AGRADECIMIENTO

Primero, le agradezco a Dios y Virgen del Cisne, por darme inteligencia para poder adquirir nuevos conocimientos, paciencia para no desistir y sabiduría para ser constante.

A mi hijo, a mi madre, a mi abuelita por ser quienes me guiaron a ser todo lo que soy, apoyarme, impulsarme y motivarme a seguir con mi crecimiento personal y espiritual.

A los miembros del trabajo de titulación que me guiaron con su experiencia para poder culminar el proyecto, y obtener un resultado favorable como base para futuras investigaciones relacionados al tema.

A mi familia por estar siempre alentándome.

Yanick Sebastián Suárez González

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN..... xv

ABSTRACT..... xvi

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN..... 1

1.1. Planteamiento del problema 1

1.1.1. Situación problemática..... 1

1.2. Formulación del problema 2

1.3. Preguntas directrices o específicas de la investigación 2

1.4. Justificación de la investigación..... 3

1.5. Objetivos de la investigación 4

1.5.1. General 4

1.5.2. Específicos 4

1.6. Hipótesis..... 5

1.6.1. Hipótesis general..... 5

1.6.2. Hipótesis específicas..... 5

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL 6

2.1. Antecedentes del problema 6

2.2. Bases teóricas 7

2.2.1. Extracción de aceites esenciales 7

2.2.2. Métodos convencionales de extracción..... 7

2.2.2.1. Prensado en frío..... 7

2.2.2.2. Extracción con solvente 8

2.2.2.3. Destilación por arrastre de vapor..... 8

2.2.2.4. Extracción con gases supercríticos..... 8

2.2.3. Aceites esenciales 9

2.2.3.1. Características organolépticas y físicas de los aceites esenciales 10

2.2.3.2. Química de los aceites esenciales 11

2.2.4. El chocho	13
2.2.4.1. <i>Composición de alcaloides presentes en el chocho</i>	14
2.2.4.2. <i>Obtención de los extractos alcaloidales crudos</i>	15
2.2.5. Pesticidas botánicos	16
2.2.5.1. <i>Plaguicidas de origen vegetal: metabolitos secundarios antimicrobianos</i>	17
2.2.5.2. <i>Mecanismos de inhibición de los pesticidas botánicos</i>	17
2.2.6. Pulgón	18

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO	19
3.1. Estudio técnico de la investigación	19
3.1.1. <i>Población de estudio</i>	19
3.1.2. <i>Localización</i>	19
3.1.3. <i>Ingeniería de la investigación</i>	20
3.1.4. <i>Tipo y diseño de investigación</i>	20
3.1.5. <i>Método de investigación</i>	20
3.1.6. <i>Enfoque de la investigación</i>	20
3.1.7. <i>Diseño experimental</i>	21
3.1.8. <i>Alcance de la investigación</i>	21
3.1.9. <i>Unidad de análisis</i>	22
3.1.10. <i>Selección y tamaño de la muestra</i>	22
3.1.11. <i>Técnica de recolección de datos</i>	22
3.1.12. <i>Instrumento de recolección de datos primarios y secundarios</i>	22
3.1.13. <i>Instrumentos para procesar datos recopilados</i>	23
3.1.14. <i>Identificación de variables</i>	23
3.1.14.1. <i>Variable independiente</i>	23
3.1.14.2. <i>Variable dependiente</i>	24
3.1.15. <i>Operacionalización de las variables</i>	25
3.1.16. <i>Matriz de consistencia</i>	26
3.2. Parte experimental.....	28
3.2.1. <i>Obtención de los extractos de la planta de chocho</i>	28
3.2.1.1. <i>Preparación de la muestra</i>	28

3.2.1.3. <i>Elaboración del extracto etanólico</i>	28
3.2.2. <i>Extracción de aceites esenciales por el método Soxhlet y arrastre de vapor</i>	29
3.2.3. <i>Determinación de la composición química del aceite esencial</i>	30
3.2.4. <i>Evaluación del efecto del alcaloide sobre el pulgón</i>	30

CAPÍTULO IV

4. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS ...	32
4.1. Aceites esenciales obtenidos por el método Soxhlet y arrastre de vapor	32
4.1.1. <i>Rendimiento de la extracción</i>	32
4.1.2. <i>Determinación de la composición química de los aceites esenciales</i>	33
4.2. Evaluación del efecto del alcaloide sobre el pulgón	34
4.2.1. <i>Eficiencia al segundo día de la aplicación del aceite esencial de chocho sobre el pulgón</i>	35
4.2.2. <i>Eficiencia al tercer día de la aplicación del aceite esencial de chocho sobre el pulgón</i>	35
4.2.3. <i>Eficiencia al cuarto día de la aplicación del aceite esencial de chocho sobre el pulgón</i>	36
4.2.4. <i>Eficiencia al quinto día de la aplicación de alcaloides de chocho sobre el pulgón</i>	37
4.2.5. <i>Eficiencia al sexto día de la aplicación de alcaloides de chocho sobre el pulgón</i>	38
4.2.6. <i>Eficiencia al séptimo y octavo día de la aplicación de alcaloides de chocho sobre el pulgón</i>	38
4.3. Interpretación del diseño experimental	40
4.3.1. <i>Hipótesis del modelo estadístico</i>	40
4.3.2. <i>Análisis de varianza ANOVA para el diseño DBCA</i>	41
4.3.3. <i>Prueba de comparación de rangos múltiples - Tukey HSD</i>	41
4.3.4. <i>Análisis de supuestos del modelo estadístico</i>	44
3.4.3.1. <i>Supuesto de normalidad – Prueba de Kolmogórov-Smirnov</i>	44
4.4.3.2. <i>Supuesto de homogeneidad – Prueba de Bartlett</i>	46
4.4.3.3. <i>Supuesto de independencia</i>	47
CONCLUSIONES	48
RECOMENDACIONES	49

GLOSARIO
BIBLIOGRAFÍA
ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2: Ventajas y desventajas del uso de aceites esenciales como pesticidas botánicos.....	10
Tabla 2-2: Análisis bromatológico del chocho (<i>Lupinus mutabilis</i> Sweet) amargo y desamargado.	14
Tabla 3-2: Efectividad de varios solventes en la extracción de alcaloides del chocho	16
Tabla 1-3: Descripción de tratamientos en la investigación	21
Tabla 2-3: Descripción de las variables independientes del trabajo experimental.....	23
Tabla 3-3: Descripción de las variables dependientes del trabajo experimental.....	24
Tabla 4-3: Operacionalización de las variables	25
Tabla 5-3: Matriz de consistencia	26
Tabla 1-4: Rendimiento del aceite esencial de <i>Lupinus mutabilis</i> por arrastre de vapor y el método Soxhlet	32
Tabla 2-4: Fracciones principales de alcaloides presentes en los extractos de chocho.....	33
Tabla 3-4: Descripción de las variables en estudio del diseño experimental.....	40
Tabla 4-4: Análisis de Varianza para # pulgones/hoja (muertos) - Suma de Cuadrados Tipo III	41
Tabla 5-4: Pruebas de Tukey HSD para # pulgones/hoja (muertos) por Tratamiento	41
Tabla 6-4: Pruebas de Tukey HSD para # pulgones/hoja (muertos) por día.....	42
Tabla 7-4: Prueba de Kolmogorov-Smirnov.....	44
Tabla 8-4: Resumen de la distribución de Johnson para los datos experimentales.....	45
Tabla 9-4: Prueba de Kolmogorov-Smirnov para la distribución normal y Johnson sobre # pulgón/hoja (muertos)	45
Tabla 10-4: Prueba de Bartlett para tratamientos.....	46
Tabla 11-4: Prueba Durbin-Watson para tratamientos.....	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-2: Unidad de Isopreno	12
Figura 2-2: Anillo de benceno	13
Figura 3-2: Chocho (<i>Lupinus mutabilis</i>)	13
Figura 4-2: Estructura química de la lupanina	15
Figura 5-3: Pulgón (<i>Brevicoryne brassicae</i>)	18
Figura 1-3: Localización de la facultad de recursos naturales de la ESPOCH	19
Figura 2-3: Diagrama de flujo para la preparación del extracto etanólico de chocho	28
Figura 3-4: Diagrama de flujo para la extracción de aceite esencial de chocho por arrasque de vapor	29

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-4: Resultados para el día 2 de alcaloides del chocho para controlar <i>Brevicoryne brassicae</i> en hojas de col.....	35
Gráfico 2-4: Resultados para el día 3 de alcaloides del chocho para controlar <i>Brevicoryne brassicae</i> en hojas de col.....	36
Gráfico 3-4: Resultados para el día 4 de alcaloides del chocho para controlar <i>Brevicoryne brassicae</i> en hojas de col.....	36
Gráfico 4-4: Resultados para el día 5 de alcaloides del chocho para controlar <i>Brevicoryne brassicae</i> en hojas de col.....	37
Gráfico 5-4: Resultados para el día 6 de alcaloides del chocho para controlar <i>Brevicoryne brassicae</i> en hojas de col.....	38
Gráfico 6-4: Resultados para el día 7 de alcaloides del chocho para controlar <i>Brevicoryne brassicae</i> en hojas de col.....	39
Gráfico 7-4: Resultados para el día 7 de alcaloides del chocho para controlar <i>Brevicoryne brassicae</i> en hojas de col.....	39
Gráfico 8-4: Prueba de medias de Tukey para tratamientos	42
Gráfico 9-4: Prueba de medias de Tukey para bloque (días)	43
Gráfico 10-4: Comportamiento de la población de pulgones durante 8 días de análisis para cada tratamiento	44
Gráfico 11-4: Distribución Normal y Johnson para # pulgones muertos/hoja.....	46
Gráfico 12-4: Prueba de homogeneidad para los tratamientos	46
Gráfico 13-4: Residuos vs predichos para los tratamientos	47

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: PLANTA DE COL CON PULGONES

ANEXO B: DIA 1 DE EXPERIMENTACIÓN

ANEXO C: MUESTRAS DE LOS TRATAMIENTOS EN ESTUDIO

ANEXO D: RESULTADOS DE LA TOMA DE MUESTRAS PARA CADA TRATAMIENTO

ANEXO E: PRINCIPALES OBSERVACIONES OBTENIDAS LUEGO DE APLICAR LOS
ALCALOIDES DEL CHOCHO

RESUMEN

El uso indiscriminado de plaguicidas químicos para controlar plagas en los cultivos de pulgón de las *brassicaceas* (*Brevicoryne brassicae*), representan gran impacto tanto para la salud de los productores, consumidores y el medio ambiente, debido a la alta toxicidad que representan, y dado que esta plaga es una de las más dañinas para las plantas, es necesario buscar alternativas para eliminarla. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo experimental fue obtener alcaloides de la planta del chocho (*Lupinus Mutabilis*) para controlar *Brevicoryne brassicae* en cultivos hortícolas. Los alcaloides fueron extraídos por dos métodos: arrastre de vapor y Soxhlet, para luego caracterizarlos mediante cromatografía de gases acoplado al espectrómetro de masas. Se estudió el efecto de los alcaloides sobre la plaga en hojas de col con la ayuda de un diseño de bloques completamente al azar, cuyos factores en estudio fueron; tipo de tratamientos (variando las concentraciones del extracto a 5, 10 y 15 % en los dos métodos), y tiempo (8 días). La variable de respuesta fue número de individuos muertos/hoja. De manera que el mejor método para obtener alcaloides fue por Soxhlet con un rendimiento del 5,42 %, y % de alcaloides; los principales fueron: lupanina, esparteína, 13 α -hidroxylupanina, que producen el sabor amargo al *Lupinus Mutabilis* y actúan como un mecanismo de defensa ante ataques externos. Por consiguiente, efectivamente si fue posible eliminar *Brevicoryne brassicae* de las hojas de col, y los mejores tratamientos fueron T3, T4, T5 con el aceite esencial a concentraciones de 5 % y 15 % obteniendo 5 y 10,8 pulgones muertos/hoja en 4 días. Si estos resultados son reproducibles en un futuro, se recomienda probar los efectos del bioplaguicida en otras plagas y mezclar dos o tres plantas para aumentar su eficiencia.

Palabras clave:< BIOPLAGUICIDAS>, >PULGÓN>, <ALCALOIDES>, <PLANTA DE CHOCHO>



ALBERTO
CAMINO VARGAS



20-06-2023

0056-DBRA-UPT-IPEC-2023

ABSTRACT

The random use of chemical pesticides to control the aphid plague *Brassicaceae* (*Brevicoryne brassicae*) in crops; represents a high impact on the health of producers, consumers, and the environment due to its high toxicity. Because this plague is one of the most harmful to plants, it is necessary to eliminate it. Therefore, the aim of this research was to obtain the alkaloid of lupin (*Lupinus Mutabilis*) to control *Brevicoryne brassicae* in horticultural crops. These alkaloids were extracted by two methods: Soxhlet and dragging steam. Then they were featured through the chromatography of gases tight to the mass spectrum. The effect of the alkaloids was studied over the plague in cabbage leaves by implementing block designs randomly. The factors in this study were; type of treatments (changing the concentrations of the extract to 5,10, and 15% in both methods); and time (8 days). The answer to this variable was the number of aphids dead per leave. So that the best way to obtain alkaloids was by Soxhlet with an efficiency of 5,42 % of alkaloids. The main ones were: *lupanina*, *esparteína*, and *13 α -hidroxylupanina*, which produce a bitter flavor to *Lupinus Mutabilis*, and act as a defense mechanism against external attacks. As a result, it was effectively possible to eliminate *Brevicoryne brassicae* from the cabbage leaves, and the best treatments were T3, T4, and T5 with the concentration of 5% and 15% of essential oil; obtaining 5 and 10,8 dead aphids per leave in four days. If these results are replicable in the future, it is recommended to try the effects of the bio-pesticide in other plagues and mix two or three plants to increase its efficiency.

Key words: :< BIO-PESTICIDE>, >APHID>, <ALKALOIDS>, <LUPIN >

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Planteamiento del problema

1.1.1. Situación problemática

En las últimas décadas, con la intensificación de la agricultura el uso de plaguicidas químicos de síntesis se ha vuelto cada vez el medio más común para controlar las plagas de insectos, enfermedades, malezas y otros organismos que atacan a las plantas cultivadas. Sin embargo, estos productos, han traído una serie de problemas, peligros y riesgos por su uso indiscriminado. Los peligros que se presentan por los plaguicidas comunes son sus efectos nocivos ante los organismos de su entorno incluyendo el ser humano. Los peligros para el ser humano son intoxicaciones agudas y/o crónicas, para el entorno se ve reflejado por la contaminación de suelos, de aguas subterráneas y superficiales. El uso indiscriminado de plaguicidas de amplio espectro trae como consecuencia una reducción de poblaciones de insectos beneficiosos (Cadeño et al., 2011: pp 7-10).

La alta demanda del *brasicaceas* en mercados internacionales trajo buenos resultados al sector agrícola (SINAGAP 2014, p. 12). Sin embargo, el cultivo sucesivo ha provocado problemas fitosanitarios, junto con los requisitos impuestos por las normas de calidad de los países destino, relacionado con la presencia de residuos de plaguicidas, enfermedades y plagas los que repercuten en los precios y en la calidad del producto (Guerrero Padilla 2018, p. 160).

La planta de chocho es una leguminosa oriunda de los Andes Sudamericanos, ha sido estudiada desde el punto de vista nutricional, su alto contenido de alcaloides no ha permitido el consumo directo de este alimento, pequeños agricultores han utilizado estos alcaloides para combatir insectos en animales y regulador del crecimiento o fertilizante en cultivos de maíz, trigo, soja y papa. En el proceso de desamargado del chocho para su consumo, se estima que se elimina el 99,92% de alcaloides en el agua de cocción, proceso que contribuye a la contaminación ambiental, ante esta problemática se busca alternativas para utilizar estos alcaloides con productos benéficos para el hombre (Rodríguez 2009, p. 7).

Los agroquímicos están siendo utilizados por los agricultores de manera empírica para el manejo de varias plagas y enfermedades lo que lleva a realizar investigaciones en cuanto a las dosis, concentraciones para el manejo de (*Brevicorine brassicae*) del cultivo de brócoli. Esto se adiciona

sobre los cultivos de chocho, una vez cosechado los agricultores se han mal acostumbrado a mantener las plantas de chocho, lo cual genera el incremento de plagas y enfermedades (Pérez et al. 2009, pp.104-105).

Se recomienda una vez cosechado, quitar todas las plantas para evitar problemas fitosanitarios, debido a la resistencia de patógenos y plagas, al eliminar principalmente a los enemigos naturales, los cuales mantienen un ecosistema regulado, evidenciando en la pérdida del equilibrio natural (Brechelt 2004, p. 7). Esto a su vez genera residuos orgánicos que pueden ser aprovechados para producir extractos de aceite de la planta de chocho, producto que podría constituirse en una alternativa para el manejo de plagas y enfermedades en cultivos hortícolas, como el brócoli; además mediante la rotación de cultivos evitará que las plagas se dispersen en todo el cultivo.

La tecnificación de procesos agrícolas y la mejora de la producción pueden lograrse a través del reemplazo de agroquímicos por extractos botánicos naturales con poder insecticida y repelente, de manera que contribuyan a la conservación del medio ambiente. La valoración del efecto biológico de un extracto botánico permite establecer la efectividad que estos poseen frente a un químico comercial, lo cual reduciría la dependencia de los agricultores hacia los agroquímicos tradicionales, disminuyendo de esta forma el impacto sobre el ambiente (Celis et al. 2008, p. 100).

Por todos los riesgos antes mencionados, es necesario contar con alternativas para controlar las plagas, es por esta razón que, se presenta el trabajo de titulación denominado “Obtención de alcaloides de la planta de chocho mediante la extracción por arrastre de vapor y soxhlet, para controlar el pulgón de las brassicáceas (*Brevicoryne Brassicae*)”. Ya que no se dispone de estudios que evidencien tales beneficios y con lo que se garantiza una agricultura amigable con el ambiente.

1.2. Formulación del problema

¿Es la aplicación de alcaloides de la planta de chocho un producto que permite controlar el pulgón de las *brassicáceas (Brevicoryne brassicae)*”?

1.3. Preguntas directrices o específicas de la investigación

- ¿Cuál será el método de extracción que presente mayor rendimiento de producto?
- ¿Qué tipo de alcaloides estarán presentes en el aceite obtenido por los métodos de extracción de la planta de chocho?

- ¿Cuál será la mejor dosificación para el control del pulgón?
- ¿Cuál será el efecto del alcaloide de la planta de chocho sobre el pulgón de las *brassicaceas*?

1.4. Justificación de la investigación

Existe una preocupación por el uso indiscriminado de productos químicos sintéticos en el control de plagas en los cultivos de las *brassicaceas*, su inadecuada aplicación y su elevado costo, representan daños tanto en la salud de los productores, consumidores y el ambiente. Las escasas alternativas de control alternativo para el manejo de pulgón obligan a buscar opciones viables desde el punto de vista técnico como económico, para garantizar la sustentabilidad de la producción, reduciendo significativamente la dependencia a los plaguicidas químicos sintéticos y consecuentemente el deterioro del ambiente (Menchaca Jalakori 2013, p. 1).

Debido a la gran diversidad de plagas que causan pérdidas en la producción agrícola y al hecho de que muchos plaguicidas comerciales han perdido su registro en los últimos años, se hace necesaria la búsqueda de nuevas alternativas para el control de estos organismos. En América como en Ecuador se ha encontrado que se tiene un muy buen índice de plantas endémicas con un interesante contenido de metabolitos secundarios, lo que abre múltiples posibilidades de encontrar compuestos con probables actividades pesticidas. Se han venido utilizando plantas en la medicina y la agricultura desde la época prehispánica, y sin embargo, se han realizado pocos estudios sistemáticos al respecto. En la actualidad constituyen una fuente valiosa de aleloquímicos en la que aún se ha incidido en muy pequeña escala (Céspedes & Alarcon 2011, p. 175).

Los extractos de plantas se conocen comúnmente como productos botánicos de plantas y son los metabolitos secundarios sintetizados por estas con fines protectores. Algunos de estos compuestos son tóxicos para los insectos. Estos compuestos vegetales se llaman pesticidas botánicos, pesticidas vegetales o simplemente pesticidas. Muchos de los productos botánicos de plantas son utilizados como insecticidas tanto en hogares como en agricultura comercial y de subsistencia por pequeños agricultores. Pueden ser venenos de contacto, respiratorios o estomacales.

Los productos botánicos no son muy selectivos porque se dirigen a una amplia gama de plagas de insectos. Los insecticidas para plantas actúan de varias maneras: como repelentes al expulsar a los insectos debido al olor o al sabor, como anti alimentario que hacen que los insectos en las plantas reduzcan su ingesta de alimentos y, por lo tanto, los maten de hambre; como disuasivos de la oviposición, evitando que los insectos pongan huevos; o como inhibidores al interferir con el ciclo de vida de los insectos.

En el Ecuador, el cultivo de chocho se localiza en la región Sierra, en las provincias de Cotopaxi, Chimborazo, Pichincha, Bolívar, Tungurahua, Carchi e Imbabura. Este producto es importante por su alto contenido de proteína y aceites, nutrientes que lo colocan en un plano comparable al de la soya. El grano debido a la presencia de alcaloides quinolizidinicos que representan en promedio el 42% de proteína, presenta ventajas para el control de pulgón, por lo que es necesario determinar la dosis más efectiva, que contribuya de manera positiva a la producción agrícola, con la concomitante reducción de aplicación de plaguicidas de origen sintético (Villacrés et al. 2009, p. 5).

El extracto crudo de la planta contiene una mezcla de moléculas químicas que pertenecen a diferentes clases químicas de compuestos y es posible que no todas posean actividad biológica. Por lo tanto, para que un pesticida botánico sea efectivo, debe haber una estandarización química para concentrar las moléculas químicas que poseen actividad biológica. Esto se puede lograr mediante el uso de procedimientos estándar destinados a una clase particular de moléculas químicas seguido de un análisis apropiado para asegurar el nivel deseado de actividad biológica.

Por todas las razones antes mencionadas, se presenta el trabajo de investigación denominado “Obtención de alcaloides de la planta de *Lupinus mutabilis* mediante la extracción por arrastre de vapor y soxhlet, para controlar *Brevicoryne Brassicae* en cultivos hortícolas”. Siendo los resultados obtenidos de esta investigación, una contribución de información científica del potencial plaguicida de la planta de chocho aplicada en el cultivo de la especie vegetal en indagación.

1.5. Objetivos de la investigación

1.5.1. General

Obtener los alcaloides de la planta de *Lupinus Mutabilis* mediante extracción por arrastre de vapor y Soxhlet, para controlar *Brevicoryne brassicae* en cultivos hortícolas.

1.5.2. Específicos

- Evaluar los métodos de extracción de alcaloides de la planta de chocho en base al rendimiento del alcaloide obtenido.
- Caracterizar los extractos de la planta de chocho mediante el método cromatografía de gases acoplado a la espectrofotometría de masas.

- Determinar la mejor dosificación para el control del pulgón del invernadero de GDETERRA de Horticultura de la ESPOCH.
- Evaluar el efecto del control del alcaloide de la planta de chocho sobre el pulgón (*Brevicoryne brassicae*) del invernadero de GDETERRA de Horticultura de la ESPOCH.

1.6. Hipótesis

1.6.1. Hipótesis general

La aplicación de alcaloides obtenida a partir de la planta de *Lupinus Mutabilis* sí generará un efecto para controlar *Brevicoryne brassicae* en cultivos hortícolas”.

1.6.2. Hipótesis específicas

- Con la determinación de la cantidad de alcaloide obtenido por arrastre de vapor y extracción soxhlet sí se establecerá el método que presente mayor rendimiento de producción.
- La caracterización de los extractos de la planta de chocho por cromatografía de gases acoplado a la espectrofotometría de masas sí establecerá el tipo de alcaloide presente en el aceite.
- El alcaloide extraído de la planta de *Lupinus Mutabilis* sí controlará las poblaciones del pulgón de las *brassicaceas* (*Brevicoryne brassicae*)”.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

2.1. Antecedentes del problema

Lengai et al (2020, p. 1) menciona que la creciente demanda de alimentos producidos orgánicamente ha estimulado el enfoque en alternativas como son los pesticidas botánicos, estos presentan modos de acción variados, sus fuentes están fácilmente disponible y tienen baja toxicidad para los organismos no objetivo. En su investigación, para el procesamiento y la extracción de los pesticidas botánicos utilizan solventes de bajo costo (acetato de etilo, metanol y acetona).

Tschoeke et al. (2019, p. 591) realizaron el control de plagas en plantas de melón, evaluaron los impactos de los insecticidas botánicos y sintéticos. Los resultados obtenidos revelaron que tanto las abejas melíferas como las abejas no Apis, visitaron las flores de melón, los tratamientos con pesticidas afectaron diferencialmente a las especies de abejas, el tratamiento con fungicida solo no influyó en la intensidad de las visitas de las abejas, los campos de melón tratados con deltametrina produjeron frutos comercializables significativamente más livianos, en general, los hallazgos encontrados refuerzan la idea de que la aplicación de campo de pesticidas botánicos pueden representar algo de riesgo si no se controla como los pesticidas sintéticos.

Gabriel Paulraj et al. (2017, pp. 1813-1819), desarrollaron una formulación de un nanoplaguicida usando quitosano y pesticida botánico, cuya actividad anti alimentaria, larvicida y reguladora del crecimiento estaba orientada contra la *Helicoverpa armígera*, una plaga importante de lepidópteros. Estudiaron los efectos de los agentes de reticulación y las propiedades biológicas contra la plaga de insectos, el tratamiento registró el 88,5 % de actividad anti alimentario y el 90,2% de actividad larvicida contra la *H. armígera*. Además, encontraron que la formulación de nanoplaguicida a base de quitosano es muy prometedora en el manejo de *H. armigera*.

Xiong et al. (2016, pp. 13-18), en su investigación analizaron los alcaloides *Sophora Flavescens*, un prometedor pesticida botánico para permitir el crecimiento y desarrollo de los tomates, los tratamientos se expusieron a tres dosis: 333; 166,5 y 111 mgL⁻¹. El tratamiento aumentó la altura y el diámetro del tallo de las plantas, además de tener un efecto positivo en casi todas las características fisiológicas de la hoja. El rendimiento temprano y la calidad de los vegetales también aumentaron. Estos hallazgos sugieren la aplicación del pesticida botánico para el mejoramiento de los tomates en cuanto a calidad y rendimiento antioxidante.

Hernández-Moreno et al. (2013, p. 483), realizaron un estudio para evaluar la seguridad del consumidor y agricultor sobre el uso de cuatro pesticidas botánicos en la protección de cultivos de pimiento, los pesticidas evaluados incluyen preparaciones de clavo de olor, raíz de tuba, bandera dulce y piretro. Su evaluación de seguridad se basó en que sus ingredientes activos son eugenol, rotenona, β -asarona y piretrinas respectivamente. Encontraron que tres de los pesticidas no son un problema de seguridad, con la excepción de niveles de rotenona al usar extractos de raíz de tuba en bayas almacenadas. Consideran que es prudente buscar alternativas para el uso de extractos de bandera dulce que contengan β -asarona.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Extracción de aceites esenciales

Varias especies de plantas contienen compuestos volátiles que se pueden extraer como aceites esenciales utilizando un solvente lipídico apropiado. Los aceites esenciales representan una pequeña fracción de la composición de una planta, pero confieren las propiedades características para las que se utilizan las plantas aromáticas en las industrias farmacéutica, alimentaria y de fragancia. Los aceites esenciales poseen una composición compleja y variable, que consta de numerosos componentes, especialmente hidrocarburos y compuestos oxigenados. Su aroma es el resultado de la combinación de cada uno de estos compuestos, los componentes trazan también son importantes ya que le dan al aceite un olor natural característico, por lo que, es importante que la proporción natural se conserve durante la extracción de los aceites esenciales mediante cualquier tecnología empleada (Stratakos & Koidis 2015, pp. 31-38).

2.2.2. Métodos convencionales de extracción

2.2.2.1. Prensado en frío

Es un método de extracción antiguo que se utiliza exclusivamente para la producción de aceites esenciales cítricos. Este método hace referencia a cualquier proceso físico durante el cual las glándulas de aceite esencial en la cáscara y las cutículas se rompen para que se liberen, como resultado se obtiene la producción de una emulsión acuosa que posteriormente se centrifuga para separar el aceite esencial. La razón por la cual se extrae aceites esenciales de cáscara de cítricos por este método es la inestabilidad térmica de los aldehídos presentes (Bousbia et al. 2009, pp. 409-413).

2.2.2.2. Extracción con solvente

La extracción con solventes se utiliza para aceites esenciales que son térmicamente lábiles, en este método el material vegetal se coloca en un baño de solvente que lo disuelve, después de la extracción, la mezcla líquida que contiene el aceite esencial pasa por un proceso de filtración y una destilación posterior. Los solventes que se usan comúnmente para la extracción son alcohol, etanol, hexano, éter de petróleo y metanol. La ventaja principal de la extracción por este método es que se usa una temperatura más baja durante el proceso, por lo que se reduce el riesgo de cambios químicos debido a altas temperaturas que se usan durante la destilación. Este tipo de extracción es económica y relativamente rápida debido a que las velocidades de difusión están influenciadas por la temperatura. El aceite esencial obtenido contiene una pequeña fracción de disolvente como residuo y, por lo tanto, su uso para aplicaciones alimentarias no es posible. Este método es comúnmente utilizado por la industria del perfume (Stratakos y Koidis 2015, p. 33).

2.2.2.3. Destilación por arrastre de vapor

La destilación es el método más comúnmente utilizado, este proceso de extracción puede durar entre 1 y 10 horas, la cantidad de aceite producido depende de la duración del tiempo de destilación, temperatura, presión y el tipo de material vegetal. Durante la extracción, los materiales vegetales se exponen a vapor para liberar el aceite esencial a través de la evaporación. A medida que el vapor se condensa, se recoge y se separa en un recipiente que generalmente se llama el matraz florentino. Aunque la extracción de aceites esenciales por destilación parece ser un proceso sencillo suele presentar varios inconvenientes, dado que los aceites esenciales están expuestos al agua hirviendo durante largos periodos de tiempo. Durante la destilación puede producirse la hidrólisis de los ésteres a alcoholes y ácidos, lo que puede causar serias implicaciones en el caso de aceites con grandes cantidades de ésteres (Dugo y Mondello 2010, pp. 471-482).

2.2.2.4. Extracción con gases supercríticos

Métodos tradicionales como la destilación y la extracción con solventes se han utilizado comúnmente, sin embargo, estos métodos tienen desventajas tales como bajo rendimiento, pérdida de compuestos volátiles, largos tiempos de extracción y residuos de solventes tóxicos. Esto ha conllevado al desarrollo de técnicas alternativas de extracción que pueden superar estos problemas como es la extracción de fluido supercrítico que se ha introducido y estudiado a profundidad, este método puede realizarse por lotes, semi lotes y modos continuos. En general, el

material sólido se coloca en un recipiente en el que se agrega el fluido supercrítico bajo un caudal específico hasta que se alcanzan las condiciones de extracción apropiadas (Stratakos y Koidis 2015, p. 37).

2.2.3. Aceites esenciales

Las plantas han sido reconocidas durante mucho tiempo como fuentes potenciales de diferentes clases de componentes químicos, conocidos como fitoquímicos, terpenoides, alcaloides, fenólicos, glucósidos, que son productos efectivos para el control o tratamiento de diversas enfermedades (Mehdizadeh y Moghaddam 2018, p. 167).

Los aceites esenciales y sus compuestos principales los monoterpenos se encuentran entre las clases más prometedoras de productos naturales que pueden usarse como agentes más seguros para el control de plagas y enfermedades (Bassolé y Juliani 2012, p. 3989). Los aceites esenciales tienen diversas actividades biológicas y efectos terapéuticos, que pueden usarse en diferentes industrias y tratar varios trastornos en humanos, animales, plantas y alimentos. Los aceites esenciales son líquidos oleosos, hidrófobos, aromáticos y volátiles que se pueden extraer de las plantas, pueden derivarse de células o grupos especializados dentro de regiones particulares de la planta como tallos, hojas, follaje, corteza, madera, frutos, semillas y rizomas (Miguel 2010, p. 9252). Los aceites esenciales generalmente se obtienen por destilación al vapor, son mezclas complejas de componentes que incluyen derivados terpénicos con propiedades aromáticas y una gama de hidrocarburos terpenos oxigenados y no oxigenados (Mehdizadeh y Moghaddam 2018, p. 167).

Diferentes aceites esenciales de las plantas indican varias características terapéuticas útiles, como analgésicos (menta, hierba de limón, clavo de olor, romero); antibiótico (árbol de té, lavanda); antifúngico (árbol de té, hierba de limón); antiinflamatorio (milenrama, manzanilla alemana, lavanda, clavo); antiséptico (árbol de té, lavanda); antiespasmódico (mejorana, romero, menta, madera de cedro); antiviral (melisa, árbol de té, lavanda, limón) (Mehdizadeh y Moghaddam 2018, p. 167).

Las actividades antibacterianas, antifúngicas, antivirales, insecticidas y antioxidantes de los aceites esenciales, pueden estar medidas por compuestos individuales o grupos de compuestos, estos metabolitos secundarios tienen funciones biológicas en las plantas de las que se originan, como la protección contra depredadores y patógenos microbianos, así como la participación en mecanismos de defensa contra el estrés abiótico (Bassolé & Juliani 2012, p. 3990).

Para el tratamiento de infecciones relacionadas con las biopelículas, se pueden enumerar algunos aceites esenciales antimicrobianos seleccionados que pueden erradicar bacterias y hongos dentro de las biopelículas con mayor eficacia, entre los cuales se destacan los aceites cítricos, como la naranja, el limón que presentan óxidos de limoneno (Esparza-Bonilla, et al. 2021, p. 566) .

Tabla 1-2: Ventajas y desventajas del uso de aceites esenciales como pesticidas botánicos

Ventajas	Inconvenientes	Referencia
Son selectivos, biodegradables, producen poco o ningún residuo tóxico y son menos costosos que los pesticidas químicos sintéticos.	Tasa de muerte más lenta, menor persistencia en el medio ambiente debido a su naturaleza volátil y menor eficacia si se usan solos en comparación con los pesticidas convencionales.	(Chandler <i>et al.</i> , 2011; Nava-Pérez <i>et al.</i> , 2012)
No son tóxicos para los mamíferos, aves y peces, por la falta de receptores de octopamina en ellos, pero sí lo son para los insectos.	Muchos estudios demuestran su eficacia <i>in vitro</i> pero muy pocos <i>in vivo</i> . Se necesita usar disolventes y emulsionantes para ser aplicados en campo debido a su naturaleza no polar.	(Isman, 2000; Isman, 2020)
No se ha informado hasta la fecha fenómenos de bioacumulación ni biomagnificación.	Pueden ser costosos debido a su bajo rendimiento de obtención.	(Raveau <i>et al.</i> , 2020; Regnault-Roger <i>et al.</i> , 2012)

Fuente: (Rodríguez A. 2021, p. 8)

2.2.3.1. Características organolépticas y físicas de los aceites esenciales

Los aceites esenciales son generalmente líquidos, lúcidos y móviles, pero solo algunos son sólidos como el lirio o semisólidos como la madera de guayaco a temperatura ambiente. La gran parte de aceites esenciales son de colores amarillo pálido o incoloros, algunos presentan colores profundos como la manzanilla azul y la valeriana europea (Tisserand y Young 2013, pp. 5-22).

El olor típico de los aceites esenciales depende de los orígenes de las plantas. Son aceites volátiles con un alto índice de refracción y una rotación óptima como resultado de muchos compuestos asimétricos. La densidad relativa es comúnmente más baja que la del agua, pero existen excepciones. Los aceites esenciales generalmente se reconocen como hidrófobos, pero son en gran parte solubles en grasas, alcoholes y en la mayoría de los solventes orgánicos. Además,

presentan sensibilidad a la oxidación para formar productos resinosos a través de la polimerización (Li et al., 2014, pp. 21-27).

2.2.3.2. *Química de los aceites esenciales*

Existe dos tipos principales de metabolitos que se pueden encontrar en la naturaleza de los aceites esenciales: metabolitos primarios y secundarios. Los metabolitos primarios son compuestos universales presentes en todos los organismos vivos e incluyen proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos. Los metabolitos secundarios se encuentran solo en algunas especies y se clasifican como terpenoides, shikimates, policétidos y alcaloides. Los aceites esenciales están compuestos de dos clases de químicos principalmente: terpenos y fenilpropanoides. Aunque los terpenos y sus derivados oxigenados son más frecuentes y abundantes, ciertas especies contienen altas cantidades de shikimates que proporcionan un olor y sabor específico a la planta (Tisserand & Young 2013, pp. 5-22).

- **Alcaloides**

Los alcaloides están ampliamente distribuidos en especies pertenecientes a varias familias dentro de las angiospermas. Son compuestos de nitrógeno heterocíclicos versátiles con actividad antimicrobiana reportada contra fitopatógenos fúngicos o bacterianos. Los alcaloides de furoquinolina, los extractos de alcaloides de quinolizidina, los alcaloides de isoquinolina, los alcaloides de pirrolizidina se han mencionado como compuestos activos. Los mecanismos de acción de múltiples objetivos están representados por la membrana externa o la alteración de la membrana citoplasmática, la inhibición respiratoria, la perturbación del anillo Z y la síntesis de ácido nucleico/ inhibición de la división celular (Cushnie et al 2014, p. 377).

- **Compuestos Fenólicos**

Los compuestos fenólicos vegetales son un amplio grupo de sustancias (existen más de 8000 fenólicos conocidos actualmente) caracterizados por la presencia del radical hidroxilo. Su presentación es como conjugados unidos con mono u oligosacáridos y de acuerdo con la naturaleza de la aglicolina y el átomo conector se clasifican en fenólicos simples o benzoquinonas, ácidos hidroxibenzoicos, ácidos fenilacéticos, fenilpropanoides, naftoquinonas, xantonas, antraquinonas, flavonoides, lignanos, biflavonoides y taninos. Esta lista fenólica de simple a compleja refuerza la idea de diversidad estructural correlacionada con diferentes estados de

oxidación, grado de hidroxilación y centros de quiralidad, explicando sus múltiples propiedades biológicas (Balasundram et al., 2006, pp. 191-203).

La actividad de los compuestos fenólicos particulares depende de su diversidad estructural, actuando como fitoalexinas o fitoanticipinas que alteran los recubrimientos de células microbianas por interacción con proteínas de membrana causando un deterioro estructural y funcional (Balasundram et al., 2006, pp. 191-203).

- **Terpenos**

Son el resultado de la condensación de Isopreno (2-metil-1,3-butadieno), una unidad de pentacarbonato con dos enlaces insaturados y, por lo tanto, muchas veces se llaman isoprenoides. Tienen muchas estructuras isoméricas cíclicas o lineales, y varios grados de insaturaciones, sustituciones y derivados oxigenados, generalmente llamados terpenoides. Además, los terpenoides son la clase más grande y diversa de compuestos orgánicos volátiles. Los aceites esenciales son mezclas altamente complejas de monoterpenos y sesquiterpenos, e incluyen fenoles biogénicamente relacionados, junto con carbohidratos, alcoholes, éteres, aldehídos y cetonas que son responsables de sus características (Hunter 2009, p. 128).

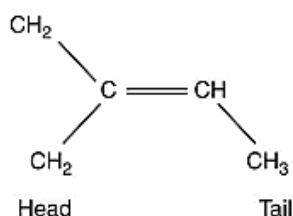


Figura 1-2: Unidad de Isopreno

Fuente: (Mehdizadeh & Moghaddam 2018, p. 167)

- **Fenilpropanoides**

Los fenilpropanoides contienen una o más unidades de benceno, por lo general, tienen un grupo funcional de metil éter unido al anillo y una cola de propenilo (cadena de tres carbonos con un doble enlace carbono-carbono unido al anillo por un extremo). Muchos de los aceites esenciales que contienen fenilpropanoides son fenoles o éteres de fenol. Sus representantes principales en los aceites esenciales incluyen los hidrocarburos oxigenados anetol, eugenol y safrol, que poseen un doble enlace carbono-carbono en la cadena lateral (Hunter 2009, p. 131)

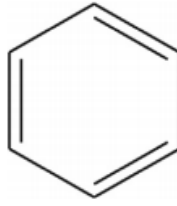


Figura 2-2: Anillo de benceno

Fuente: (Hunter 2009, p. 131)

2.2.4. El chocho

El chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), es una leguminosa de origen andino que en la última década ha tomado mucha importancia como cultivo y alimento en Ecuador. Esta especie se cultiva tradicionalmente en los Andes desde los 1500 m de altura, encontrándose en Ecuador, Venezuela, Colombia, Perú, Bolivia, Chile y Argentina (Villacrés et al. 2009, p. 12).

Además de su valor nutricional presenta otras características agronómicas como la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico a la planta, puede adaptarse a medios ecológicos muy secos que se ubican a una altura de entre 2800 y 3600 m.s.n.m. (Fernández E. 2017, p. 3). El chocho tiene más de 200 especies distribuidas en toda América; encontrándose principalmente en los valles andinos donde se cultivan en zonas especialmente secas. Lo cual las hace susceptibles cuando existe un exceso de humedad y moderadamente susceptibles a la sequía durante la floración y envainado (Fernández E. 2017, p. 4).



Figura 3-2: Chocho (*Lupinus mutabilis*)

Fuente: (Fernández E. 2017, p. 3)

Los aceites y proteínas almacenados en los cotiledones del chocho son los elementos de mayor interés nutricional e industrial. Sin embargo, el grano contiene algunas sustancias antinutritivas que limitan el uso directo del grano en la alimentación humana y animal, entre estas sustancias se encuentran los alcaloides, que confieren al grano un carácter tóxico y sabor amargo.

Los ensayos sobre los componentes químicos que posee el grano de *Lupinus mutabilis Sweet* son de mucha importancia por el contenido de proteína y aceite. En el grano amargo existe en promedio 42% de proteína; sin embargo, luego del proceso de desamargado, aumenta el valor a un 51%. El contenido de aceites es de 18 a 22%, los ácidos grasos principales son: 40 % de ácido oleico, ácido linoleico con 37% y el ácido linolénico con un 3% (Fernández E. 2017, p. 5).

Tabla 2-2: Análisis bromatológico del chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*) amargo y desamargado.

Componente	Chocho amargo	Chocho desamargado
Proteína (%)	47,80	54,05
Grasa (%)	18,90	21,22
Fibra (%)	11,07	10,37
Cenizas (%)	4,52	2,54
Humedad (%)	10,13	77,05
Alcaloides (%)	3,26	0,03
Azúcares totales (%)	1,95	0,73
Azúcares reductores (%)	0,42	0,61
Almidón total (%)	4,34	2,88
K(%)	1,22	0,02
Mg (%)	0,24	0,07
Ca (%)	0,12	0,48
P (%)	0,60	0,43
Fe (ppm)	78,45	74,25
Zn (ppm)	42,84	63,21
Mn (ppm)	36,72	18,47
Cu (ppm)	12,65	7,99

Fuente: (Fernández E. 2017, p. 5).

2.2.4.1. Composición de alcaloides presentes en el chocho

En este grano, los alcaloides son de tipo quinolizidínico, poseen un heterociclo nitrogenado bicíclico (quinolizidina) y son de carácter básico. Generalmente se extraen con soluciones de ácidos en agua, con lo cual se separan alcaloides y sus sales, estos compuestos se presentan en todas las especies del género *Lupinus*, se distribuyen en la planta particularmente en las ramas y semillas. No se conoce con exactitud la función de estos compuestos en la planta, parece ser que

el principal propósito es la defensa del vegetal contra insectos, animales herbívoros y patógenos microbianos (Villacrés et al. 2009, p. 12).

La toxicidad y el sabor amargo del grano dependen del tipo y proporción de los alcaloides, es por esta razón que su identificación y cuantificación es de gran importancia. De los alcaloides identificados, la Lupanina es el mayor constituyente, puesto que alcanza el 2,5% en el grano crudo y el 11,5% en el extracto. El segundo en importancia es la esparteína, corresponde al 0,32% en el grano crudo y 2,5% en el extracto purificado. Otros compuestos como la 3-β-hidroxilupanina, 13-hidroxilupanina y tetrahidrorombifolina, se encuentran en menor cantidad. Este último alcaloide desaparece durante la purificación y concentración del extracto (Villacrés et al. 2009, p. 1, 10, 34)

Los alcaloides tienen propiedades alcalinas gracias al nitrógeno básico que forma generalmente núcleos heterocíclicos. Cuando están libres son insolubles en agua, poco solubles en alcohol y solubles en éter y cloroformo; en muchos de los casos poseen oxígeno en su estructura siendo sólidos no volátiles, sin embargo cuando no presentan oxígenos en su estructura pueden ser líquidos a temperatura ambiente como es el caso de la esparteína (Jarrín 2003 citado en Fernández E. 2017, p. 11). El alcaloide de mayor concentración que se encuentra en el chocho es la Lupanina, cuya fórmula es $C_{15}H_{24}N_2O$ de peso molecular 248,36 g/mol. La Lupanina es soluble en cloroformo, alcohol y agua e insoluble en éter de petróleo. Generalmente, se extrae mediante soluciones de ácidos en agua, con un residuo del 0,03% (Villacrés et al. 2009, p. 14).

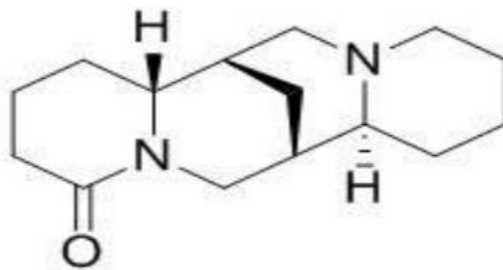


Figura 4-2: Estructura química de la Lupanina

Fuente: (Rodríguez 2009 citado en Fernández E. 2017, p. 11).

2.2.4.2. Obtención de los extractos alcaloidales crudos

Según Villacrés et al (2009, p. 12), el mejor solvente para extraer los alcaloides desde el grano es el agua, en menor proporción el alcohol isopropílico y con un mínimo poder extractante el hexano. La maceración acuosa del grano crudo permite una mejor recuperación de estos compuestos.

Para la purificación de extractos se acidifica el medio de extracción con ácido tricloroacético (ATCA), se centrifuga y se recupera el sobrenadante, el cual se alcaliniza con hidróxido de sodio 10 M. El diclorometano ayuda a separar los alcaloides del medio acuoso, se evapora el solvente y se obtiene un extracto con una concentración de alcaloides del 15,6% (P/V) (Villacrés et al. 2009, p. 10).

Tabla 3-2: Efectividad de varios solventes en la extracción de alcaloides del chocho

Solventes	Concentración de alcaloides (%)	Rendimiento (%)
Agua (maceración)	12,75	15
Alcohol isopropílico	2,78	3,1
Hexano	0,4	0,8
Agua (cocción)	7,4	8,4

Fuente: (Villacrés et al. 2009, p. 19).

2.2.5. *Pesticidas botánicos*

Los pesticidas botánicos pertenecen a la categoría de bioplaguicidas, se definen como materiales naturales o derivados de organismos vivos utilizados para el control de plagas, estos bioplaguicidas incluyen productos microbianos activos contra plagas microbianas y virales, compuestos bioquímicos no tóxicos derivados de diferentes organismos (insectos, plantas, feromonas, etc.) y plantas genéticamente modificadas que incorporan protectores (Rodríguez A. 2021, p. 3)

En torno a sus ventajas se puede mencionar a que son menos tóxicos, propensos a una biodegradación rápida, están dirigidos a una plaga específica, exhiben un modo de acción específico, manteniendo así el equilibrio ecológico. Sin embargo, presentan también desventajas frente a los plaguicidas convencionales, puesto que tienen una vida útil corta y, por lo tanto, una persistencia de campo limitada, poseen un espectro mucho más estrecho y una tasa de mortalidad más lenta (Leahy et al. 2014, p. 4). Por lo tanto, actualmente hay mucho interés en el desarrollo de nuevos plaguicidas más eficientes, que cumplan con los requisitos de seguridad alimentaria y la salud humana (Diallo et al. 2011, pp. 351-364).

El proceso de aislamiento de sustancias etnobotánicas biológicamente activas ha sido una preocupación continua de la química desde su comienzo, siendo las primeras sustancias biológicamente activas los alcaloides. Dependiendo de las propiedades químicas de los

compuestos activos se han desarrollado métodos, para los extractos acuosos se lo realiza mediante maceración en frío a temperatura ambiente durante 2-12h, con agitación periódica, seguido de filtración y uso inmediato, se utiliza decocción para materiales vegetales con consistencia dura, como raíces, rizomas, corteza, alunas frutas y semillas, consiste en calentar el material vegetal picado cubierto con una cantidad suficiente de agua durante 15-30 min en filtración a fuego lento mientras está caliente; la infusión permite la extracción de flores u otras partes frágiles de la planta y consiste en agregar agua caliente hervida sobre el material vegetal picado en una maceta durante 10-30 minutos, en donde las sustancias activas del material vegetal pasan a la infusión, el filtrado obtenido se usa dentro de las 24h (Rodriguez A. 2021, p. 21)

2.2.5.1. *Plaguicidas de origen vegetal: metabolitos secundarios antimicrobianos*

Algunos metabolitos secundarios de origen vegetal se han identificado como quimioterapéuticos potenciales en la protección de las plantas como los fenólicos, terpenoides-aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos. Sin embargo, la utilización de extractos de plantas como pesticidas botánicos todavía está limitada por varios factores, como la estandarización de los métodos de extracción, la estabilidad y/o formulación del ingrediente activo, la complejidad de la mezcla extraída y las dificultades en los pasos de purificación. Por otro lado, las aplicaciones de nanotecnología en la formulación y la mejora de las técnicas de identificación y dosificación de compuestos activos favorecen la creciente preocupación por el uso de plaguicidas botánicos (Paulkumar et al. 2014, p. 1-9).

2.2.5.2. *Mecanismos de inhibición de los pesticidas botánicos*

Los pesticidas botánicos son capaces de inhibir el desarrollo normal de los insectos a través de diferentes mecanismos tales como (Rodriguez A. 2021, p. 4):

- Inhibición de factores reguladores del crecimiento de insectos o a su vez alterando su crecimiento. Por ejemplo, *Ocinum basilicum* (albahaca) a partir de la cual se extrae la *juvovinema II*. Sirvió como modelo para sintetizar la piriproxifen
- Los pesticidas pueden ser anti alimentarios, de manera que al ser ingeridos por el insecto producen pérdida de apetito muriendo por inanición. Compuestos como los terpenos, tienen esta actividad.
- Pueden ser repelentes, un destacado ejemplo es el ajo o la pimienta y previenen de ataques de gorgojos y otros insectos, también es el caso de la ruda (*ruta graveolens*) o eucalipto (*Eucaliptus globulus*) que repelen varios tipos de hongos.

- Por último, pueden ser atrayentes y se basa en el uso de plantas que pueden atraer a insectos hacia otras plantas o hacia trampas.

2.2.6. Pulgón

Pulgón *Brevicoryne brassicae*, son insectos de cuerpo blando y globoso y con un tamaño medio entre 1-10 mm. El color puede variar del blanco al negro, pasando por amarillo, verde y pardo. Generalmente segregan un líquido azucarado denominado melaza que impregna la superficie de la planta impidiendo el normal desarrollo de ésta. El *Brevicoryne brassicae* extrae nutrientes de la planta y altera el balance de las hormonas del crecimiento, lo que origina debilitamiento de la planta, deteniéndose el crecimiento, y sequedad de la planta (Medina 2012, p. 4-5).

Otros problemas que produce indirectamente son: reducción de la fotosíntesis:

- Los pulgones excretan el exceso de azúcar como melaza que se deposita en el envés de las hojas, exceso que favorece el desarrollo de fumagina
- Pueden transmitir a la planta sustancias tóxicas.
- Son vectores de virus fitopatógenos transmitiendo hasta 117 tipos de virus fitopatógenos.



Figura 5-3: Pulgón (*Brevicoryne brassicae*)

Fuente: (Medina 2012, p. 4-5)

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Estudio técnico de la investigación

3.1.1. Población de estudio

Se consideró una población de estudio finita, 40 unidades experimentales (macetas con la planta de brócoli). Además de tres concentraciones por cada método extractivo del alcaloide.

3.1.2. Localización

La presente investigación se realizó en el invernadero de GDETERRA ubicado en Horticultura de Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH.

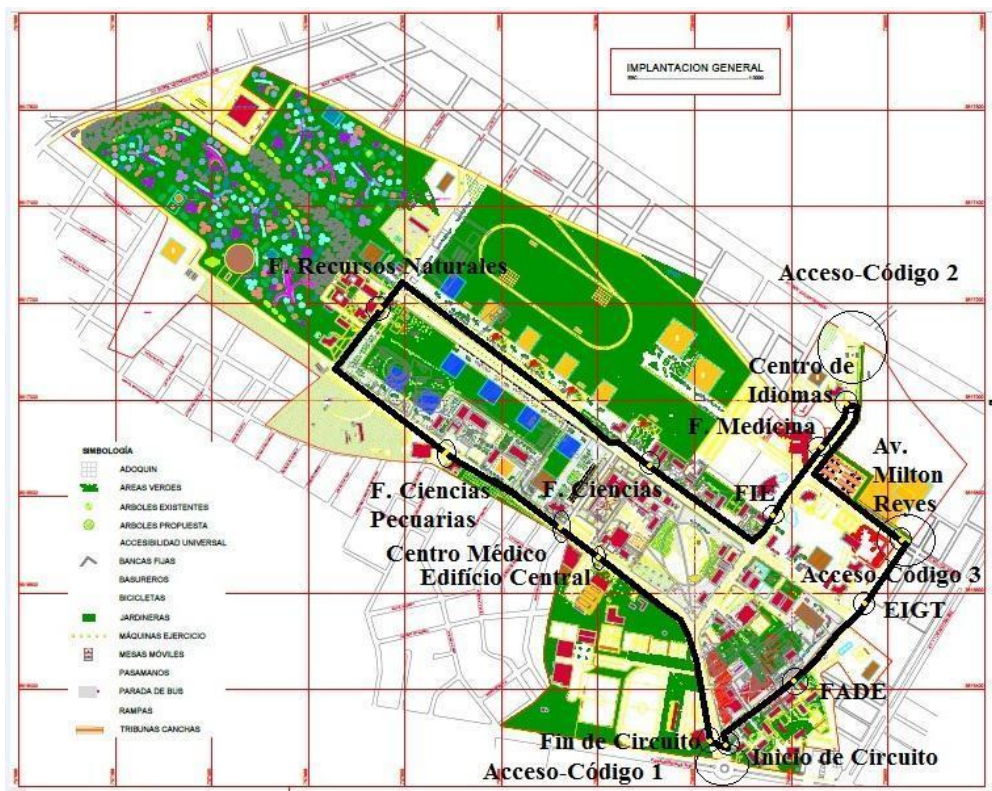


Figura 1-3: Localización de la facultad de recursos naturales de la ESPOCH

Fuente: (Moína A 2017, p. 37)

3.1.3. Ingeniería de la investigación

La presente investigación se realizó en los Laboratorios de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; donde se preparó la extracción de los aceites esenciales por los dos métodos propuestos. Luego, el desarrollo de la aplicación de los extractos de alcaloides en el pulgón se llevó a cabo en el Laboratorio de Ecología Natural y Aplicada de la Facultad de Recursos Naturales de la misma institución. El análisis de alcaloides mediante cromatografía de gases se realizó en el Laboratorio de Química Analítica de la Universidad Técnica Particular de Loja.

3.1.4. Tipo y diseño de investigación

Esta investigación es de tipo experimental puesto que se fundamenta en describir situaciones, eventos y hechos referentes a la factibilidad que presenta el extracto de aceite de la planta del chocho como plaguicida natural. Es decir, parte de un análisis de la situación actual. En lo posterior busca cuantificar el número de individuos muertos de pulgón por unidad experimental (planta de brócoli). Además, se selecciona una serie de parámetros a ser estudiados en categorías técnicas, posteriormente se levantará y recolectará información de los entes pertinentes y se evaluará fundamentalmente los indicadores de las categorías mencionadas.

3.1.5. Método de investigación

Se considera al método sistémico, ya que está dirigido a verificar el rendimiento entre dos métodos de extracción de alcaloide de la planta de chocho para su posterior aplicación en el control de la plaga de pulgón sobre brócoli, así como establecer la caracterización de los productos obtenidos en la extracción. Este método constituye una herramienta fundamental para la toma de decisiones de una futura modelación de una planta piloto de extracción de aceite con el alcaloide de la planta del chocho como plaguicida natural.

3.1.6. Enfoque de la investigación

Se establece un enfoque cualitativo-cuantitativo, basado en la medición de uno o más atributos del fenómeno descrito (Martínez, 2011).

3.1.7. Diseño experimental

La presente investigación sigue un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) desbalanceado, con 5 réplicas para cada tratamiento exceptuando el T1 y T2 con 2 réplicas. El factor en estudio son los tratamientos y el factor bloque son los días de análisis. Para verificar el diseño experimental se realizó el análisis de varianza ANOVA, la prueba de rangos múltiples con el test de Tukey para comparar las medias de cada tratamiento, Además se determinaron los supuestos del modelo estadístico. El modelo estadístico es el siguiente:

$$y_{ijl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + e_{ijl}$$

Dónde:

μ	es la media general
α_i	es el efecto debido al i-ésimo nivel del factor Tipo de sistema de extracción
β_j	es el efecto debido al j-ésimo nivel del factor concentración del extracto
$(\alpha\beta)_{ij}$	es el efecto combinado de la interacción Tipo de sistema-concentración al aplicar el tratamiento ij
e_{ijl}	representa el error aleatorio que, se supone, sigue una distribución normal con media 0 y varianza constante σ^2 , y son independientes

Tabla 1-3: Descripción de tratamientos en la investigación

Nomenclatura	Descripción
Tratamiento 1 (T1)	Extracto Alcohólico 10% por Soxhlet
Tratamiento 2 (T2)	Extracto Alcohólico 15% por Soxhlet
Tratamiento 3 (T3)	Extracto Alcohólico 20% por Soxhlet
Tratamiento 4 (T4)	Extracto Alcohólico 10% por Arrastre de Vapor
Tratamiento 5 (T5)	Extracto Alcohólico 15% por Arrastre de Vapor
Tratamiento 6 (T6)	Extracto Alcohólico 20% por Arrastre de Vapor
Control Negativo (CN)	Agua
Control Positivo (CP)	Tratamiento con LORSBAN

Realizado por: Suarez, Y., 2022

3.1.8. Alcance de la investigación

La investigación parte de analizar la situación actual, con relación a la problemática que existe de la aplicación desmesurada de agroquímicos en cultivos en general de Ecuador. También de la generación de estudios referentes a la utilización de alcaloides extraídos de la planta de chocho como agente protector natural contra plagas.

3.1.9. Unidad de análisis

Se utilizó la plaga (pulgón), que se mantiene por crianza en el Laboratorio de Ecología Natural y Aplicada de la ESPOCH, el mismo que se aplicó al brócoli sembrado en macetas; para luego llevar a cabo el estudio de la eficiencia de los alcaloides de chocho sobre el pulgón mediante el uso de cajas Petri debidamente rotuladas donde se tomaron inicialmente 5 pulgones vivos, y se aplicaron 3 concentraciones de alcaloides (5, 10 y 15 %) para cada métodos de extracción de alcaloides (Soxhlet y arrastre de vapor), además de un blanco positivo (insecticida químico) y un blanco negativo (agua).

3.1.10. Selección y tamaño de la muestra

Considerando que la muestra a emplearse para la presente investigación se encuentra en el invernadero de GDETERRA donde se realizó la aplicación de los extractos botánicos naturales de planta de chocho sobre el pulgón, principal plaga del brócoli. Mediante un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) con tres concentraciones por cada método extractivo (Por arrastre de vapor y Soxhlet), un control positivo y un control negativo con cinco repeticiones, dando un total de ocho tratamientos, lo que corresponde a 40 unidades experimentales. Además, el número de pulgones vivos inicialmente fueron de 5 pulgones

3.1.11. Técnica de recolección de datos

Ensayos experimentales:

- Extracción de aceite esencial de la planta de chocho por el método soxhlet y arrastre de vapor.
- Evaluación del efecto del alcaloide sobre el pulgón, con el empleo de tres concentraciones por cada método de extracción (Por arrastre de vapor y Soxhlet), incluido una evaluación con un plaguicida comercial y un blanco.

3.1.12. Instrumento de recolección de datos primarios y secundarios

Equipos:

Cromatógrafo de gases acoplado a un detector de masas

Equipo Soxhlet

Equipo de destilación

Materiales

- Hojas de Col frescas
- Pizas
- Tijeras
- Para Film
- Pincel N°1
- Papel de cocina
- Cajas Petri
- Papel filtro
- Pipeta volumétrica de 10 ml
- Rejillas de metal
- Vasos de precipitación de 100ml

Reactivos:

- Agua potable
- Agua destilada
- Diclorometano
- Aceite extraído del chocho
- Extracto alcohólico
- Insecticida Clorpirifós

3.1.13. Instrumentos para procesar datos recopilados

Para la recolección de datos se utilizó hojas de cálculo de Excel y el análisis del diseño experimental se lo realizó mediante el software estadístico SPSS.

3.1.14. Identificación de variables

3.1.14.1. Variable independiente

Tabla 2-3: Descripción de las variables independientes del trabajo experimental

Denominación	Naturaleza	Unidad de medida
Tipo de sistema de extracción	Cualitativa discreta	Destilación por arrastre de vapor Destilación por Soxhlet
Tiempo	Cuantitativa	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 días
Tratamiento	Cualitativa	T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8

Realizado por: Suarez Y., 2022

3.1.14.2. *Variable dependiente*

Tabla 3-3: Descripción de las variables dependientes del trabajo experimental

Denominación	Naturaleza	Unidad de medida
Control del pulgón	Cuantitativo	# Individuos /hoja

Realizado por: Suarez Y., 2022

3.1.15. Operacionalización de las variables

Tabla 4-3: Operacionalización de las variables

Variable	Definición	Dimensión	Indicadores	Ítems	Instrumentos
Alcaloide	Compuesto orgánico cíclico que contiene nitrógeno, en un estado de oxidación negativo que tiene una distribución limitada entre los organismos vivos.	Tipo Concentración	Familia Porcentaje	Grupo funcional % p/p	Cromatógrafo de gases acoplado al espectrofotómetro de masas
Control del pulgón de las brassicaceas	Manejo y control de plaga aplicando un componente con poder insecticida y repelencia que evite el ataque.	Número de individuos presentes	# de pulgones/ hoja	Individuos	Estereoscopio
Rendimiento del alcaloide extraído	Proporción entre el resultado que se obtiene y los medios que se emplearon para alcanzar el mismo	Cantidad de aceite obtenido/cantidad de planta procesada	Volumen	% en peso	
Sistema de extracción	Métodos de extracción de alcaloides: Por arrastre de vapor y Soxhlet	Tipo de sistema de extracción	Método	Tipo	Equipos de destilación

Realizado por: Suarez Y., 2022

3.1.16. Matriz de consistencia

Tabla 5-3: Matriz de consistencia

Formulación del problema		Objetivo General			Hipótesis General	
¿Es factible la aplicación de alcaloides de la planta de chocho como un producto que permita controlar el pulgón de las brasicáceas (<i>Brevicoryne brassicae</i>)”?		Obtener los alcaloides de la planta de <i>Lupinus Mutabilis</i> mediante extracción por arrastre de vapor y Soxhlet, para controlar <i>Brevicoryne brassicae</i> en cultivos hortícolas			La aplicación de alcaloides obtenida a partir de la planta de <i>Lupinus Mutabilis</i> sí generará un efecto para controlar <i>Brevicoryne brassicae</i> en cultivos hortícolas	
Preguntas directrices	Objetivo Específico	Hipótesis Específica	Variables	Indicadores	Técnicas	Instrumentos
¿Cuál será el método de extracción que presente mayor rendimiento de producto? ¿Qué tipo de alcaloides estarán presentes en el aceite obtenido por los métodos de extracción de la planta de chocho?	Evaluar los métodos de extracción de alcaloides de la planta de chocho en base al rendimiento del alcaloide obtenido.	Con la determinación de la cantidad de alcaloide obtenido por arrastre de vapor y extracción Soxhlet sí se establecerá el método que presente mayor rendimiento de producción	Alcaloide	Familia Porcentaje	Medición gravimétrica	Cromatógrafo de gases acoplado al espectrofotómetro de masas
¿Cuál será el efecto del alcaloide de la planta de chocho sobre el pulgón de las brasicáceas?	Caracterizar los extractos de la planta de chocho mediante el método cromatografía de gases acoplado a la espectrofotometría de masas.	La caracterización de los extractos de la planta de chocho por cromatografía de gases acoplado a la espectrofotometría de masas sí	Control del pulgón de las brasicáceas	# de pulgones/ hoja	Individuos	Estereoscopio

		establecerá el tipo de alcaloide presente en el aceite				
¿Cuál es la factibilidad técnica para la aplicación de extractos con alcaloides de la planta de chocho contra el pulgón?	Evaluar el efecto del control del alcaloide de la planta de chocho sobre el pulgón de las brasicaceas (<i>Brevicoryne brassicae</i>)”.	El alcaloide extraído de la planta de chocho sí controlará las poblaciones del pulgón de las <i>brassicaceas</i> (<i>Brevicoryne brassicae</i>)”	Rendimiento del alcaloide extraído	Volumen	% en peso	
			Tipo de sistema de extracción	Método	Tipo	Equipos de destilación

Realizado por: Suarez Y., 2022

3.2. Parte experimental

El trabajo experimental de la investigación está contemplado de la siguiente forma:

3.2.1. Obtención de los extractos de la planta de chocho

3.2.1.1. Preparación de la muestra

- ✓ **Recolección del material vegetal (planta de chocho)**, que fue obtenido de la planta experimental Tunshi y horticultura de la ESPOCH.
- ✓ **Procesamiento de la muestra**, consiste en el secado y molienda del vegetal.

3.2.1.3. Elaboración del extracto etanólico



Figura 2-3: Diagrama de flujo para la preparación del extracto etanólico de chocho

Realizado por: Suarez Y., 2022

La figura 2-3 muestra un diagrama de proceso para la preparación del extracto etanólico, para lo cual la muestra vegetal fue dejada en maceración durante 48 horas a temperatura ambiente, luego fue filtrada y su residuo sólido fue sometido de nuevo a maceración por 48 horas a temperatura ambiente, obteniendo finalmente el extracto etanólico

3.2.2. Extracción de aceites esenciales por el método Soxhlet y arrastre de vapor

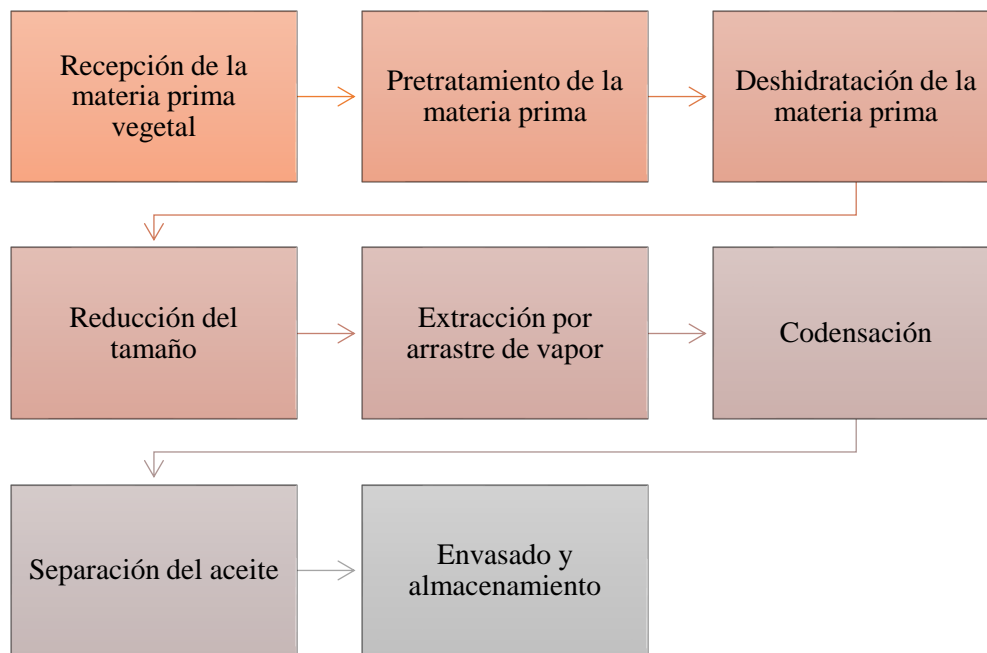


Figura 3-4: Diagrama de flujo para la extracción de aceite esencial de chocho por arrastre de vapor

Realizado por: Suarez Y., 2022

Mediante la técnica de arrastre de vapor, el material vegetal una vez secado se reducirá de tamaño para tener mayor área de contacto, después del montaje del equipo se procederá a colocar 115g de material vegetal en el matraz con agua destilada hasta las $\frac{3}{4}$ partes de su capacidad, de tal manera que toda la planta quede sumergida, luego se calentará la muestra para obtener el destilado, una vez que el destilado esté listo se separará el aceite esencial mediante un embudo de separación.

La extracción del aceite esencial por el método Soxhlet se desarrolló empleando un solvente con un punto de ebullición bajo para evitar degradación de la muestra vegetal.

El método Soxhlet se fundamenta de la siguiente manera: (i) adición del solvente en un balón hasta ebullición, el cual se evapora hasta un condensador pasando a reflujo. (iii) el condensado cae sobre el recipiente que contiene un cartucho poroso donde se encuentra la muestra. (iv) ascenso del nivel del solvente hasta cubrir el cartucho, punto en que se produce el reflujo donde el regresa con el material extraído al balón. (v) Se produce e repite varias veces hasta que la muestra quede agotada (Valencia M 2018, p. 25).

3.2.3. *Determinación de la composición química del aceite esencial*

Para la caracterización química, el aceite esencial obtenido por los dos métodos se analizó mediante un cromatógrafo de gases (CG) acoplado a un detector selectivo de masas.

En CG, se inyecta la muestra en la fase móvil, la misma que es un gas inerte de helio. Donde los distintos componentes de la muestra pasan a través de la fase estacionaria que se encuentra fijada en una columna (Gutiérrez et al. 2002, p.36). En el presente trabajo, la separación de los componentes del aceite esencial se lo realizó en una columna capilar de sílice con una fase estacionaria y el cromatógrafo utilizó gas de arrastre de helio y temperatura de 40 °C hasta llegar a 240 °C en varios intervalos de tiempo.

Cada soluto de la muestra en análisis presenta diferente afinidad hacia la fase estacionaria, permitiendo su separación: los componentes fuertemente retenidos se moverán lentamente en la fase móvil, mientras que los débilmente retenidos lo harán rápidamente. Como consecuencia los diversos componentes de la muestra se separan en bandas que pueden analizarse mediante un detector (Gutiérrez et al. 2002, p.36). La identificación de la estructura química del aceite esencial se realizó mediante comparación de los espectros de masas y de patrones certificados, obtenidos bajo condiciones idénticas.

3.2.4. *Evaluación del efecto del alcaloide sobre el pulgón*

En una hoja de col fresca se procedió a cortar la muestra de 4,2 cm de diámetro y se colocó en una caja Petri previamente preparada con los blancos positivo y negativo, el extracto alcohólico y aceite esencial. Se sumergió en cada uno de los tratamientos durante aproximadamente 5 minutos para la absorción del líquido que se desea estudiar y posteriormente se dejó secar la muestra durante 5 a 30 minutos según la sustancia impregnada en la hoja.

Se aseguró que los pulgones en cada una de las muestras estén vivos y con aspecto saludable, de color verde. La cantidad de pulgones utilizados inicialmente fue de 5 individuos para cada tratamiento. Los tratamientos empleados se describen a continuación:

1. Tratamiento con blanco positivo (Insecticida): En una muestra de aproximadamente 2ml por cada litro de agua, se utiliza 0,2 ml de insecticida disuelto en 100ml de agua.
2. Tratamiento con blanco negativo (Agua Potable): Se utilizan 50 ml de agua potable libre de cloro para sumergir las hojas.

3. Tratamiento con 5% del aceite: Se utiliza 1 ml del aceite con 19 ml de Diclorometano se afora a 20 volúmenes.
4. Tratamiento con 10% del aceite: Se utiliza 2 ml del aceite con 18 ml de Diclorometano se afora a 20 volúmenes.
5. Tratamiento con 15% del aceite: Se utiliza 3 ml del aceite con 17 ml de Diclorometano se afora a 20 volúmenes.
6. Tratamiento con 5% del extracto alcohólico: Se utiliza 1 ml del extracto alcohólico con 19 ml de Agua Destilada se afora a 20 volúmenes.
7. Tratamiento con 10% del extracto alcohólico: Se utiliza 2 ml del extracto alcohólico con 18 ml de Agua Destilada se afora a 20 volúmenes.
8. Tratamiento con 15% del extracto alcohólico: Se utiliza 3 ml del extracto alcohólico con 17 ml de Agua Destilada se afora a 20 volúmenes.

Clasificación de muestras:

- T1: Tratamiento con blanco positivo (Insecticida)
- T2: Tratamiento con blanco negativo (Agua Potable)
- T3: Tratamiento con 5% del aceite
- T4: Tratamiento con 10% del aceite
- T5: Tratamiento con 15% del aceite
- T6: Tratamiento con 5% del extracto alcohólico
- T7: Tratamiento con 10% del extracto alcohólico
- T8: Tratamiento con 15% del extracto alcohólico

Número de repeticiones:

- R1: Repetición número uno
- R2: Repetición número dos
- R3: Repetición número tres
- R4: Repetición número cuatro
- R5: Repetición número cinco

CAPÍTULO IV

4. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. Aceites esenciales obtenidos por el método Soxhlet y arrastre de vapor

4.1.1. Rendimiento de la extracción

El rendimiento de la extracción del aceite esencial de *Lupinus mutabilis* para los dos métodos en análisis se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{M_2}{M_1} \times 100$$

Donde:

M_2 : Masa final del aceite (g)

M_1 : Masa inicial del material vegetal (g)

100: Factor matemático

Tabla 1-4: Rendimiento del aceite esencial de *Lupinus mutabilis* por arrastre de vapor y el método Soxhlet

Método de extracción	Aceite esencial (ml)	Masa del aceite esencia (g)	Masa inicial del material vegetal (g)	Rendimiento de extracción (%)
Arrastre de vapor	9,0	8,13	200	4,06
Soxhlet	15,0	13,55	250	5,42

Realizado por: Suarez Y., 2022

Se analizaron dos tratamientos de extracción; por arrastre de vapor con una masa inicial de 200 g y por el método Soxhlet con una masa inicial de 250 g. Se extrajo el aceite por el término de 8 horas, obteniendo los resultados que se describen en la tabla 1-4. A partir de la cual se evidencia que el mayor rendimiento del 5,42 % se obtuvo usando el método Soxhlet; en comparación con el 4,06 % de rendimiento obtenido por arrastre de vapor. La masa en gramos del aceite se determinó tomando como referencia la densidad del aceite esencial de chocho crudo de 0,916 g/ml, valor obtenido por Navarrete P., (2010, pp. 118-126). Además, el autor determinó un rendimiento de extracción de 5,54 % de rendimiento muy cercano al que se obtuvo en este estudio en las mismas condiciones y por el mismo método.

4.1.2. Determinación de la composición química de los aceites esenciales

Para determinar la composición química del aceite esencial se utilizó un cromatógrafo de gases acoplado al espectrómetro de masas (GC/MS) de marca Agilent 7890 y el software Sartorius Chromatography para visualizar los datos. Donde se identificaron las principales fracciones de alcaloides presentes en el chocho en concentraciones similares a las obtenidas por Jarrin (2003) citado en Rodríguez (2009, p.28), descritas en la tabla 2-4.

Tabla 2-4: Fracciones principales de alcaloides presentes en los extractos de chocho

Alcaloides	Contenido de alcaloides g/100 de muestra
Lupanina	1,44 – 2,66
13-Hidroxlupanina	0,23 – 0,57
Esparteína	0,18 – 0,53
4-Hidroxlupanina	0,143 – 0,46
Nultalina	0,7 – 3,0
Alcaloides totales (%)	2,0 – 4,60

N°	MUESTR A 1	MUESTR A 2	METIL ÉSTERES	ÁCIDOS GRASOS	MUESTR A 1	MUESTR A 2	PROMEDI O
	TR	TR			%	%	%
1	23,09	23,043	Methyl tetradecanoate	ácido mirístico	0,10	0,11	0,10
2	28,083	28,056	Hexadecanoic acis, methyl ester	ácido palmítico	16,23	18,08	17,15
3	32,682	32,651	Methyl stearate	ácido esteárico	18,20	19,80	19,00
4	33,188	33,158	9- Octadecanoic acid (Z)-, methyl ester	ácido oleico	24,04	26,63	25,34
5	34,11	34,086	9,12-Octadecadienoic acid (Z, Z)-, methyl ester	ácido linoleico	35,04	28,18	31,61
6	35,396	35,375	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester (Z, Z, Z)-	ácido linolénico	3,28	3,61	3,45
7	36,773	36,760	Eicosanoic acid, methyl ester	ácido araquídico	1,49	1,92	1,70
8	41,351	41,341	Docosanoic acid, methyl ester	ácido behénico	1,63	1,68	1,65
				TOTAL	100,00	100,00	100,00

Realizado por: Suarez Y., 2022

Fuente: (Rodríguez 2009, p. 28; Castañeda et al. 2003, p. 4).

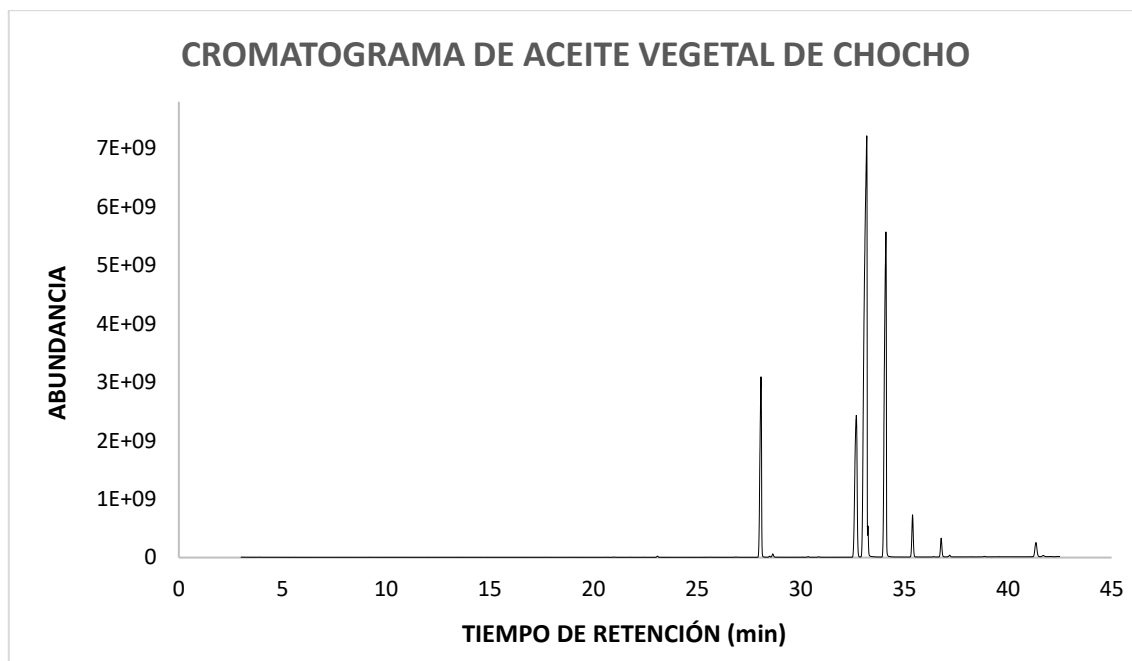


Figura 4-4: Cromatograma de los alcaloides presentes en el chocho

Fuente: (Rodríguez 2009, p. 28).

Los principales alcaloides presentes en el chocho son: Lupanina con 2,02 %, 0,25 % de 13 α -hidroxylupanina, 0,52 % de esparteína, 0,12 % de 4-hidroxylupanina, 2,01 % de nultalina; valores que se encuentran en el rango de referencia de acuerdo con Rodríguez (2009, p. 28) y Castañeda et al. (2003, p. 4), alcaloides que dan el amargor característico (Lupanina), y otras propiedades de defensa para la planta. Los mencionados alcaloides son de tipo quinolizidínicos que aportan un gran papel en el equilibrio de la planta, y dado que son neurotóxicos, defienden a la planta de microorganismos, depredadores, etc. Sin embargo, existen estudios que señalan el papel aleopático, es decir, producen un efecto anti-germinación, por la presencia de lupanina, lupinina, esparteína y gramina (en muy bajas concentraciones) (Bastidas 2013, p. 19).

4.2. Evaluación del efecto del alcaloide sobre el pulgón

La toma de muestras para cada tratamiento se lo realizó por 8 días, contando lo individuos presentes en las hojas de col, los resultados se describen en el anexo D a partir de los cuales se determinó la eficiencia del alcaloide para controlar *Brevicoryne brassicae*. Se realizaron 6 tratamientos variando tanto el método de extracción (Soxhlet y arrastre de vapor) como la concentración del aceite y del extracto alcohólico (5%, 10% y 15%), además de un blanco positivo (Insecticida) y un blanco negativo (Agua potable). El anexo E muestra las principales observaciones de las hojas para cada tratamiento empleado por 8 días de análisis.

4.2.1. Eficiencia al segundo día de la aplicación del aceite esencial de chocho sobre el pulgón

La experimentación dio inicio con una población de 5 pulgones para cada tratamiento (Anexo D, día 1), pero a partir del segundo día se observaron cambios significativos especialmente para el T1 blanco positivo (insecticida) con 8 pulgones vivos y 1 muerto, y los T6, T7, T8 con extracto alcohólico; donde los pulgones también se multiplicaron dando lugar a 8 vivos y 2 muertos. Lo cual no ocurrió con el T2 blanco negativo (agua) y los T3, T4, T5 (aceite), donde se observaron 4 pulgones vivos y 1 muerto en cada caso. El gráfico 1-4 muestra los resultados después del día 2, se observa que la mayor cantidad de pulgones muertos se dio con el extracto alcohólico, con 2 pulgones muertos para cada concentración. Sin embargo, hay que tener en cuenta que los pulgones se multiplicaron posiblemente a causa de la adición de los alcaloides y del insecticida, lo cual no ocurrió al adicionar el aceite esencial de chocho a concentraciones de 5, 10 y 15% obteniendo un total de 1 pulgón muerto y 4 vivos. Además, para cada uno de los tratamientos no presentó ningún daño visible en las hojas al adicionar el aceite o del extracto alcohólico, las hojas presentaron una coloración amarillo-verdosa sin resequeidad alguna (anexo E).

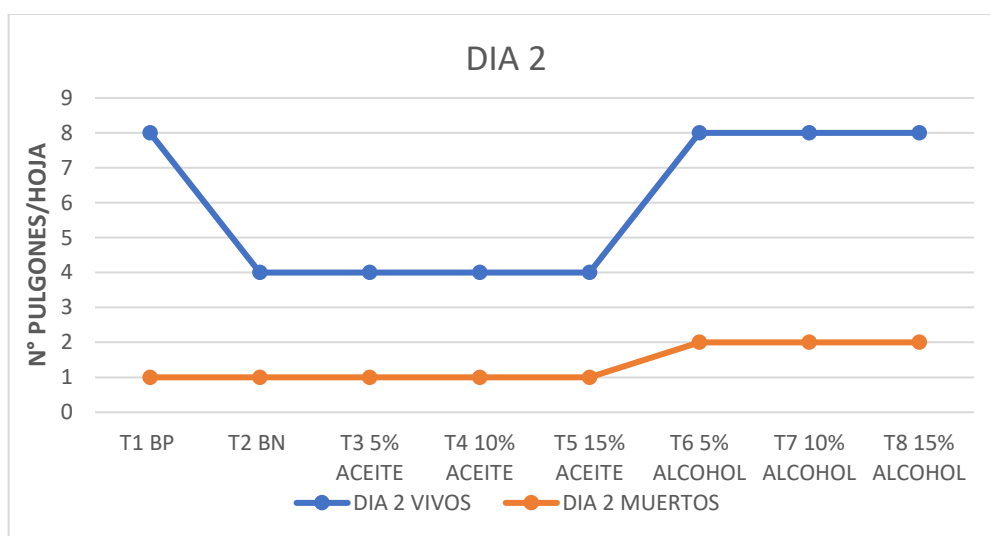


Gráfico 1-4. Resultados para el día 2 de alcaloides del chocho para controlar *Brevicoryne brassicae* en hojas de col

Realizado por: Suarez, Y., 2022

4.2.2. Eficiencia al tercer día de la aplicación del aceite esencial de chocho sobre el pulgón

El gráfico 2-4 muestra los resultados luego del tercer día del experimento, donde se observa que los T6 y T7 con el extracto alcohólico al 5 % y 10 % de concentración presentan mayor eficiencia contra *Brevicoryne brassicae* con 3,37 pulgones muertos, y 6,92 y 7,27 pulgones vivos para 5 % y 10 % respectivamente. En comparación con los tratamientos T3 Y T4 con aceite, donde se

obtuvo 2,55 pulgones muertos al 5 % y 10 % de aceite. En los dos casos, tanto en los tratamientos T3, T4 como en T6, T7, existe mayor eficiencia controlando *Brevicoryne brassicae*, que con el blanco positivo y negativo a partir de los cuales se obtuvo una media de 2,44 y 1,41 pulgones muertos. Luego, a partir del anexo E se observa que, en los tratamientos con aceite, las hojas presentan mayor resequeidad luego del tercer día de aplicación en comparación con los tratamientos con extracto alcohólico (poca resequeidad) y blancos.

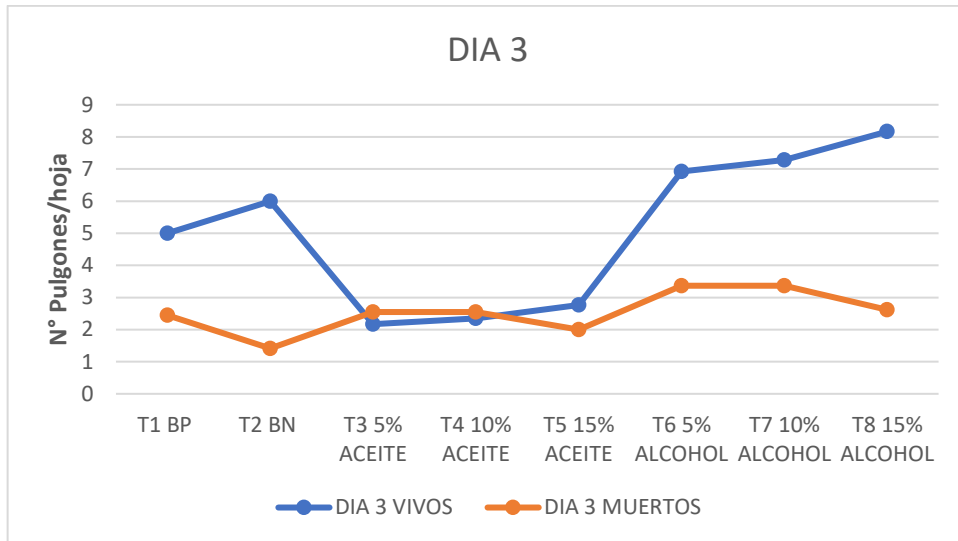


Gráfico 2-4: Resultados para el día 3 de alcaloides del chocho para controlar *Brevicoryne brassicae* en hojas de col.

Realizado por: Suarez, Y., 2022

4.2.3. Eficiencia al cuarto día de la aplicación del aceite esencial de chocho sobre el pulgón

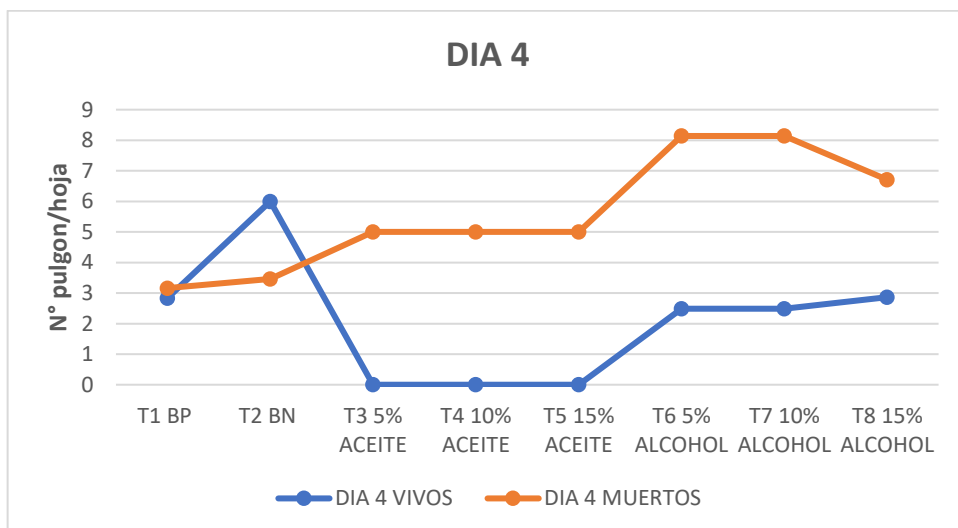


Gráfico 3-4: Resultados para el día 4 de alcaloides del chocho para controlar *Brevicoryne brassicae* en hojas de col.

Realizado por: Suarez, Y., 2022.

Luego del día cuatro de experimentación se observó la total eliminación de pulgones (*Brevicoryne brassicae*) en las hojas de col, con los tratamientos T3, T4 Y T5, que corresponden al aceite esencial de chocho al 5 %, 10 % y 15 % de concentración. Además, cabe señalar que la adición del aceite no causó multiplicación de la plaga alguna, lo que hace que sea el mejor método para controlar *Brevicoryne brassicae* con los alcaloides del chocho; no obstante, la hoja de col presentó una coloración amarillo-verdoso, con aspecto aceitoso, bastante resequead y presencia de hongos (anexo E).

Para los tratamientos T6, T7 con extracto alcohólico al 5 % y 10 % de concentración, también se observa eliminación de pulgones con una media de 8,14 pulgones muertos para los dos casos, dicha eficiencia disminuye con una concentración del 15% del extracto alcohólico (6,71 pulgones muerto), por lo cual se puede decir que la concentración es un factor determinante para la eliminación de pulgones. Sin embargo, los T6 y T7, presentan mayor eficiencia de eliminación de *Brevicoryne brassicae* con respecto al blanco positivo (3,16 pulgones muertos) y negativo (3,46 pulgones muertos); además de que la adición del extracto alcohólico T6, T7, T8 causa menor resequead de las hojas de col que con los tratamientos T3, T4 y T5 con aceite.

4.2.4. Eficiencia al quinto día de la aplicación de alcaloides de chocho sobre el pulgón

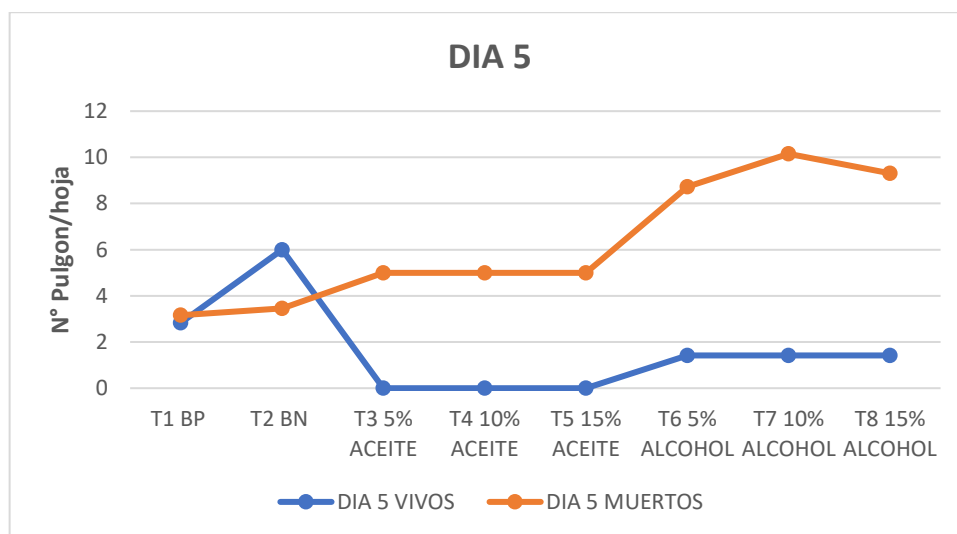


Gráfico 4-4: Resultados para el día 5 de alcaloides del chocho para controlar *Brevicoryne brassicae* en hojas de col.

Realizado por: Suarez, Y., 2022.

El gráfico 4-4 muestra la eficiencia para controlar pulgón con alcaloides, a partir del cual se observa mayor eliminación de pulgón con el tratamiento T7, con extracto alcohólico al 10 % de concentración; eliminando 10,15 pulgones al quinto día de experimento, y en comparación con el blanco positivo y negativo, los cuales presentan una media de pulgones muertos de 3,16 y 3,46.

Cabe mencionar que no hay presencia de pulgones para los tratamientos T3, T4, T5 con aceite ya eliminados en el día 4. Pero, en cuanto a las hojas expuestas con los tratamientos de aceite se observó que existe resequeidad en los extremos con presencia de hongos. Posiblemente debido a los compuestos presentes en el aceite. Lo cual no ocurre con los tratamientos con extracto alcohólico (anexo E), donde las hojas únicamente presentan poca resequeidad a pesar de la adición del compuesto.

4.2.5. Eficiencia al sexto día de la aplicación de alcaloides de chocho sobre el pulgón

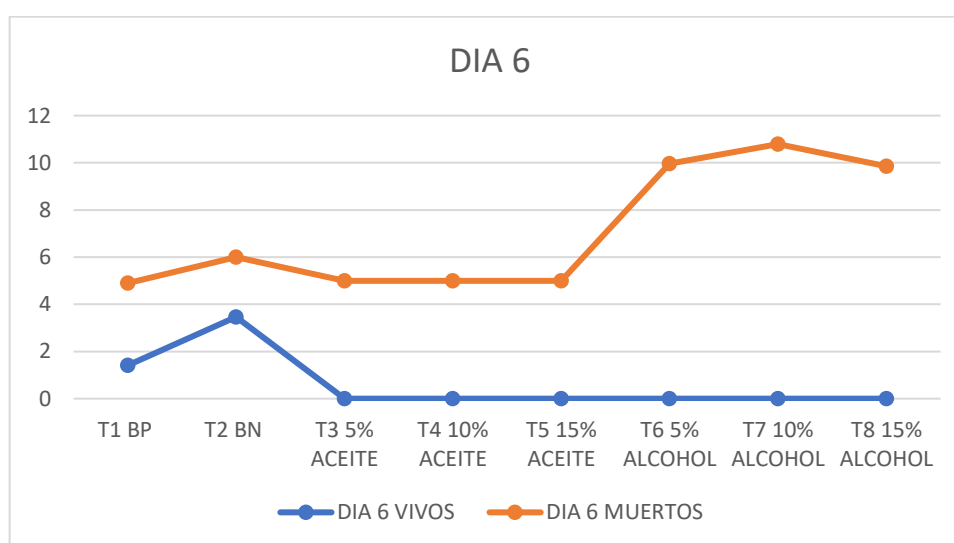


Gráfico 5-4: Resultados para el día 6 de alcaloides del chocho para controlar *Brevicoryne brassicae* en hojas de col.

Realizado por: Suarez, Y., 2022.

En el día seis de la experimentación, se observó la total eliminación de *Brevicoryne brassicae* con los tratamientos realizados tanto para el aceite como para el extracto alcohólico de chocho al 5%, 10% y 15% de concentración, con una media de 9,96, 10,80 y 9,85 pulgones/hoja eliminados, respectivamente. En comparación con los blancos, positivo y negativo con 4,90 pulgones/hoja con el insecticida y 6 pulgones/hoja con agua.

4.2.6. Eficiencia al séptimo y octavo día de la aplicación de alcaloides de chocho sobre el pulgón

Durante el séptimo y octavo día del experimento se obtuvieron resultados similares, como se describe en los gráficos 6-4 y 7-4, para todos los tratamientos se observó la total eliminación de *Brevicoryne brassicae*.

Es así, que el blanco positivo (Insecticida) y negativo (agua potable), necesitó de 7 días para la eliminación de *B. brassicae*, en comparación con los tratamientos T3, T4, T5 con aceite esencial de chocho, los cuales lograron controlar *B. brassicae* al cuarto día del experimento y los T6, T7 y T8, con extracto alcohólico de chocho se controló *B. brassicae* al sexto día del experimento.

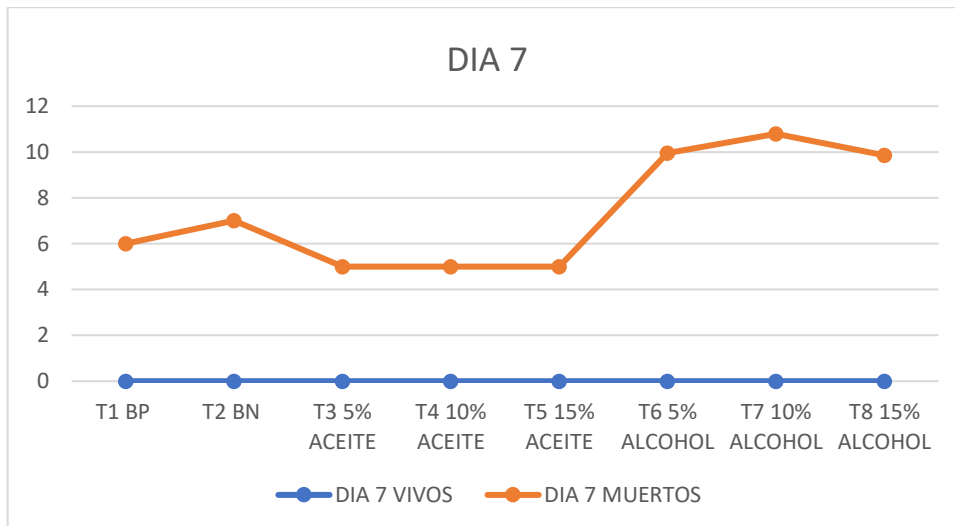


Gráfico 6-4: Resultados para el día 7 de alcaloides del chocho para controlar *Brevicoryne brassicae* en hojas de col.

Realizado por: Suarez, Y., 2022.

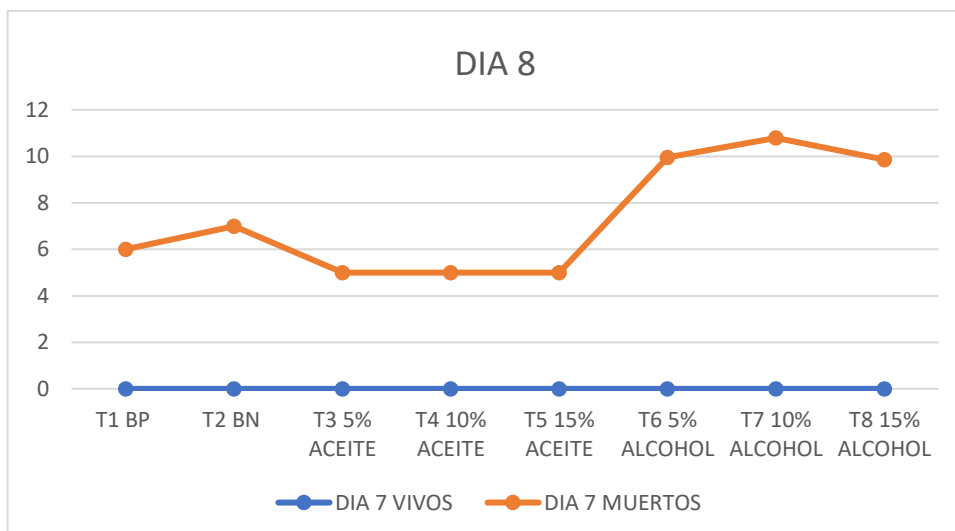


Gráfico 7-4: Resultados para el día 7 de alcaloides del chocho para controlar *Brevicoryne brassicae* en hojas de col

Realizado por: Suarez, Y., 2022.

4.3. Interpretación del diseño experimental

El presente trabajo experimental sigue un diseño experimental de Bloques Completamente al Azar (DBCA). El factor A en estudio fue tratamiento con 8 niveles (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8), el factor bloque B fue el tiempo (días) que transcurrió el experimento. La variable de respuesta analizada fue tanto el # pulgones/hoja muertos.

Se realizaron 5 réplicas para cada experimento exceptuado los T1 y T2 (blanco positivo y negativo) donde se realizaron únicamente 2 réplicas, de manera que es un DBCA desbalanceado con un total de 272 muestras.

La tabla 3-4, describe los factores en estudio para el diseño experimental.

Tabla 3-4: Descripción de las variables en estudio del diseño experimental

DISEÑO EXPERIMENTAL:	Diseño De bloques completamente al azar desbalanceado	
VARIABLES	DESCRIPCIÓN	NIVES
Factor A	Tratamientos	T1: Blanco positivo T2: Blanco negativo T3: aceite 5% T4: aceite 10% T5: aceite 15 % T6: extracto alcohólico 5% T7: extracto alcohólico 10% T8: extracto alcohólico 15%
BLOQUE	Días en estudio	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8
Variables de respuesta:	#pulgones/hoja muertos	
N° Réplicas:	5 (2 réplicas para T1 y T2)	Tota muestras en análisis: 272

Realizado por: Suarez, Y., 2022.

4.3.1. Hipótesis del modelo estadístico

$$H_0 = \text{Efecto A} = 0$$

$$H_1 = \text{Efecto A} \neq 0$$

$$H_0 = \text{Efecto B} = 0$$

$$H_1 = \text{Efecto B} \neq 0$$

$$H_0 = \text{Efecto AB} = 0$$

$$H_1 = \text{Efecto AB} \neq 0$$

4.3.2. Análisis de varianza ANOVA para el diseño DBCA

Tabla 4-4: Análisis de Varianza para # pulgones/hoja (muertos) - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	610,258	7	87,1797	130,36	0,0000
B: BLOQUE	1923,48	7	274,783	410,89	0,0000
RESIDUOS	139,1	208	0,66875		
TOTAL (CORREGIDO)	3460,22	271			

Realizado por: Suarez, Y., 2022.

La tabla ANOVA 4-4 descompone la variabilidad de la variable de respuesta # pulgones/hoja (muertos) en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III, la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística del factor A y el factor bloque. Como se observa en la tabla 4-4, los dos valores-P son menores que 0,05 para los factores en estudio A y B, rechazando la hipótesis nula H_0 a favor de la alternativa H_1 , De manera que efectivamente la aplicación del alcaloide en cada tratamiento produjo un efecto estadísticamente significativo sobre la presencia de *Brevicoryne brassicae* con un 95,0% de nivel de confianza.

4.3.3. Prueba de comparación de rangos múltiples - Tukey HSD

Tabla 5-4: Pruebas de Tukey HSD para # pulgones/hoja (muertos) por Tratamiento

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
T1	16	3,5	0,352248	X
T5	40	3,5	0,222781	X
T4	40	3,575	0,222781	X
T3	40	3,575	0,222781	X
T2	16	4,1875	0,352248	X
T8	40	6,15	0,222781	X
T6	40	6,55	0,222781	X
T7	40	7,025	0,222781	X

Realizado por: Suarez, Y., 2022.

La prueba de Tukey al 95 % de significación (tabla 5-4), describe la comparación de medias de cada uno de los tratamientos y basándose en la eliminación de pulgón con alcaloides. Se encontraron 2 rangos significativos; en el primer rango se describe el tratamiento T1, blanco positivo (Insecticida) y T5 (aceite al 15 %) con una media de 3,5 pulgones muertos/hoja; el T4 (aceite al 10 %) y T3 (aceite al 5 %), obtuvieron una media de 3,6 pulgones muertos/hoja; y el tratamiento T2 blanco negativo (agua) con una media de 4,2 pulgones muertos/hoja. En el segundo rango se ubicaron los tratamientos T8 (extracto alcohólico al 15 %) y T6 (extracto

alcohólico al 5 %), con una media de 6,2 y 6,6 pulgones muertos/hoja, y el tratamiento T7 (extracto alcohólico al 10 %) con 7,02 pulgones muertos/hoja.

Por tanto, los mejores tratamientos para eliminar pulgón en hojas de col fueron los tratamientos con extracto alcohólico (T6, T7, T8), cuyas medias son similares. Sin embargo, se observó mayor eliminación de individuos con el T7 (extracto alcohólico al 10 %). Por otro lado, en la tabla 6-4 se muestra la comparación de medias de bloque que corresponde a los días de tratamiento, a partir del cual se observan 3 rangos diferentes, y la mayor cantidad de pulgón eliminados se observaron en los días 6, 7, 8, con medias similares, y no hay gran diferencia estadísticamente entre los tres tratamientos T6, T7, T8, que corresponden a las concentraciones de extracto alcohólico al 5 %, 10 % y 15 % de concentración.

Tabla 6-4: Pruebas de Tukey HSD para # pulgones/hoja (muertos) por día

DÍAS	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	34	0	0,151619	X
2	34	1,2125	0,151619	X
3	34	2,45	0,151619	X
4	34	5,675	0,151619	X
5	34	6,3	0,151619	X
6	34	7,1	0,151619	X
7	34	7,6	0,151619	X
8	34	7,725	0,151619	X

Realizado por: Suarez, Y., 2022

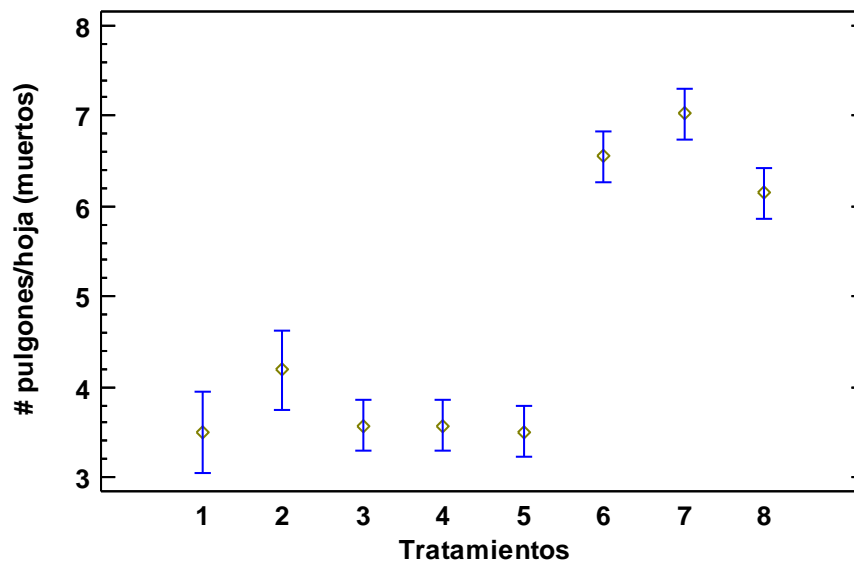


Gráfico 8-4: Prueba de medias de Tukey para tratamientos

Realizado por: Suarez, Y., 2022.

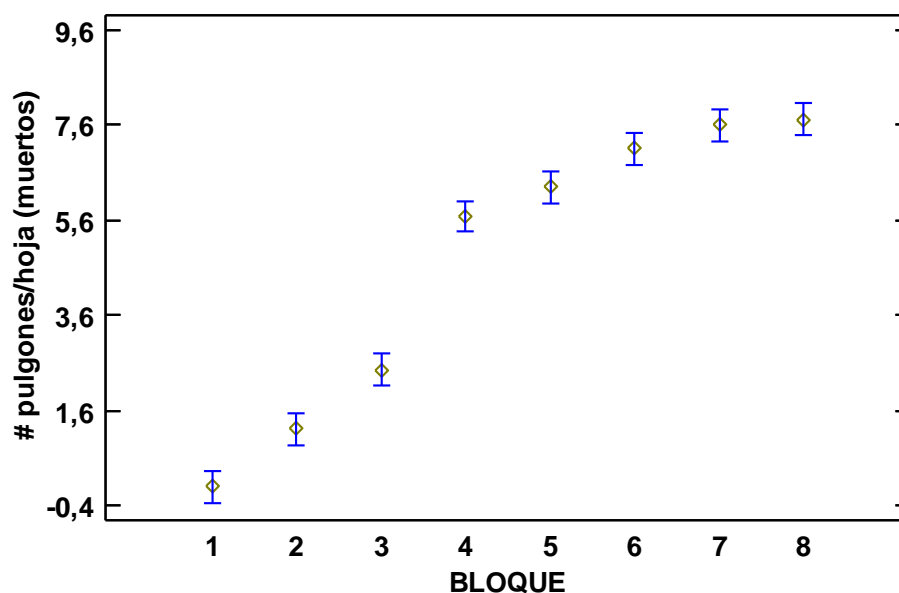


Gráfico 9-4: Prueba de medias de Tukey para bloque (días)

Realizado por: Suarez, Y., 2022.

Según (Cushnie et al., 2014, p. 18-19), los alcaloides quinolizidínicos están presentes en las especies del género *Lupinus* y actúan inhibiendo el crecimiento de hongos y bacterias. Es así que durante la experimentación se observó la eliminación progresiva de pulgón en las hojas de col al transcurso de 4 días con los tratamientos con aceite de chocho T3, T4, y T5, en comparación con el blanco positivo (Insecticida) y negativo (agua), los mismos que necesitaron más tiempo para eliminar el pulgón (gráfico 8-4).

En el tratamiento T1 con el insecticida Clorpirifós, la eliminación del pulgón fue la prevista Según la ATSDR (1997, p. 1-4), el Clorpirifós es un insecticida organofosforado para controlar plagas agrícolas, y la eliminación se dan de entre 5 a 7 días. Sin embargo, el uso de este insecticida es bastante peligroso debido a la toxicidad que presente en la salud de las personas y animales.

Adicionalmente, se pudo observar que los tratamientos con extractos alcohólicos T6, T7, T8, también presentan alta eliminación del pulgón, pero en un periodo de tiempo de 6 días mayor, en comparación con el tratamiento con aceite; Rodríguez (2013, p.83), obtuvo similares resultados al utilizar extractos alcohólicos de chocho para eliminar pulgón y moscas blancas, con un periodo de eliminación de 7 días. Cabe señalar que el uso de este tratamiento generó la producción de mayor número de pulgones durante los primeros días de la aplicación; lo cual se debe tener en cuenta para experimentos futuros. En consecuencia, el mejor tratamiento para este estudio fue el realizado con aceite esencial de chocho (T3, T4, T5) que, a pesar de producir resequead en las hojas, logró eliminar todos los individuos a los 4 días del experimento, tiempo mucho mayor en comparación a los otros tratamientos.

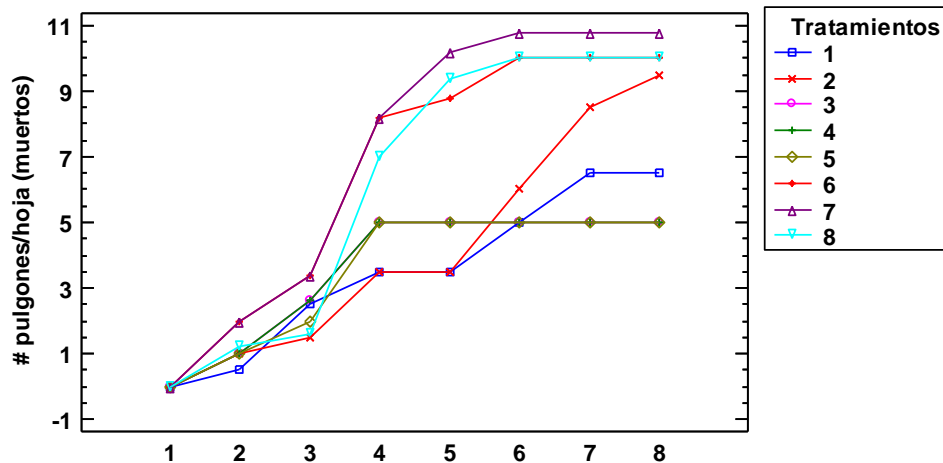


Gráfico 10-4: Comportamiento de la población de pulgones durante 8 días de análisis para cada tratamiento

Al analizar lo que sucede con la población de pulgones durante el transcurso de 8 días, se observa que dicha población va disminuyendo considerablemente en el caso del tratamiento (T1) desde el segundo día de la evaluación y conforme van transcurriendo los días se va incrementando el número de pulgones muertos, lo mismo va ocurriendo con el T2 (agua) donde existe un incremento de la población al segundo día de 5 a 10 pulgones (1 muerto). (Gráfico 10-4) En cambio el comportamiento de la población de pulgones en los tres tratamientos con aceite (T3, T4 y T5) no presenta incremento de población, la población se mantiene a 5 y luego del cuarto día la población es eliminada completamente. Pero en los tratamientos con extracto alcohólico, luego del segundo día hay un aumento de población de pulgones vivos, y al finalizar el sexto día todos los pulgones fueron eliminados. Lo que demuestra la acción plaguicida que cumplen los extractos que trabajan como bioplaguicidas en el control de pulgón.

4.3.4. Análisis de supuestos del modelo estadístico

3.4.3.1. Supuesto de normalidad – Prueba de Kolmogórov-Smirnov

H_0 = Los datos siguen una distribución normal

H_1 = Los datos no siguen una distribución normal

Tabla 7-4: Prueba de Kolmogórov-Smirnov

	Normal
DMAS	0,178468
DMENOS	0,104621
DN	0,178468
Valor-P	5,97171E-8

Realizado por: Suarez, Y., 2022.

Dado que el experimento presenta más de 50 muestras se utilizó la prueba de Kolmogórov-Smirnov para comprobar si los datos provienen de una distribución normal. La tabla 7-4 muestra un valor-P igual a 5,97171E-8 menor a 0,05, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula H_0 a favor de la alternativa H_1 . Los datos no siguen una distribución normal, debido a que es un DBCA desbalanceado, puede presentar errores durante el proceso de muestreo; además de que luego del segundo día en los tratamientos T1, T6, T7, T8 presentaron aumento de la población inicial de 5 a 10 *Brevicoryne brassicae*, lo cual genero un error al estimar el número de *Brevicoryne brassicae* luego de la adición del alcaloide.

Tabla 8-4: Resumen de la distribución de Johnson para los datos experimentales

Normal	Johnson SB
mean = 4,91912	Forma 1 = 0,306573
Desviación estándar = 3,57328	Localización = -0,0364754
	Forma 2 = 0,466072
	Escala = 12,1713

Realizado por: Suarez, Y., 2022.

Tabla 9-4: Prueba de Kolmogorov-Smirnov para la distribución normal y Johnson sobre # pulgón/hoja (muertos)

	Normal	Johnson
Valor-P	5,97171E-8	0,595603

Realizado por: Suarez, Y., 2022.

Por lo tanto, fue necesario transformar los datos a una distribución normal usando distribuciones de Johnson, mismas que son una familia de distribuciones capaces de ajustarse con cualquier combinación de medias, varianza, asimetría o sesgo y curtosis, y se calculan los valores críticos y el área bajo la curva de la región crítica generando números aleatorios (Melo M, et al 2020, p. 250). Una vez ajustado los valores experimentales a la distribución de Johnson se pudo observar que los datos si siguen una distribución normal de Johnson acotada (SB). En la tabla 8-4 se muestra el resumen del modelo. Luego, se realizó la prueba de Kolmogórov-Smirnov (tabla 9-4) donde se observa que el valor-P es mayor a 0,05, aceptando la hipótesis nula, es decir, los datos experimentales si siguen una distribución normal. El gráfico 8-4 muestra que los datos experimentales se ajustan a la distribución de Johnson validando el modelo estadístico.

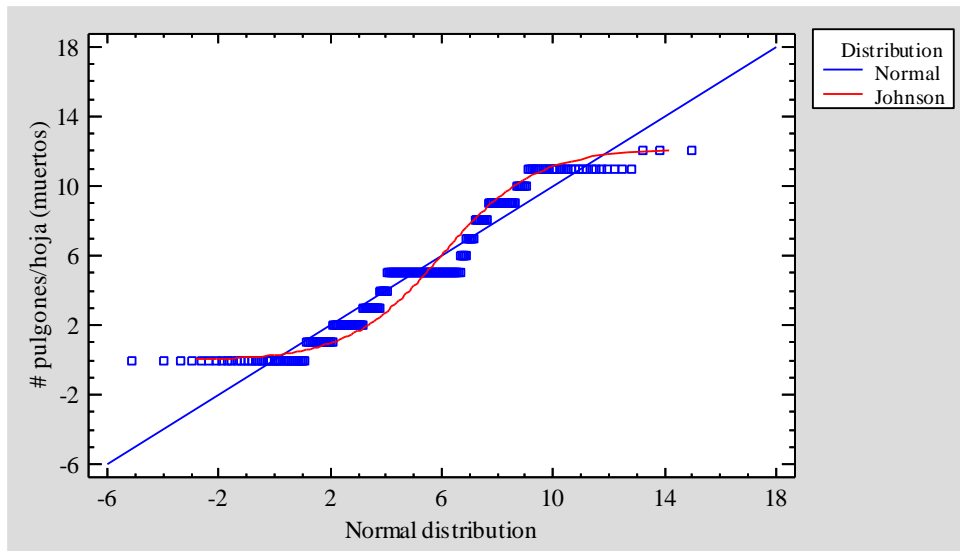


Gráfico 11-4: Distribución Normal y Johnson para # pulgones muertos/hoja
 Realizado por: Suarez, Y., 2022.

4.4.3.2. Supuesto de homogeneidad – Prueba de Bartlet

A partir del gráfico 11-4 se observa que las varianzas no presentan homogeneidad para cada uno de los tratamientos, por tanto, las desviaciones estándar para cada tratamiento son estadísticamente significativas. Dicha información fue comprobada al realizar la prueba de Bartlet donde se obtuvo un valor-P menor a 0,05, como se muestra en la tabla 10-4,

Tabla 10-4: Prueba de Bartlet para tratamientos

	Test	Valor-P
Bartlett's	219,576	0,000

Realizado por: Suarez, Y., 2022.

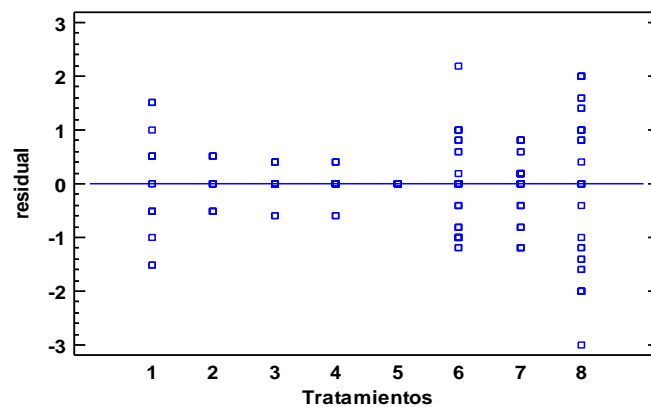


Gráfico 12-4: Prueba de homogeneidad para los tratamientos

Realizado por: Suarez, Y., 2022.

4.4.3.3. Supuesto de independencia

$H_0 =$ No existe correlación en serie

$H_1 =$ Existe correlación en serie

El estadístico de Durbin-Watson (DW) estudia los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos. Debido a que el valor-P es mayor que 5,0 % se acepta la hipótesis H_0 , dado que no existe correlación serial al nivel de significancia del 95 %, Los resultados se muestran en el gráfico 12-4.

Tabla 11-4: Prueba Durbin-Watson para tratamientos

Prueba	
Durbin-Watson	1,42545

Realizado por: Suarez, Y., 2022

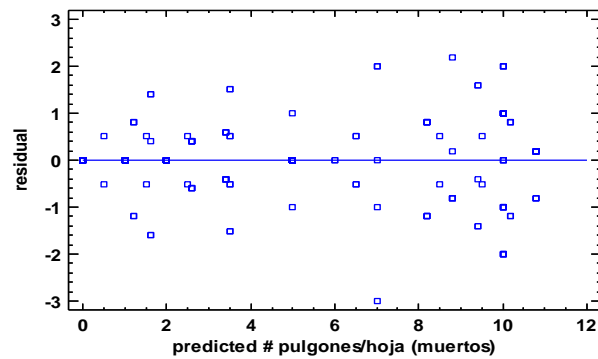


Gráfico 13-4: Residuos vs predichos para los tratamientos

Realizado por: Suarez, Y., 2022.

CONCLUSIONES

- Se obtuvieron alcaloides a partir de la planta de *Lupinus mutabilis* mediante extracción por arrastre de vapor y el método Soxhlet en cultivos hortícolas. Métodos que fueron evaluados en base al rendimiento de alcaloides obtenidos. Donde el mayor rendimiento se obtuvo por el método Soxhlet con un 5,42 %, gracias a que durante el proceso de extracción el método presentó menor pérdida de materia prima y el tiempo de extracción fue menor.
- Los extractos de las plantas de chocho (*Lupinus mutabilis*) fueron caracterizados mediante cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas, donde se observaron los principales alcaloides presentes en las muestras verificando que efectivamente existe la presencia de alcaloides quinolizidínicos. Alcaloides que brindan las propiedades características de amargor del chocho y sirven de defensa contra amenazas externas, pudiendo usarlos como bioplaguicidas en este caso.
- A partir de los datos obtenidos del diseño experimental y el análisis de varianza efectuado se comprobó que tanto los tratamientos como el tiempo de estudio son factores significativos para la eliminación de pulgón, y la mejor concentración que proporcionó mayor efecto de eliminación contra el pulgón (*Brevicoryne brassicae*) fue del 5 % y 10 % tanto para los tratamientos con aceite esencial como con los extractos alcohólicos obteniendo 5 y 10.8 pulgones muerto/hoja, respectivamente.
- Así mismo se pudo evidenciar que el mayor efecto de control del pulgón (*Brevicoryne brassicae*) del invernadero de GDETERRA de Horticultura de la ESPOCH, se dio con los tratamientos con aceite esencial gracias a que se produjo la eliminación total del pulgón a los 4 días de aplicación, sin replicación alguna de la misma. Sin embargo, el tratamiento con extracto alcohólico también presentó eliminación total de pulgón en las hojas de col a los 6 días del experimento, pero con la desventaja de posible multiplicación de pulgón a los primeros días de aplicación.

RECOMENDACIONES

- Es recomendable que durante el proceso de extracción tanto por el método de arrastre de vapor como el método Soxhlet, la muestra sea preparada previamente, ya que de esta manera el rendimiento de alcaloides presentes en la muestra sería mayor. Es indispensable buscar nuevas técnicas de extracción de alcaloides que garanticen la extracción de mayor concentración de compuestos activos responsables de las propiedades antimicrobianas en las plantas
- De acuerdo con el presente trabajo de investigación, se recomienda el uso de alcaloides del chocho como alternativa de control natural de plagas ya que no presente impacto ambiental alguno en comparación de otros plaguicidas comerciales que son altamente tóxicos.
- Se recomienda hacer otros estudios para determinar si los extractos de chocho presentan efecto en el control de otras plagas hortícolas. además de realizar estudios sobre la eficiencia del bioplaguicida mezclando dos o tres plantas como ají, ajo, etc., que gracias a estudios previos presentan altas concentraciones de alcaloides en su composición

GLOSARIO

A

Aleopático

se define como la influencia directa de un compuesto químico liberado por una planta sobre el desarrollo y crecimiento de otra planta., 34

Anti alimentario

Producto que induce a los insectos a detener su alimentación a corto plazo., 3

Antioxidante

Sustancia que impide la formación de óxidos., 6

F

Fitosanitarios

Perteneciente o relativo a la prevención y curación de las enfermedades de las plantas., 1

Fluido supercrítico

es cualquier sustancia que se encuentre en condiciones de presión y temperatura superiores a su punto crítico, lo que hace que se comporte como un híbrido entre un líquido y un gas, es decir, puede difundir como un gas (efusión), y disolver sustancias como un líquido (disolvente), 8

H

Hidrófobos

el término se aplica a aquellas sustancias que son repelidas por el agua o que no se pueden mezclar con ella. Un ejemplo de sustancias hidrófobas son los aceites, 9

Hidrólisis

es una reacción química en la que moléculas de agua (H₂O) se dividen en sus átomos componentes (hidrógeno y oxígeno). A su vez, en el proceso de hidrólisis, los átomos que componen las moléculas de agua pasan a formar enlaces químicos con la sustancia que reacciona con el agua. La hidrólisis es una reacción muy importante, pues el agua es el disolvente más usado mundialmente., 8

I

Índice de refracción

se define como el cociente de la velocidad de la luz cuando pasa a través de dos medios. Es un número adimensional que depende de la temperatura y de la longitud de onda de la luz., 10

L

Lábiles

Algo lábil es frágil e inestable. Esto quiere decir que puede romperse, resbalarse o desintegrarse con facilidad., 8

M

Metabolitos

Sustancia que el cuerpo elabora o usa cuando descompone los alimentos, los medicamentos o sustancias químicas, 3

P

Plaguicida

son sustancias químicas utilizadas para controlar, prevenir o destruir las plagas que afectan a las plantaciones agrícolas. La mayoría de estas sustancias son fabricadas por el hombre, por eso son llamados plaguicidas sintéticos., 1

S

Sustentabilidad

Capacidad de mantener el estado actual de un determinado proceso, que, en el sentido actual del término, comprende las medidas para el uso de los recursos naturales que posibiliten el menor daño durante el mayor tiempo posible, evitando así su agotamiento., 3

T

Terpenoides

son una vasta y diversa clase de compuestos orgánicos similares a los terpenos, 9

V

Volátiles

En el terreno de la física y de la química, se califica como volátil a la sustancia que tiene predisposición para convertirse en vapor, modificando su estado. Dicho de otro modo, el elemento volátil tiene tendencia a evaporarse.,

BIBLIOGRAFÍA

- ATSDR, 1997. Resumen de Salud Pública: Clorpirifos (Chlorpyrifos) | PHS |. *División de Toxicología y Medicina Ambiental* [en línea]. [Consulta: 9 septiembre 2022]. Disponible en: https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs84.html.
- BALASUNDRAM, N., SUNDRAM, K. y SAMMAN, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* [en línea], vol. 99, no. 1, pp. 191–203. [Consulta: 6 septiembre 2022]. ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/J.FOODCHEM.2005.07.042. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814605006242>.
- BASSOLÉ, I.H.N. y JULIANI, H.R., 2012. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules (Basel, Switzerland)* [en línea], vol. 17, no. 4, pp. 3989–4006. [Consulta: 6 septiembre 2022]. ISSN 1420-3049. DOI 10.3390/MOLECULES17043989. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22469594/>.
- BASTIDAS, M., 2013. *Extracción de alcaloides quinolizidínicos del Tarwin Asistido por microondas, para aplicación como bioinsecticida de la polilla de la quinua* [en línea]. S.l.: Universidad Nacional del centro del Perú. Disponible en: https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/7432/T010_19825097_D.pdf?sequence=1.
- BOUSBIA, N., VIAN, M.A., FERHAT, M.A., MEKLATI, B.Y. y CHEMAT, F., 2009. A new process for extraction of essential oil from citrus peels: microwave hydrodiffusion and gravity. *Journal of Food Engineering* [en línea], vol. 90, no. 3, pp. 409–413. [Consulta: 6 septiembre 2022]. ISSN 02608774. DOI 10.1016/J.JFOODENG.2008.06.034. Disponible en: <https://hal.inrae.fr/hal-02666236>.
- BRECHT, A., 2004. Manejo Ecológico de Plagas y Enfermedades. *Red de Acción en plaguicidas y sus alternativas para América latina* [en línea], vol. 1, no. 1, pp. 1–36. Disponible en: http://ecotenda.net/themes/ecotenda/archivos/manual_insecticidas.pdf.
- CADENÓ V, A.A., 2011. (PDF) Manejo Integrado de plagas de insectos en hortalizas Principios y referencias técnicas para la Sierra Central de Perú. *Researchgates* [en línea], vol. 1, pp. 2–46. [Consulta: 6 septiembre 2022]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/262262604_Manejo_Integrado_de_plagas_de_insectos_en_hortalizas_Principios_y_referencias_tecnicas_para_la_Sierra_Central_de_Peru.
- CASTAÑEDA, C., MANRIQUE, M., IBAÑEZ, V., GAMARRA, C. y GALÁN, L., 2003. Evaluación del efecto antiulceroso del extracto acuoso y metanólico de las semillas de *Lupinus mutabilis* sweet (tarwi, chocho) en ratas. *Horiz. méd. (Impresa)* [en línea], vol. 1, no. 4, pp. 1–15. Disponible en: <https://www.horizontemedico.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/view/2007>.

- CELIS, Á., PACHÓN, M., CARDONA, J., DELGADO, W., CUCA, L.E. y MENDOZA, C., 2008. Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Una revisión. *Scielo* [en línea], vol. 26, no. 1, pp. 97–106. Disponible en: <http://hdl.handle.net/20.500.12324/19755>.
- CÉSPEDES CARLOS, A., 2011. Biopesticidas de origen botánico, fitoquímicos y extractos de Celastraceae, Rhamnaceae. *Redalyc* [en línea], vol. 10, no. 3, pp. 175–181. [Consulta: 6 septiembre 2022]. ISSN 0717-7917. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/856/85618379002.pdf>.
- CUSHNIE, T.P.T., CUSHNIE, B. y LAMB, A.J., 2014. Alkaloids: an overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International journal of antimicrobial agents* [en línea], vol. 44, no. 5, pp. 377–386. [Consulta: 6 septiembre 2022]. ISSN 1872-7913. DOI 10.1016/J.IJANTIMICAG.2014.06.001. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25130096/>.
- DIALLO, S., CRÉPIN, A., BARBEY, C., ORANGE, N., BURINI, J.F. y LATOUR, X., 2011. Mechanisms and recent advances in biological control mediated through the potato rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology* [en línea], vol. 75, no. 3, pp. 351–364. [Consulta: 6 septiembre 2022]. ISSN 0168-6496. DOI 10.1111/J.1574-6941.2010.01023.X. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsec/article/75/3/351/493959>.
- DUGO, G. y MONDELLO, L., 2010. *Citrus oils: Composition, advanced analytical techniques, contaminants, and biological activity* [en línea]. 1st Edició. S.l.: CRC Press. [Consulta: 6 septiembre 2022]. ISBN 9781439800294. Disponible en: <https://doi.org/10.1201/9780203216613>.
- ESPARZA-BONILLA, C.I., LEONCIO DÍAZ-MONROY, B.I. y HENRY DÍAZ-ARRIETA III, R., 2021. Elimination of biofilms by natural antimicrobials on process surfaces in the food industry Remoção de biofilme por antimicrobianos naturais em superfícies de processo na indústria de alimentos. *Polo del conocimiento* [en línea], vol. 6, no. 2, pp. 563–582. DOI 10.23857/pc.v6i2.2288. Disponible en: <http://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es>.
- FERNÁNDEZ E., 2017. *PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS* [en línea]. Quito, Ecuador: Pontificia Universidad católica del Ecuador. [Consulta: 6 septiembre 2022]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/157802875.pdf>.
- GABRIEL PAULRAJ, M., IGNACIMUTHU, S., GANDHI, M.R., SHAJAHAN, A., GANESAN, P., PACKIAM, S.M. y AL-DHABI, N.A., 2017. Comparative studies of tripolyphosphate and glutaraldehyde cross-linked chitosan-botanical pesticide nanoparticles and their agricultural applications. *International journal of biological macromolecules* [en línea], vol. 104, no. Pt B, pp. 1813–1819. [Consulta: 6 septiembre 2022]. ISSN 1879-0003.

- DOI 10.1016/J.IJBIOMAC.2017.06.043. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28602985/>.
- GUERRERO PADILLA, A.M., 2018. Manejo de plaguicidas en cultivos de Zea mays L. (Poaceae), Brassica cretica Lam. (Brassicaceae), Apium graveolens L., Coriandrum sativum L. (Apiaceae), Allium fistulosum L. (Amaryllidaceae) en la campiña de Moche, Trujillo, Perú. *Arnaldoa* [en línea], vol. 25, no. 1, pp. 159–178. [Consulta: 6 septiembre 2022]. ISSN 18158242. DOI 10.22497/ARNALDOA.251.25110. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2413-32992018000100010&script=sci_abstract&tlng=es.
- GUTIÉRREZ, M.C., DROGUET, M., CARMEN, M., BOUZÁN, G. y EN QUÍMICA, D., 2002. LA CROMATOGRAFÍA DE GASES Y LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS: IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS CAUSANTES DE MAL OLOR. *Nº*, vol. 122, pp. 35.
- HERNÁNDEZ-MORENO, D., SOFFERS, A.E.M.F., WIRATNO, FALKE, H.E., RIETJENS, I.M.C.M. y MURK, A.J., 2013. Consumer and farmer safety evaluation of application of botanical pesticides in black pepper crop protection. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* [en línea], vol. 56, pp. 483–490. [Consulta: 6 septiembre 2022]. ISSN 1873-6351. DOI 10.1016/J.FCT.2013.01.033. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23376780/>.
- HUNTER, M., 2009. *Essential Oils: Art, Agriculture, Science, Industry and Entrepreneurship: a Focus on the Asia-pacific Region* [en línea]. 1. S.l.: NOVA. [Consulta: 6 septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/260246105>.
- IEPS, 2013. Biopreparados para el manejo sostenible de plagas y enfermedades en la agricultura urbana y periurbana. *Ruaf Fundación* [en línea], vol. 1, no. 2, pp. 1–94. [Consulta: 9 septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.fao.org/3/as435s/as435s.pdf>.
- LEAHY, J., MENDELSON, M., KOUGH, J., JONES, R. y BERCKES, N., 2014. US EPA - Biopesticide Oversight and Registration at the U.S. Environmental Protection Agency. *American Chemical Society* [en línea], vol. 1, pp. 3–18. [Consulta: 6 septiembre 2022]. DOI 10.1021/bk-2014-1172.ch001. Disponible en: https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-08/documents/biopesticide-oversight-chapter_0.pdf.
- LENGAI, G.M.W., MUTHOMI, J.W. y MBEGA, E.R., 2020. Phytochemical activity and role of botanical pesticides in pest management for sustainable agricultural crop production. *Scientific African*, vol. 7. ISSN 24682276. DOI 10.1016/J.SCIAF.2019.E00239.
- LI, Y., FABIANO-TIXIER, A.-S. y CHEMAT, F., 2014. Essential Oils as Reagents in Green Chemistry. *Springer* [en línea], [Consulta: 6 septiembre 2022]. DOI 10.1007/978-3-319-08449-7. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-08449-7>.
- MEDINA LESCANO SANDRA, 2012. *TRABAJO DE INVESTIGACIÓN ESTRUCTURADO DE*

- MANERA INDEPENDIENTE PRESENTADO COMO REQUISITO PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERA AGRÓNOMA* [en línea]. Cevallos: Universidad Técnica de Ambato. [Consulta: 9 septiembre 2022]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/2218/1/Tesis-23agr.pdf>.
- MEHDIZADEH, L. y MOGHADDAM, M., 2018. Essential Oils: Biological Activity and Therapeutic Potential. *Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods* [en línea], pp. 167–179. [Consulta: 6 septiembre 2022]. DOI 10.1016/B978-0-12-814625-5.00010-8. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/324932283_Essential_Oils_Biological_Activity_and_Therapeutic_Potential.
- MELO MARTÍNEZ, O.O., LÓPEZ PÉREZ, L.A. y MELO MARTÍNEZ, S.E., 2020. Diseño de experimentos : métodos y aplicaciones. *Diseño de experimentos : métodos y aplicaciones*, DOI 10.36385/fcbog-4-0.
- MENCHACA JALAKORI, A.D., 2013. *Determinacion de la eficiencia de la aplicacion de tres insecticidas naturales en el control de afidos en el alamo (Populus spp.) en la plaza de la mujer de la zona sur de la ciudad de La Paz* [en línea]. Bolivia, La pAZ: Universidad Mayor de San Andrés. [Consulta: 6 septiembre 2022]. Disponible en: <http://repositorio.umsa.bo/xmlui/handle/123456789/13404>.
- MIGUEL, M.G., 2010. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review. *Molecules* [en línea], vol. 15, no. 12, pp. 9287. [Consulta: 6 septiembre 2022]. ISSN 14203049. DOI 10.3390/MOLECULES15129252. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6259136/>.
- MOÍNA A, 2017. *ACTUALIZACIÓN DEL PLAN DE MOVILIDAD SOSTENIBLE DE LA ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO (ESPOCH)*. [en línea]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. [Consulta: 9 septiembre 2022]. Disponible en: <https://docplayer.es/69188914-Trabajo-de-titulacion.html>.
- NAVARRETE PARRA, M.V., 2010. “*Extracción , Refinación , y Caracterización Fisico Química y Nutraceutica del Aceite de Chocho (Lupinus mutabilis sweet)*” [en línea]. S.l.: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/731>.
- PAULKUMAR, K., GNANAJOBITHA, G., VANAJA, M., RAJESHKUMAR, S., MALARKODI, C., PANDIAN, K. y ANNADURAI, G., 2014. Piper nigrum leaf and stem assisted green synthesis of silver nanoparticles and evaluation of its antibacterial activity against agricultural plant pathogens. *The Scientific World Journal* [en línea], vol. 2014, pp. 1–9. [Consulta: 6 septiembre 2022]. ISSN 1537744X. DOI 10.1155/2014/829894. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2014/829894/>.
- PÉREZ, M.A., SEGURA, A., GARCÍA, R., COLINAS, T., PÉREZ, M., VÁZQUEZ, A. y

- NAVARRO, H., 2009. RESIDUOS DE PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN CABEZUELA DE BRÓCOLI (*Brassica oleracea*) DETERMINADOS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* [en línea], vol. 25, no. 2, pp. 103–110. [Consulta: 6 septiembre 2022]. ISSN 0188-4999. Disponible en: <https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/21587>.
- RODRIGUEZ A., 2021. *Aceites esenciales de la flora canaria como biopesticidas en el manejo integral* [en línea]. España: Universidad de La Laguna. [Consulta: 6 septiembre 2022]. Disponible en: [https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/25197/Aceites esenciales de la flora canaria como biopesticidas en el manejo integral de plagas.pdf?sequence=1](https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/25197/Aceites%20esenciales%20de%20la%20flora%20canaria%20como%20biopesticidas%20en%20el%20manejo%20integral%20de%20plagas.pdf?sequence=1).
- RODRÍGUEZ ADRIANA, 2009. *Rodríguez, A. (2009). Evaluación “in vitro” de la Actividad Antimicrobiana de los Alcaloides del Agua de Cocción del Proceso de Desamargado del Chocho (Lupinus mutabilis Sweet)*. [en línea]. S.l.: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. [Consulta: 6 septiembre 2022]. Disponible en: <http://dspace.esoch.edu.ec/handle/123456789/219>.
- SINAGAP, 2014. TALLER EN EL USO DE HERRAMIENTAS ESTADÍSTICAS Y GEOGRÁFICAS DEL SISTEMA DE INFORMACIÓN DE AGRICULTURA, GANADERÍA, ACUACULTURA Y PESCA – SINAGAP. [en línea]. Disponible en: <http://sinagap.agricultura.gob.ec/phocadownloadpap/cultivo/2014/cboletin-situacional-brocoli-2014-actualizado.pdf>.
- STRATAKOS, A.C. y KOIDIS, A., 2015. Methods for Extracting Essential Oils. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* [en línea], vol. 6, no. 2, pp. 31–38. [Consulta: 6 septiembre 2022]. DOI 10.1016/B978-0-12-416641-7.00004-3. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00004-3>.
- TISSERAND, R. y YOUNG, R., 2013. *Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals: Second Edition* [en línea]. 2nd Edició. S.l.: Elsevier Inc. [Consulta: 6 septiembre 2022]. ISBN 9780443062414. Disponible en: <https://www.elsevier.com/books/essential-oil-safety/tisserand/978-0-443-06241-4>.
- TSCHOEKE, P.H., OLIVEIRA, E.E., DALCIN, M.S., SILVEIRA-TSCHOEKE, M.C.A.C., SARMENTO, R.A. y SANTOS, G.R., 2019. Botanical and synthetic pesticides alter the flower visitation rates of pollinator bees in Neotropical melon fields. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)* [en línea], vol. 251, pp. 591–599. [Consulta: 6 septiembre 2022]. ISSN 1873-6424. DOI 10.1016/J.ENVPOL.2019.04.133. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31108292/>.
- VALENCIA M, 2018. *Métodos de extracción de aceite esencial* [en línea]. Guatemala: Universidad Rafael Landívar. [Consulta: 9 septiembre 2022]. Disponible en: <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjrkd/2018/06/17/Valencia-Maylin.pdf>.
- VILLACRÉS, E., PERALTA I, E., CUADRADO, L., REVELO, J., ADDO, S. y ALDAZ

- BERRONES, R.F., 2009. Propiedades y aplicaciones de los alcaloides del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet). *INIAP* [en línea], [Consulta: 6 septiembre 2022]. Disponible en: <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/453>.
- XIONG, X., YAO, M., FU, L., MA, Z. qing y ZHANG, X., 2016. The botanical pesticide derived from *Sophora flavescens* for controlling insect pests can also improve growth and development of tomato plants. *Industrial Crops and Products* [en línea], vol. 92, pp. 13–18. [Consulta: 6 septiembre 2022]. ISSN 09266690. DOI 10.1016/J.INDCROP.2016.07.043. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/306417977_The_botanical_pesticide_derived_from_Sophora_flavescens_for_controlling_insect_pests_can_also_improve_growth_and_development_of_tomato_plants.

ANEXOS

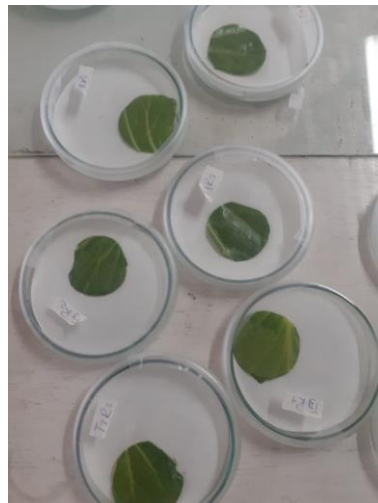
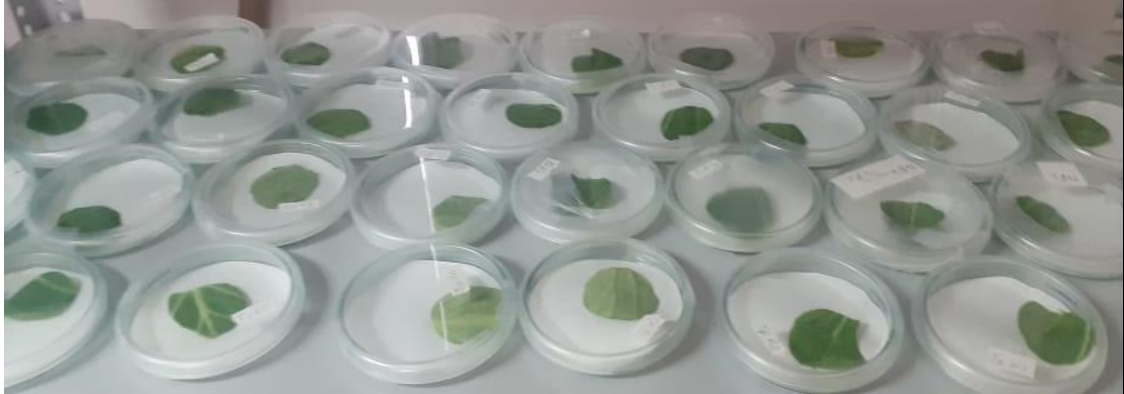
ANEXO A: PLANTA DE COL CON PULGONES

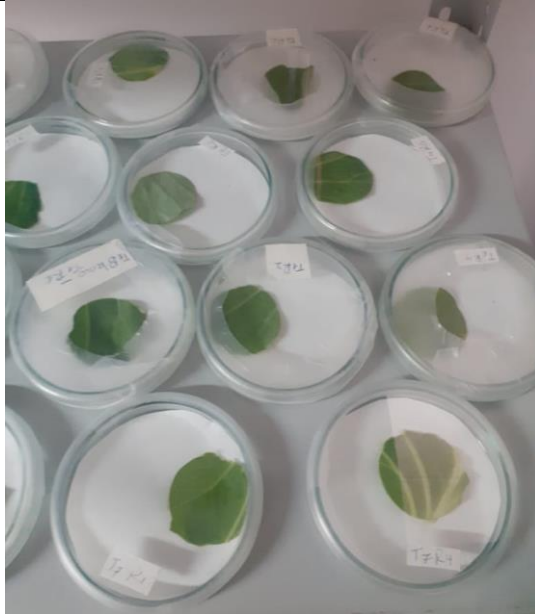


Planta de col con pulgones

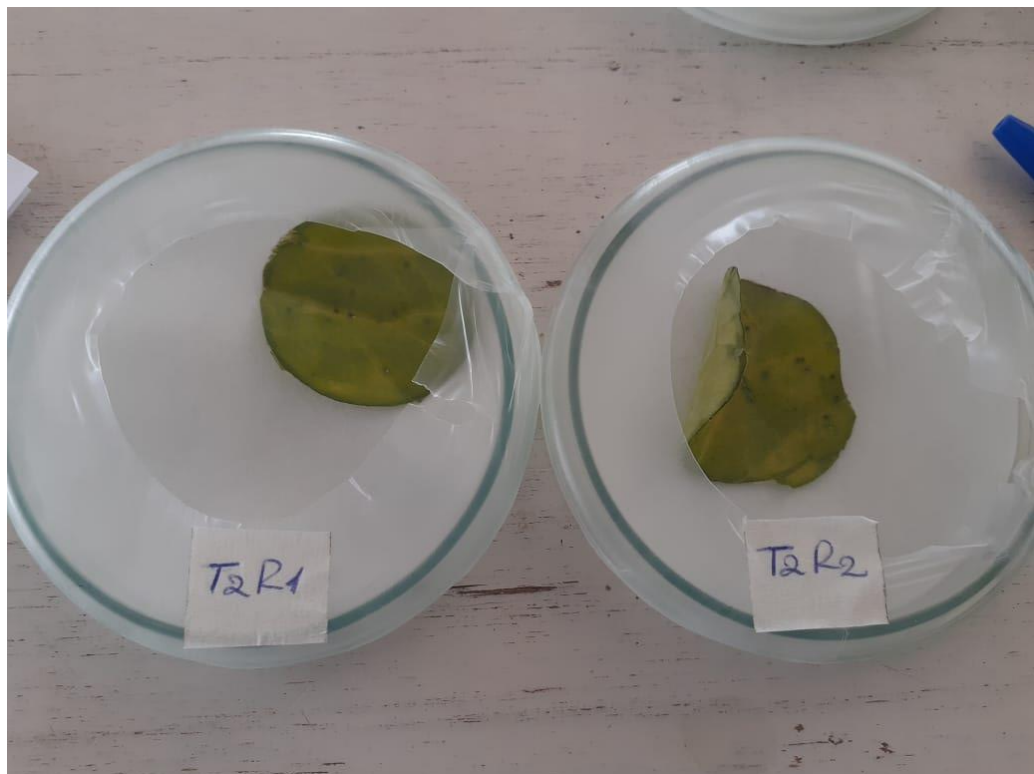
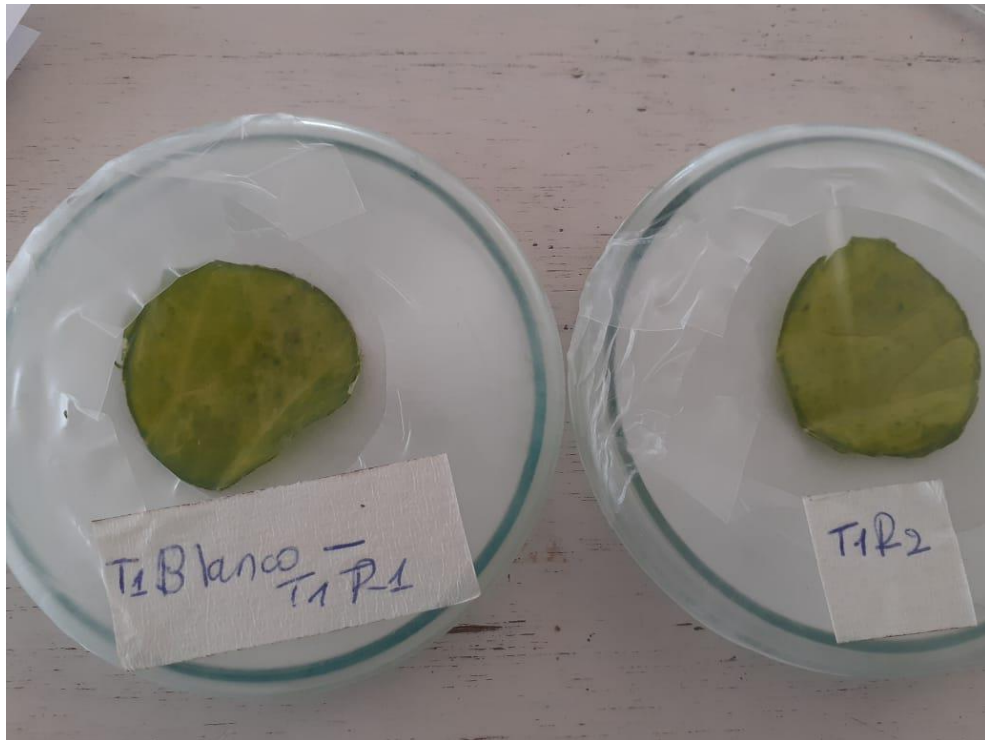
ANEXO B: DIA 1 DE EXPERIMENTACIÓN

DIA 1

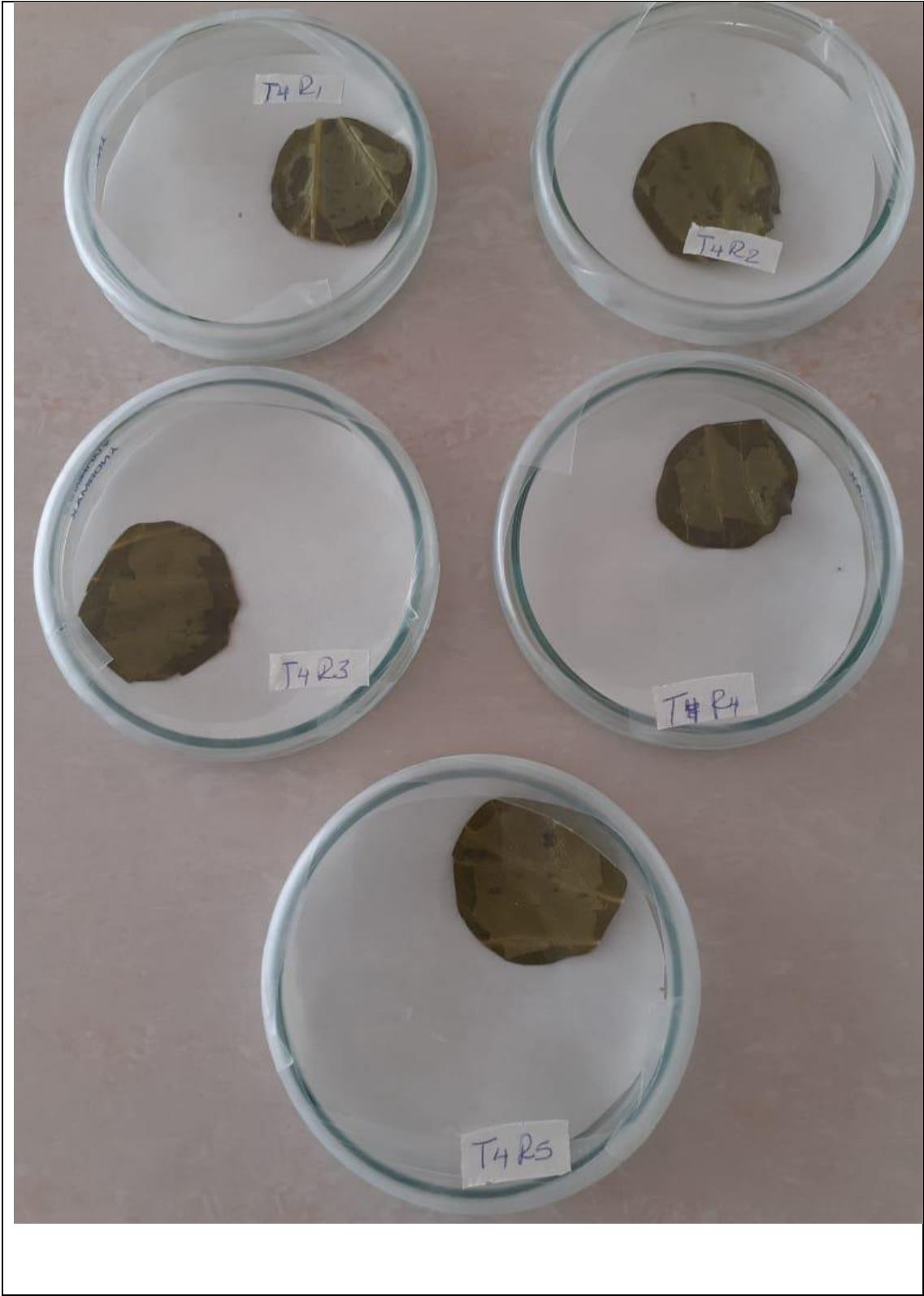




ANEXO C: MUESTRAS DE LOS TRATAMIENTOS EN ESTUDIO



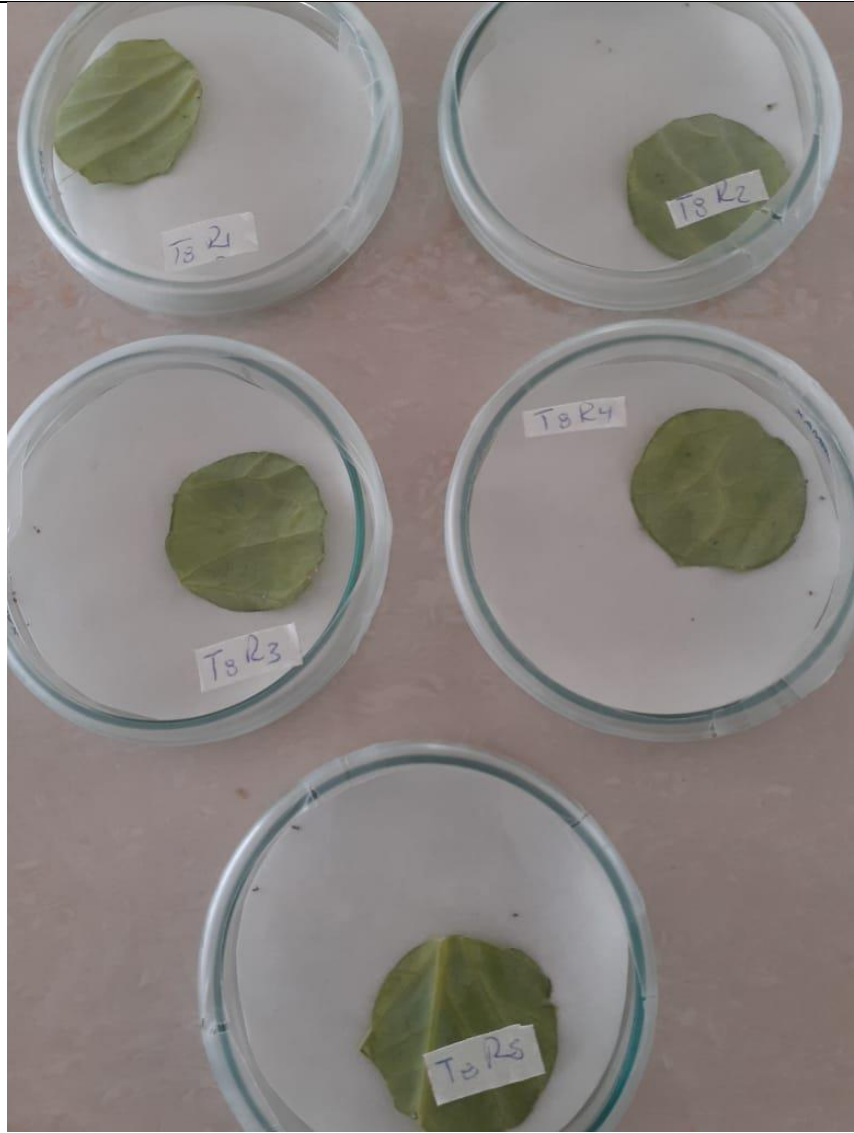












ANEXO D: RESULTADOS DE LA TOMA DE MUESTRAS PARA CADA TRATAMIENTO

TRATAMIENTOS	POBLACION	DIA	DIA	DIA	DIA	DIA	DIA	DIA	DIA
		1	2	3	4	5	6	7	8
T1R1	VIVOS	5	8	5	4	4	2	0	0
	MUERTOS		1	3	2	2	4	6	6
T1R2	VIVOS	5	8	5	2	2	1	0	0
	MUERTOS		0	2	5	5	6	7	7
T2R1	VIVOS	5	4	6	6	6	4	1	0
	MUERTOS		1	1	4	4	6	9	10
T2R2	VIVOS	5	4	6	6	6	3	1	0
	MUERTOS		1	2	3	3	6	8	9
T3R1	VIVOS	5	4	2	0	0	0	0	0
	MUERTOS		1	3	5	5	5	5	5
T3R2	VIVOS	5	4	2	0	0	0	0	0
	MUERTOS		1	3	5	5	5	5	5
T3R3	VIVOS	5	4	2	0	0	0	0	0
	MUERTOS		1	3	5	5	5	5	5
T3R4	VIVOS	5	4	2	0	0	0	0	0
	MUERTOS		1	2	5	5	5	5	5
T3R5	VIVOS	5	4	3	0	0	0	0	0
	MUERTOS		1	2	5	5	5	5	5
T4R1	VIVOS	5	4	3	0	0	0	0	0
	MUERTOS		1	2	5	5	5	5	5
T4R2	VIVOS	5	4	3	0	0	0	0	0
	MUERTOS		1	2	5	5	5	5	5
T4R3	VIVOS	5	4	2	0	0	0	0	0
	MUERTOS		1	3	5	5	5	5	5
T4R4	VIVOS	5	4	2	0	0	0	0	0
	MUERTOS		1	3	5	5	5	5	5
T4R5	VIVOS	5	4	2	0	0	0	0	0
	MUERTOS		1	3	5	5	5	5	5
T5R1	VIVOS	5	4	2	0	0	0	0	0
	MUERTOS		1	2	5	5	5	5	5
T5R2	VIVOS	5	4	3	0	0	0	0	0
	MUERTOS		1	2	5	5	5	5	5
T5R3	VIVOS	5	4	3	0	0	0	0	0
	MUERTOS		1	2	5	5	5	5	5
T5R4	VIVOS	5	4	3	0	0	0	0	0
	MUERTOS		1	2	5	5	5	5	5
T5R5	VIVOS	5	4	3	0	0	0	0	0

	MUERTOS		1	2	5	5	5	5	5
T6R1	VIVOS	5	8	6	2	1	0	0	0
	MUERTOS		2	4	9	8	9	9	9
T6R2	VIVOS	5	8	7	2	1	0	0	0
	MUERTOS		2	3	9	8	9	9	9
T6R3	VIVOS	5	8	9	4	2	0	0	0
	MUERTOS		2	3	7	9	11	11	11
T6R4	VIVOS	5	8	6	3	2	0	0	0
	MUERTOS		2	4	7	8	10	10	10
T6R5	VIVOS	5	8	7	2	0	0	0	0
	MUERTOS		2	3	9	11	11	11	11
T7R1	VIVOS	5	8	9	2	0	0	0	0
	MUERTOS		2	3	9	11	11	11	11
T7R2	VIVOS	5	8	6	4	2	0	0	0
	MUERTOS		2	4	7	9	11	11	11
T7R3	VIVOS	5	8	7	3	1	0	0	0
	MUERTOS		2	3	7	9	10	10	10
T7R4	VIVOS	5	8	9	2	0	0	0	0
	MUERTOS		2	3	9	11	11	11	11
T7R5	VIVOS	5	8	6	2	0	0	0	0
	MUERTOS		2	4	9	11	11	11	11
T8R1	VIVOS	5	8	7	4	2	0	0	0
	MUERTOS		2	3	7	9	11	11	11
T8R2	VIVOS	5	8	9	3	1	0	0	0
	MUERTOS		2	3	9	11	12	12	12
T8R3	VIVOS	5	8	9	2	0	0	0	0
	MUERTOS		2	2	9	11	11	11	11
T8R4	VIVOS	5	8	8	2	0	0	0	0
	MUERTOS		0	0	6	8	8	8	8
T8R5	VIVOS	5	8	8	4	0	0	0	0
	MUERTOS		0	0	4	8	8	8	8

Realizado por: Suarez, Y., 2022

ANEXO E: PRINCIPALES OBSERVACIONES OBTENIDAS LUEGO DE APLICAR LOS ALCALOIDES DEL CHOCHO

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
DI A 1	Hojas amarillas verdosas en el centro	Hojas verdes con los bordes amarillentos	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso poca resequeda d en los extremos.	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso poca resequeda d en los extremos	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso poca resequeda d en los extremos	Hojas verdes brillantes sin resequeda d	Hojas verdes sin resequeda d	Hojas verdes sin resequeda d
DI A 2	Hojas amarillas verdosas en el centro	Hojas verdes con los bordes amarillentos	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso poca resequeda d en los extremos	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso poca resequeda d en los extremos	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso poca resequeda d en los extremos.	Hojas verdes brillantes sin resequeda d	Hojas verdes sin resequeda d	Hojas verdes sin resequeda d
DI A 3	Hojas amarillas verdosas en el centro	Hojas verdes con los bordes amarillento s	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso mayor resequeda d en los extremos.	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso mayor resequeda d en los extremos	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso mayor resequeda d en los extremos	Hojas verdes poca resequeda d	Hojas verdes poca resequeda d	Hojas verdes poca resequeda d
DI A 4	Hojas amarillas verdosas en el centro	Hojas verdes con los bordes amarillento s.	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso mayor resequeda d en los extremos y	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso mayor resequeda d en los extremos y	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso mayor resequeda d en los extremos y	Hojas verdes poca resequeda d	Hojas verdes poca resequeda d	Hojas verdes poca resequeda d

			presencia de hongos	presencia de hongos	presencia de hongos			
DI A 5	Hojas amarillas verdosas en el centro	Hojas verdes con los bordes amarillentos	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso mayor resequeada d en los extremos y presencia de hongos	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso mayor resequeada d en los extremos y presencia de hongos	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso mayor resequeada d en los extremos y presencia de hongos	Hojas verdes poca resequeada d.	Hojas verdes poca resequeada d.	Hojas verdes poca resequeada d.
DI A 6	Hojas amarillas verdosas en el centro	Hojas verdes con los bordes amarillentos	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso mayor resequeada d en los extremos y presencia de hongos	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso mayor resequeada d en los extremos y presencia de hongos	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso mayor resequeada d en los extremos y presencia de hongos	Hojas verdes poca resequeada d.	Hojas verdes poca resequeada d.	Hojas verdes poca resequeada d.
DI A 7	Hojas amarillas verdosas en el centro	Hojas verdes con los bordes amarillentos	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso mayor resequeada d en los extremos y presencia de hongos	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso mayor resequeada d en los extremos y presencia de hongos	Hojas de color amarillo-verdoso aspecto aceitoso mayor resequeada d en los extremos y presencia de hongos	Hojas verdes poca resequeada d.	Hojas verdes poca resequeada d.	Hojas verdes poca resequeada d.
DI A 8	Hojas amarillas	Hojas verdes con los bordes	Hojas de color amarillo-	Hojas de color amarillo-	Hojas de color amarillo-	Hojas verdes poca	Hojas verdes poca	Hojas verdes poca

	verdosas en el centro	amarillentos .	verdoso aspecto aceitoso mayor resequeda d en los extremos y presencia de hongos	verdoso aspecto aceitoso mayor resequeda d en los extremos y presencia de hongos	verdoso aspecto aceitoso mayor resequeda d en los extremos y presencia de hongos	resequeda d	resequeda d	resequeda d
--	-----------------------------	-------------------	---	---	---	----------------	----------------	----------------

Realizado por: Suarez, Y., 2022