

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE AGRONOMÍA



“LOS ALCALOIDES DEL TARWI (*Lupinus mutabilis* Sweet.)

Y SU USO EN EL CONTROL DE MALEZAS DE COSTA”

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERA AGRÓNOMA**

CAMILA ANDREA RAYO FLORES

LIMA – PERÚ

2020

**La UNALM es titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación
(Art. 24 – Reglamento de Propiedad Intelectual)**

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE AGRONOMIA

“LOS ALCALOIDES DEL TARWI (*Lupinus mutabilis* Sweet.)

Y SU USO EN EL CONTROL DE MALEZAS DE COSTA”

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE

INGENIERA AGRÓNOMA

Presentada por:

CAMILA ANDREA RAYO FLORES

Sustentada y Aprobada ante el siguiente jurado:

Ph. D. Jorge Ramón Castillo Valiente
PRESIDENTE

Dr. Jorge Eduardo Jiménez Dávalos
ASESOR

Ing. Mg. Sc. Jorge Tobaru Hamada
MIEMBRO

Dr. Félix Camarena Mayta
MIEMBRO

**Lima - Perú
2020**

DEDICATORIA

A mi mami Rosa, tu apoyo ha sido infinito, desde 1995 hasta hoy, gracias por enseñarme a nunca rendirme y siempre luchar por mis sueños.

A mi abuelita Celia, gracias por tanto amor y tanto apoyo.

A mis bellos ángeles, mi amado padre y mi adorado abuelito, me cuidan en cada paso que doy y sé que estarían más que orgullosos por este logro.

A mis tías Sandra y Verónica, a mi tío Franco, a mi madrina Sara y a Jarumi, por creer tanto en mí.

A mi pequeña Yadhira, quien me inspira todos los días a ser una mejor persona.

Los amo.

AGRADECIMIENTOS

A la empresa INTEROC S.A., por haber financiado este trabajo de tesis.

A mi asesor el Dr. Jorge Jiménez, por su infinita paciencia, por su guía e inmenso apoyo en todo lo que ha significado este trabajo de investigación.

Al Dr. Gastón Zolla, por su constante apoyo durante esta tesis, por todas las enseñanzas, por cada llamada de atención y por cada palabra de aliento.

A mi co-asesor Mg. Jorge Tejada, gracias por cada consejo y por todo el apoyo brindado antes y durante de la realización de esta investigación.

A los miembros de mi jurado: Dr. Félix Camarena, Mg Sc. Jorge Tobaru y Mg Sc. Jorge Castillo por sus aportes y correcciones en la redacción de esta investigación.

A mi familia, quienes fueron testigos de mis constantes sacrificios y por el enorme apoyo que me dieron día tras día hasta finalizar mi trabajo de tesis.

A Ruthy, Anait, Joao, Angelito, Dayana, Zayra, Gean Carlo, Eva, Susan, Thyphy, Corina, Anita, Evelyn, Jhon, José, Piero y Rosario por todas las experiencias compartidas y por hacer del Programa de Cereales y Granos Nativos mi segundo hogar.

A mi amigo Zully, por todo y todos los consejos, la buena vibra y ocurrencias since 2007.

A mi Pochi, por todas las noches de alojamiento, todos los abrazos y el apoyo moral.

A Marita, por siempre creer en mí y ser un emotional support siempre.

A mis amigas Nati y Andrea, por siempre estar ahí cuando más las necesitaba.

A mi madrina Sara, Yvan y Fátima, por darme un espacio para poder redactar esta tesis.

A Ana Paula, gracias infinitas por ayudarme a encontrarme y a conocerme mejor.

A mis amigas y amigos que me apoyaron durante todo el proceso de tesis.

Gracias de todo corazón, los quiero.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Objetivo general.....	2
1.2	Objetivos específicos	2
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1	GENERALIDADES DE <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet.	3
2.1.1	Situación actual del tarwi	3
2.1.2	Taxonomía	4
2.1.3	Origen y distribución geográfica	4
2.1.4	Descripción botánica	5
2.1.5	Composición química del grano	5
2.2	GENERALIDADES DE <i>Amaranthus dubius</i>	9
2.2.1	Taxonomía	9
2.2.2	Distribución	9
2.2.3	Descripción botánica	9
2.2.4	Medios de dispersión.....	9
2.2.5	Cultivos afectados.....	9
2.2.6	Prevención y control fitosanitario.....	10
2.3	GENERALIDADES DE <i>Bidens pilosa</i>	10
2.3.1	Taxonomía	10
2.3.2	Distribución	10
2.3.3	Descripción botánica	10
2.3.4	Medios de dispersión.....	11
2.3.5	Cultivos afectados.....	11
2.3.6	Prevención y control fitosanitario.....	12
2.4	GENERALIDADES DE <i>Medicago polymorpha</i>	13
2.4.1	Taxonomía	13
2.4.2	Distribución	13
2.4.3	Descripción botánica	13
2.4.4	Medios de dispersión.....	14
2.4.5	Cultivos afectados.....	14
2.4.6	Prevención y control fitosanitario.....	14

2.5	MANEJO DE MALEZAS	14
2.5.1	Impacto de las malezas	15
2.5.2	Manejo integrado de malezas	15
2.5.3	Agricultura sostenible.....	16
2.6	ALELOPATÍA.....	17
2.6.1	Modo de acción de los aleloquímicos.....	18
2.6.2	Aplicación de la alelopatía en la agricultura	19
2.6.3	Metabolitos secundarios	22
2.7	ALCALOIDES	22
2.7.1	Alcaloides quinolizidínicos (QAs)	22
2.7.2	Uso de alcaloides en la agricultura	24
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
3.1	UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO	27
3.2	MATERIAL VEGETAL	27
3.3	MATERIALES Y EQUIPOS	27
3.4	METODOLOGÍA	29
3.4.1	Pruebas de germinación.....	29
3.4.2	Obtención de harina de tarwi.....	30
3.4.3	Extracción de alcaloides	30
3.4.4	Prueba de cromatografía.....	31
3.4.5	Pruebas preliminares.....	31
3.4.6	Preparación del experimento	31
3.4.7	Análisis experimental	32
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
4.1	Germinación de la semilla:	35
4.1.1	Porcentaje de germinación.....	35
4.1.2	Curva de germinación por especie.....	37
4.2	Emergencia de la plántula.....	40
4.2.1	Longitud de radícula e hipocótilo.....	40
4.3	Prueba de cromatografía en capa fina.....	43
V.	CONCLUSIONES	45
VI.	RECOMENDACIONES	46
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
VIII.	ANEXOS	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Producción, área cultivada y rendimiento de Lupinus en el Perú en los años 2012-2017	3
Tabla 2: Comparación de la composición del tarwi, soya y frijol (g/100 g)	6
Tabla 3: Contenido de proteínas, aceites y alcaloides de 246 ecotipos de <i>L. mutabilis</i> de origen peruano (% de materia seca de semilla)	7
Tabla 4: Relación de ingredientes activos más importantes y los cultivos en los cuales están registrados en el país.....	12
Tabla 5: Principales fracciones de alcaloides del tarwi.....	23
Tabla 6: Cuadrados medios del ANVA de porcentaje de germinación, longitud de radícula y longitud de hipocótilo de las tres especies de malezas frente a la aplicación de las cinco dosis de extracto acuoso de alcaloides de <i>L. mutabilis</i>	34
Tabla 7: Prueba Tukey para la interacción de los factores Especie x Dosis para porcentaje de germinación (α al 0.05).....	35
Tabla 8: Prueba Tukey para la interacción de los factores Especie x Dosis para longitud de radícula (α al 0.05).....	41
Tabla 9: Prueba Tukey para la interacción de los factores Especie x Dosis para longitud de hipocótilo (α al 0.05)	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructura química de algunos QAs que se encuentran en los lupinos.....	23
Figura 2: Curvas de germinación de <i>A. dubius</i> acorde a las dosis aplicadas del extracto acuoso de alcaloides de <i>L. mutabilis</i>	37
Figura 3: Curva de germinación de <i>B. pilosa</i> acorde a las dosis aplicadas del extracto acuoso de alcaloides de <i>L. mutabilis</i>	38
Figura 4: Curva de germinación de <i>M. polymorpha</i> acorde a las dosis aplicadas del extracto acuoso de alcaloides de <i>L. mutabilis</i>	39
Figura 5: Cromatografía en capa fina y revelado del patrón de alcaloides quinolizidinicos mediante el uso del reactivo de Dragendorff sobre una placa de Silicagel TLC 60. La tinción color naranja indica presencia de alcaloides.....	44

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1	
Flujograma de extracción de alcaloides de <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet.....	57
ANEXO 2	
Fotografías del proceso de extracción de alcaloides de tarwi.....	58
ANEXO 3	
Análisis de variancia del porcentaje de germinación (α al 0.05).....	59
ANEXO 4	
Análisis de variancia de la longitud de radícula (α al 0.05).....	59
ANEXO 5	
Análisis de variancia de la longitud de hipocótilo (α al 0.05).....	59
ANEXO 6	
Prueba Tukey para el factor especie para % de germinación (α al 0.05).....	59
ANEXO 7	
Prueba Tukey para el factor dosis para % de germinación (α al 0.05).....	59
ANEXO 8	
Análisis de variancia para la curva de germinación de <i>A. dubius</i> (α al 0.05).....	60
ANEXO 9	
Prueba Tukey para la curva de germinación de <i>A. Dubius</i> (α al 0.05).....	60
ANEXO 10	
Análisis de variancia para la curva de germinación de <i>B. pilosa</i> (α al 0.05).....	60
ANEXO 11	
Prueba Tukey para la curva de germinación de <i>B. Pilosa</i> (α al 0.05).....	61
ANEXO 12	
Análisis de variancia para la curva de germinación de <i>M. polymorpha</i> (α al 0.05).....	61
ANEXO 13	
Prueba Tukey para la curva de germinación de <i>M. Polymorpha</i> (α al 0.05).....	61
ANEXO 14	
Prueba Tukey para el factor especie para longitud de radícula (α al 0.05).....	62
ANEXO 15	
Prueba Tukey para el factor especie para longitud de hipocótilo (α al 0.05).....	62
ANEXO 16	
Prueba Tukey para el factor dosis para longitud de radícula (α al 0.05).....	62
ANEXO 17	
Prueba Tukey para el factor dosis para longitud de hipocótilo (α al 0.05).....	62
ANEXO 18	
Efecto del extracto acuoso de <i>L. mutabilis</i> en <i>A. dubius</i>	63
ANEXO 19	
Efecto del extracto acuoso de <i>L. mutabilis</i> en <i>B. pilosa</i>	64
ANEXO 20	
Efecto del extracto acuoso de <i>L. mutabilis</i> en <i>M. polymorpha</i>	65

RESUMEN

La alelopatía es descrita como el efecto positivo o negativo que puede causar una planta en el crecimiento y desarrollo de otra, a través de la liberación de componentes químicos al ambiente. El tarwi *Lupinus mutabilis* Sweet. es una leguminosa originaria de la zona andina cuyos granos tienen alto contenido de proteínas; sin embargo, poseen sabor amargo debido a la presencia de alcaloides, éstos son metabolitos que han sido reportados como potenciales componentes aleloquímicos, cuyos usos en agricultura están siendo investigados. Se condujeron experimentos en laboratorio para determinar el efecto de 5 concentraciones (0, 1.55, 3.1, 4.65 y 6.2 mg/ml) de extracto acuoso de alcaloides del tarwi sobre la germinación y crecimiento de las plántulas *in vitro* de tres especies de malezas *Amaranthus dubius*, *Bidens pilosa* y *Medicago polymorpha*, en las cuales se evaluó el porcentaje de germinación y las longitudes de radícula e hipocótilo de las plántulas. Se observó una relación inversamente proporcional entre las dosis y ambas longitudes evaluadas para todas las especies, siendo *A. dubius* la más afectada en germinación y *M. polymorpha* en crecimiento de plántula. Se puede considerar a 4.65 mg/ml como la concentración de extracto que produce mayor reducción de la germinación y del crecimiento de plántulas.

Palabras clave: alelopatía, tarwi, malezas, alcaloides, extracto acuoso, germinación, crecimiento de plántulas.

ABSTRACT

Allelopathy is described as the positive or negative effect of one plant cause on the growing of another, which occurs through the release of chemical components to the environment. The 'tarwi' *Lupinus mutabilis* Sweet. is a native legume from the Andean region whose grains have a high protein content, however, these have a bitter taste due to the presence of alkaloids, metabolites that have been reported as allelochemical components, whose uses in agriculture are being investigated. Laboratory experiments were conducted to determine the effect of 5 concentrations (0, 1.55, 3.1, 4.65 and 6.2 mg/ml) of aqueous extract of tarwi alkaloids on the germination and growth of *in vitro* seedlings of three species of weeds; *Amaranthus dubius*, *Bidens pilosa* and *Medicago polymorpha*, in which the germination percentage, radicle and hypocotyl lengths of the seedlings were evaluated. An inversely proportional relationship between the doses and both lengths evaluated for all species was considered, having *A. dubius* germination and *M. polymorpha* seedling growth as the most affected. A 4.65 mg/ml can be considered as the extract concentration that produces significant reduction of germination and plant growth.

Key words: allelopathy, tarwi, weeds, alkaloids, aqueous extract, germination, seedling growth.

I. INTRODUCCIÓN

Gran parte de la agricultura en el Perú está centrada en la costa, es aquí donde se cultivan especies de interés que contribuyen a la seguridad alimentaria tanto nacional como mundial. Los principales cultivos en los valles son: maíz amarillo (*Zea mays*), arroz (*Oryza sativa*) y caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), mientras que en las zonas áridas, el riego tecnificado permite el desarrollo de cultivos de exportación como espárrago (*Asparagus officinalis*), palta (*Persea americana*), uva (*Vitis vinífera*) y pimiento (*Capsicum annuum*), estos cultivos ocupan una superficie de 449 878 hectáreas en todo el territorio nacional (Helfgott *et al.*, 2010; MINAGRI, 2018).

En campo, durante el establecimiento y desarrollo de los cultivos, la presencia de las malezas representa una amenaza constante para el agricultor. La interferencia de las ‘malas hierbas’ con los cultivos es la suma de competencia por agua, luz y nutrientes; generando pérdidas tanto económicas, como en calidad y rendimiento de los productos, desperdiciándose enormes cantidades de energía, sobre todo no renovable (Rodríguez, 2012). Para asegurar los mejores rendimientos y evitar pérdidas económicas, es necesario el manejo integrado de plagas, enfermedades y malezas; sin embargo, se suele abusar del control químico con el uso de herbicidas sintéticos para el caso de las malezas.

En la actualidad, la aplicación de herbicidas representa un problema importante en los sectores agrícola y salud, debido al uso indiscriminado de los productos y la mala ‘*praxis*’ durante la aplicación en campo, poniendo en riesgo tanto al aplicador como al usuario. Además, si no se cumple con el manejo integrado de malezas en campo, las malezas pueden generar resistencia o alta tolerancia a los químicos, ocasionando cuantiosas pérdidas económicas al agricultor.

Por otro lado, el comercio de productos orgánicos a nivel mundial ha tenido un crecimiento del 69% al año 2015 con respecto al 2011, conservando una tendencia a aumentar, tanto en producción como en hectáreas cultivadas (Campos *et al.*, 2017). Asimismo, el aumento constante en la conciencia pública sobre el cuidado del ambiente y la calidad de los alimentos obliga a buscar nuevos métodos de control mucho más inocuos. Dentro de este control

alternativo, encontramos a los herbicidas de origen natural cuyo principal mecanismo es la alelopatía (Weston y Duke, 2003).

El uso de herbicidas de origen natural es la herramienta fitoquímica alterna al uso de herbicidas sintéticos. Los bioherbicidas están íntimamente ligados al desarrollo de las técnicas de aislamiento e identificación de compuestos, que generalmente tienen un efecto alelopático. Esto supone una ventana para el manejo integrado de malezas en agricultura orgánica por el mínimo impacto ambiental en su elaboración y aplicación. Además, la aplicación de bioherbicidas no causa efectos adversos en la salud humana (Álvarez, 2012).

Asimismo, se potenciaría la revaloración del cultivo de tarwi (*L. mutabilis* Sweet.), que a pesar de ser una leguminosa rica en proteínas (44.3%) y aceites esenciales (16.5%), no posee un consumo muy difundido en nuestro país, probablemente por el alto contenido de alcaloides que poseen sus granos, teniendo que pasar por procesos previos como son la cocción y lavado de las semillas para su consumo. Estos alcaloides, en lugar de ser desperdiciados, pueden contribuir favorablemente a la agricultura (Tapia, 2015).

El presente trabajo presenta una alternativa al control químico de malezas en los diversos cultivos, utilizando a los alcaloides quinolizidinicos provenientes de los granos de tarwi, como agentes aleloquímicos, obteniendo un extracto acuoso que causa un efecto bioherbicida sobre las malezas aplicadas afectando sus procesos fisiológicos de manera irreversible.

1.1 Objetivo general

- Determinar el potencial fitotóxico del extracto acuoso de los alcaloides provenientes de los granos de *Lupinus mutabilis* Sweet sobre tres malezas de importancia en la costa peruana (*Amaranthus dubius*, *Bidens pilosa* y *Medicago polymorpha*).

1.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la aplicación del extracto acuoso de los alcaloides *Lupinus mutabilis* Sweet. sobre la germinación *in vitro* de *Amaranthus dubius*, *Bidens pilosa* y *Medicago polymorpha*.
- Evaluar el efecto de la aplicación del extracto acuoso de los alcaloides *Lupinus mutabilis* Sweet. sobre el crecimiento y desarrollo de plántulas de *Amaranthus dubius*, *Bidens pilosa* y *Medicago polymorpha*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 GENERALIDADES DE *Lupinus mutabilis* Sweet.

2.1.1 Situación actual del tarwi

Según FAO (2000), *Lupinus mutabilis* es la única leguminosa de grano comestible cuyo origen se enfoca en los Andes, teniendo una extensión desde Ecuador hasta Argentina, bajo diferentes sistemas de producción. Camarena *et al.* (2012) mencionan que hasta el año 2012, la superficie cosechada mundial del *Lupinus* había ido en descenso, llegando a 678 mil hectáreas en el año 2009, siendo el menor nivel registrado desde 1983. Sin embargo, en los últimos años ha ido en aumento, para el año 2016 se cultivaron alrededor de 2 millones de hectáreas con *Lupinus* en todo el mundo, de los cuales el 60% se destina a la producción de grano y el 40% a forraje y abono verde.

Según datos del MINAGRI (2017) hay incrementos paulatinos en la producción y área cultivada de *Lupinus* en nuestro país hasta el año 2016, para el año 2017 la producción cayó ligeramente dos y siete por ciento respectivamente, tal como se aprecia en la Tabla 1. La región La Libertad se ha posicionado como la mayor productora de tarwi, produciendo hasta 4681 ton en el año 2017, seguida por Cuzco (3057 ton) y Apurímac (1807 ton). Sin embargo, los mejores rendimientos se alcanzaron en la región Apurímac con 2232 kg/ha, seguidas por Huancavelica (1783 kg/ha) y Puno (1350 kg/ha).

Tabla 1: Producción, área cultivada y rendimiento de *Lupinus* en el Perú en los años 2012-2017

Año	Producción (ton)	Área cultivada (ha)	Rendimiento (ton/ha)
2012	11746	9657	1.216
2013	12042	9625	1.251
2014	12156	9537	1.274
2015	13305	10189	1.305
2016	14019	11115	1.261
2017	13783	10326	1.334

Fuente: FAOSTAT (2019) y MINAGRI (2017)

El tarwi es considerado como un recurso valioso para la seguridad alimentaria, debido a su alto valor de proteínas, grasas, vitaminas y minerales, no obstante la presencia de alcaloides constituye una desventaja para su consumo. FAO (2000), considera que las líneas de investigación que requieren ser completadas para este cultivo son la colección de germoplasma, mejoramiento genético, postcosecha e industrialización y promoción de su consumo.

2.1.2 Taxonomía

Según Camarena *et al.* (2012) la clasificación taxonómica es:

Reino: Vegetal

División: Fanerógama

Clase: Dicotiledónea

Orden: Fabales

Sub-orden: Leguminosinae

Familia: Fabaceae

Tribu: Genisteas

Género: *Lupinus*

Especie: *Lupinus mutabilis* Sweet.

Este cultivo tiene diferentes denominaciones, generalmente posee un nombre regional. En el norte de nuestro país, como en Colombia y Ecuador se conoce a *L. mutabilis* con el nombre de ‘chocho’, mientras que en la zona centro y sur de Perú toma el nombre de tarwi o tarhui en el idioma quechua, tauri en aymara al sur de Puno y en Bolivia y ‘chuchus muti’ en la zona quechua de Cochabamba. En España se lleva el nombre lupini o lupino amargo y en la zona sur, altramuza, este último nombre posiblemente de origen árabe (Jacobsen y Mujica, 2006; Tapia, 2015).

2.1.3 Origen y distribución geográfica

En la antigüedad, dos culturas, la egipcia y la andina, fueron las que dieron inicio a la domesticación y consumo de dos especies de *Lupinus*: *L. luteus* en Egipto y *L. mutabilis* en los Andes, siendo uno de los pilares en la alimentación de dichas poblaciones (Tapia, 2015).

Gross, citado por Camarena *et al.* (2012) mencionan que se deben considerar dos grandes regiones genéticas para el género *Lupinus*, siendo la primera la región del Mediterráneo, que comprende las zonas de España, Italia y Grecia, extendiéndose hasta África norte y la segunda región abarca todo el continente americano, exceptuando a la zona tropical del Amazonas. El género *Lupinus* comprende más de 300 especies, sin embargo solo cuatro son de gran importancia para la agricultura, estos son: *L. albus*, *L. angustifolius*, *L. luteus*,

provenientes de la región mediterránea, y *L. mutabilis*, proveniente de la zona andina de Ecuador, Perú y Bolivia (Yorgancilar *et al.*, 2009).

En nuestro país, la producción del lupino andino se concentra principalmente en la sierra de La Libertad, Cusco, Puno, Apurímac, Huancavelica, Huánuco, Ancash, Ayacucho, Cajamarca, Amazonas y Junín. (MINAGRI, 2017).

2.1.4 Descripción botánica

El tarwi es una especie generalmente anual, herbácea, que puede alcanzar alturas de 0.8 m hasta más de 2 m., el tamaño que alcanzan, así como la cantidad de ramas presentes, pueden variar de acuerdo a los diferentes cultivares que se puedan encontrar en las distintas zonas de cultivos (Tapia, 2015).

Como toda leguminosa, posee una raíz pivotante, vigorosa, ramificada, leñosa y poco profunda. Una de las características más resaltantes en las raíces de las leguminosas es la formación de nódulos, estas pueden presentar un gran número de bacterias de la especie *Rhizobium lupini* que a través de una simbiosis, se encargan de fijar nitrógeno atmosférico, el cual será aprovechado por el siguiente cultivo en rotación (Velasco y Valdivia, 1981).

Los tallos son gruesos, glabros y leñosos, que se ramifican a partir de un eje central en forma de un candelabro. La terminación del tallo o eje principal será una inflorescencia, bajo ésta crecerán ramas primarias muy productivas. Las hojas de tarwi son digitadas, tienen forma ovalada o lanceolada, que están compuestas por 5 a 12 folíolos, en cuya base se encuentran pequeñas hojas estipulares. El color de hojas varía entre tonos amarillos verdosos a verdes oscuros, esto dependerá del contenido de antocianina. La mayoría de flores miden de 1 a 2 cm cada una y presentan una coloración azul-purpúrea, pero pueden presentar tonalidades blancas, cremas, amarillas e incluso rosadas (Camarena *et al.*, 2012).

El fruto está constituido por una vaina, que puede contener de 5 a 12 semillas. El color de los granos es muy variable, entre blanca, gris, marrón e incluso combinaciones de estos. También presentan diferentes formas, las hay redondas, ovaladas o casi cuadrangulares, con un tamaño que va desde los 0.5 hasta 1.5 cm. Las semillas están cubiertas por un tegumento duro que puede representar hasta el 10 por ciento de su peso total (Tapia, 2015).

2.1.5 Composición química del grano

Camarena *et al.* (2012) comparan al tarwi con la soya, cultivo que es mundialmente conocido por su alto contenido de proteínas y aceites insaturados, convirtiéndolo así en uno de los seis

alimentos de mayor consumo; sin embargo, se enfatiza la importancia del tarwi debido a que contiene mayor contenido tanto de proteínas como de aceites insaturados que la soya, tal como se observa en la Tabla 2. Otros granos de leguminosas como el frijol, la arveja y la lenteja contienen entre el 18 y 25% de proteínas, mientras que los cereales como la avena, trigo y maíz apenas alcanzan 8 a 13%.

Tabla 2: Comparación de la composición del tarwi, soya y frijol (g/100 g)

Componentes (%)	Tarwi				Soya	Frijol
	Tarwi	Semilla	Cotiledón (88.97%)	Tegumento (11.03%)		
Proteína	44.3	44.87	49.22	9.39	33.4	22.0
Grasa	16.5	13.91	15.58	2.20	16.4	1.6
Carbohidratos	28.2	27.12	27.08	27.50	35.5	60.8
Fibra	7.1	8.58	2.42	58.35	5.7	4.3
Ceniza	3.3	5.52	5.89	2.55	5.5	3.6
Humedad	7.7	9.63	9.67	10.79	9.2	12.0

Fuente: Mujica y Jacobsen (2006), Morón (2005), Ortega *et al.* (2010)

Caligari *et al.* (2011) manifiestan que *Lupinus mutabilis* es la especie que presenta mayor porcentaje de grasas y proteínas en sus granos, a comparación de otros lupinus, tal como se aprecia en la Tabla 3. Se puede encontrar una correlación negativa entre proteína y aceite y una correlación positiva entre proteína y alcaloide, lo que significa que a mayor cantidad de proteína posea el grano, mayor será la cantidad de alcaloides, caso contrario del aceite (Jacobsen y Mujica, 2006).

Tanto la soya como el tarwi son leguminosas consideradas como fuentes oleaginosas debido a su contenido graso, esto ha despertado el interés por investigar más las propiedades funcionales del lupino (Suca y Suca, 2015).

Según Villacrés *et al.* (1998) los ácidos grasos insaturados son predominantes en el contenido graso de los granos de tarwi, siendo el ácido oleico (omega 9) el principal dentro de la composición, con un valor que se aproxima al 41% del total de ácidos grasos, seguido por el ácido linoléico (omega 6) con 37%.

Hatzold *et al.* (1983) destacan la importancia de la ausencia de ácido erúxico en el aceite de *L. mutabilis*, ya que este ácido es potencialmente tóxico. Algunos parientes cercanos, de origen mediterráneo, de esta especie tal como *L. angustifolius*, si poseen este ácido graso, lo cual dificulta su uso como aceite para consumo.

Tabla 3: Contenido de proteínas, aceites y alcaloides de 246 ecotipos de *L. mutabilis* de origen peruano (% de materia seca de semilla)

	Promedio	Mínimo	Máximo
Alcaloides	2.83	1.66	4.17
Proteínas	41.92	34.60	50.20
Aceites	19.85	14.30	23.60
Proteínas + Aceites	61.77	55.20	71.80

Fuente: Caligari (2011)

2.1.5.1 Sustancias antinutricionales

El tarwi es un grano con un valor nutritivo muy valioso; sin embargo, posee algunas sustancias antinutritivas que limitan su consumo directo. La presencia de alcaloides en el tarwi es limitante importante, son tóxicos y le confieren el sabor extremadamente amargo a la semilla, razón por la cual precisan de un proceso de desamargado.

Existen otras sustancias antinutritivas como inhibidores de proteasas, hemaglutininas, ácido prúsico y glucósidos cianogénicos; sin embargo, no se han encontrado presentes en cantidades significativas en el tarwi (Schoeneberger *et al.*, 1982).

2.1.5.2 Aprovechamiento del tarwi

- Alimentación

Para ser consumido, precisa del desamargado previo para eliminar sustancias amargas que pueden ser perjudiciales debido al grado de toxicidad que presentan. Este proceso se da mediante el mejoramiento genético con el desarrollo de variedades ‘dulces’ y a través de tecnologías de desamargado, que constan básicamente de cuatro etapas; hidratación, cocción, lavado y secado de grano.

Los granos desamargados de tarwi forman parte de una amplia gamma culinaria, siendo consumida de forma fresca en potajes como ‘ceviche de chocho’ muy común en la zona andina del Perú y Ecuador, en guisos, purés, sopas, postres, *snacks* y refrescos.

Según Ortega-David *et al.* (2010), el tarwi es una especie rica en proteínas y fibra, especialmente en celulosa y hemicelulosa, lo cual lo convierte en una excelente alternativa para la dieta de animales rumiantes, particularmente en bovinos. Puede ser utilizado como forraje o ensilado a manera de tortas.

- Agroindustria

La industrialización de tarwi está orientada a la obtención de tres productos, siendo estos harina, aceite y ‘leche’, los cuales tiene que provenir de granos previamente desamargados. Otros usos de la harina de tarwi en la industria, es la obtención de fideos y diferentes *snacks* dulces y salados.

- Medicina

La gran concentración de proteínas que poseen los granos, lo convierte en un buen suplemento de la carne y el alimento ideal para madres gestantes y niños. En este marco, el chocho es un potencial alimento para combatir la anemia y desnutrición en nuestro país. Jacobsen y Mujica (2006) se basaron en los conocimientos andinos de los agricultores en su investigación que señalan que el tarwi es medicinal y controla distintas enfermedades como la diabetes, males renales e incluso el mal de resaca.

Msika, citado por Camarena *et al.* (2012) señalan que la aplicación de los alcaloides de tarwi se han reportado para el tratamiento de afecciones cardíacas y como antioxidante. Además, el extracto acuoso obtenido del desamargado puede aplicarse para el control de ectoparásitos y parásitos intestinales del ganado.

- Agricultura

Jacobsen y Mujica (2006) resaltan la capacidad biocida del agua proveniente de desamargado que, gracias a los alcaloides que posee, logra controlar plagas de muchos cultivos nativos como la papa, oca, habas, entre otros; controlando pulgones, trips e incluso plagas importantes como la pulguilla saltona de la papa (*Epitrix subcrinita*), así como al gorgojo de los Andes (*Premnotripes solani*).

Los mismos autores adicionan el potencial del cultivo como materia verde y abono, incorporando plantas florecidas en suelos pobres, de esta manera, se incrementa la cantidad de materia orgánica y se mejora la estructura y retención de humedad del suelo. Además, al fijar nitrógeno atmosférico con *Rhizobium sp.*, restituye la fertilidad del suelo.

2.2 GENERALIDADES DE *Amaranthus dubius*

2.2.1 Taxonomía

Según la base de datos CABI (2018), el comúnmente llamado amaranto o yuyo recibe la siguiente clasificación taxonómica:

Reino: Plantae

Phylum: Espermatofita

Subphylum: Angiosperma

Clase: Dicotiledónea

Orden: Caryophyllales

Familia: Amaranthaceae

Género: *Amaranthus*

Especie: *Amaranthus dubius* Mart.

2.2.2 Distribución

Es una planta nativa de América del Sur, México y las Indias Occidentales, considerada invasiva en diversos países. *A. dubius* crece como maleza de cultivos anuales, plantaciones, jardines y vegetación secundaria. En nuestro país, ésta planta está clasificada como maleza nativa según la data online de Germplasm Resources Information Network (USDA-ARS, 2015).

2.2.3 Descripción botánica

Según Grubben y Dento (2004) *A. dubius* es una hierba anual, que puede alcanzar hasta los 150 cm. de altura. Posee tallos erectos y ramificados, hojas dispuestas en espiral e inflorescencias de panículas terminales y puntas axilares; panículas verdes, densas, ramificadas, sin hojas distales. Presenta flores pistiladas, compuestas de 5 tépalos oblongos de 1.5-2 mm. En cuanto a sus semillas, son de color marrón rojizo oscuro a negro, subglobosas o lenticulares, de 0,8 a 1 mm de diámetro, brillantes y lisas.

2.2.4 Medios de dispersión

Ésta y todas las especies que pertenecen al género *Amaranthus* se propagan por semilla, llegando a producir miles de pequeñas semillas por planta que poseen alto poder germinativo, éstas son dispersadas fácilmente por aire u otros agentes como aves, razón por la cual, es una maleza potencial en los campos de cultivo.

2.2.5 Cultivos afectados

Las amarantáceas como malezas están presentes en los campos de una gran variedad de cultivos. En gramíneas las encontramos frecuentemente en maíz, además es considerado una maleza frecuente en los cultivos de arroz a lo largo de Mesoamérica y América del sur

También están presentes en leguminosas como el frejol y diversas hortalizas, siendo la cebolla y alcachofa unos de los cultivos en donde se requiere un mayor control de esta maleza en nuestro país (Degiovani, 2010).

2.2.6 Prevención y control fitosanitario

La producción agrícola convencional sugiere el control de esta maleza, en los cultivos mencionados anteriormente, mediante el uso de herbicidas químicos que posean como ingredientes activos 2,4-D, atrazina, bensulfuron, butachlor, linuron, metribuzin, glifosato, metribuzin, oxadiazon, oxyfluorfen, paraquat, pendimetalina, propanil y trifluralin (CABI, 2018).

2.3 GENERALIDADES DE *Bidens pilosa*

2.3.1 Taxonomía

Según la base de datos CABI (2018), el comúnmente llamado amor seco o pega-pega recibe la siguiente clasificación taxonómica:

Reino: Plantae

Phylum: Espermatofita

Subphylum: Angiosperma

Clase: Dicotiledónea

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Bidens*

Especie: *Bidens pilosa* L.

2.3.2 Distribución

B. pilosa es nativa de la zona de América tropical, pero ahora es considerada una maleza pantropical. En la actualidad, América Latina y África oriental presentan las peores infestaciones de esta maleza, que se encuentran en cultivos, pastizales, jardines y áreas cultivadas (Grubben y Dento, 2004). En nuestro país, ésta maleza está reportada inicialmente con los trabajos de Bazan y Ochea (1974), quienes realizaron una investigación en la determinación del periodo de competencia de malezas en tomate (*Lycopersicon esculentum*) var. 'Marglobe' en la región de Lambayeque.

2.3.3 Descripción botánica

Según Grubben y Dento (2004), *B. pilosa* es una planta anual, de arquitectura erecta, puede medir desde los 20 a 150 cm. de alto. Posee una sola raíz pivotante, los tallos son cuadrados, verdes o con franjas marrones, las hojas color verde oscuro, opuestas en tallos y ramas, de 4–20 cm de largo, hasta 6 cm de ancho. Las inflorescencias están conformadas por varias

cabezuelas agrupadas en cimas corimbosas, las flores con involucre anchamente campanulado de 3 a 5 cm de largo. Las semillas denominadas aquenios, con una longitud de 5 a 12 mm de largo, con 3 aristas de color amarillo, de 1 a 3 mm de largo.

2.3.4 Medios de dispersión

Los aquenios son las unidades de dispersión de esta especie, ésta es ayudada por las aristas de la semilla, ya que se adhieren fácilmente a la piel, maquinaria, animales y ropa de las personas que transitan en campo. Además puede ser dispersada por agua y viento, mediante esta última con mucha facilidad, ya que la semilla es muy liviana.

Otro factor que la convierte en un problema en los campos de cultivo es la cantidad de semillas producidas por planta, ya que pueden llegar a ser más de 30,000 semillas altamente viables, pudiendo germinar más del 90% de semillas maduras con mucha facilidad, haciendo posible tres o cuatro generaciones por año en algunas áreas (Mitich, 1994).

2.3.5 Cultivos afectados

Esta mala hierba está reportada en diversos cultivos tanto a nivel mundial como nacional, estando presente en más de 40 países. Es considerada como maleza principal de la caña de azúcar, soya, maíz, café, té, algodón, papas, hortalizas, plátano, frijoles y cítricos en varios países de América Latina y África (Holm *et al.*, 1977). En México, Villaseñor y Espinosa (1998) la reportan además como maleza importante en avena, calabaza, fresa, manzana y sorgo. En Perú, *B. pilosa* es también considerada una maleza muy invasiva en cultivos como quinua, arroz, cebolla, esparrago, pimiento, alcachofa, anís, mandarina, palto, mango, vid y lúcumo.

En un estudio realizado en el campus de la Universidad Nacional Agraria La Molina, se identificó a *Bidens pilosa* como una de las malezas más abundantes para el cultivo de lúcumo (*Pouteria lucuma*), con una población estimada de 62,500 plantas/ha, representando aproximadamente el 40% de las malezas reportadas para el cultivo. (Castillo *et al.*, 2015)

Blanco *et al.* (1996) reportaron que *B. pilosa* redujo la biomasa, el número y el peso de las plantas y semillas de frijol. Generando una correlación negativa significativa entre la densidad de malezas y el crecimiento del frijol. A su vez, Cerna y Valdez (1987), realizaron un trabajo en el cual pudieron demostrar que la presencia de *Bidens pilosa* y *Sorghum halepense* disminuyen el rendimiento del frijol var. 'pirata 2'. A una densidad de 1,85 plantas/m² *B. pilosa* produjo una reducción del 18,75% de la producción total de frijol

mientras que 10 plantas/m² causaron una reducción del 48.9%, comprobando así que a mayor presencia de malezas en campo, menor será la producción del cultivo.

Arce *et al.* (1995) desarrollaron una investigación realizada en Argentina, en la cual se comprobó la pérdida de rendimiento en el cultivo de soya debido al aumento de la densidad (plantas/m²) de *B. pilosa*, dio como resultado una pérdida de rendimiento del 9,4% en una planta; 17.3%; en dos plantas y de cuatro a ocho plantas, 28%. Las densidades superiores a ocho plantas produjeron una pérdida de rendimiento del 43%. La competencia entre maleza-cultivo afectó principalmente el número de vainas de soya por planta.

2.3.6 Prevención y control fitosanitario

El método de control más utilizado para esta maleza es mediante el uso de herbicidas químicos, estos dependerán de la especie de cultivo asociada. En nuestro país podemos tener los siguientes químicos asociados a ciertos cultivos para el control de *B. pilosa*:

Tabla 4: Relación de ingredientes activos más importantes y los cultivos en los cuales están registrados en el país

Ingrediente activo	Cultivo asociado
2,4-D	Arroz, avena, café, caña de azúcar, cebada, maíz, sorgo, soya, trigo
Atrazina	Caña de azúcar, maíz
Glifosato	Alcachofa, arroz, café, caña de azúcar, cebolla, esparrago, mandarina, mango, palto, pimienta, vid.
Linuron	Alcachofa, anís, cebolla, frijol.
Oxyfluorfen	Ajo, alcachofa, cacao, cebolla gladiolo, mandarina, manzana.
Paraquat	Café, limón sutil, mandarina, naranja dulce, manzana, mango, vid.
Pendimethalin	Alcachofa, cebolla, esparrago, pimienta.

Fuente: SIGIA – SENASA (2019)

El control cultural es otro método para erradicar parcialmente *B. pilosa* del campo, aplicando cortes persistentes, deshierbo manual o deshierbo mecánico, en el cual se efectúan varias técnicas de manejo del suelo sobre la emergencia de las plántulas, reforzado con una aplicación de químicos siguiendo el siguiente orden: grada de discos más rodillo, grada de discos y herbicida de contacto (Blanco y Arévalo, 1991).

Otra técnica aplicada en menor proporción es la solarización del suelo, con el uso de láminas de polietileno negras y transparentes, de esta manera se evita el crecimiento de las malezas que pueden estar compitiendo con el cultivo, si bien esta técnica puede llegar a tener cierta

efectividad no se usa constantemente debido a los altos costos del material y la instalación del mismo.

2.4 GENERALIDADES DE *Medicago polymorpha*

2.4.1 Taxonomía

Según la base de datos CABI (2018), el comúnmente llamado carretilla o trébol de carretilla recibe la siguiente clasificación taxonómica:

Reino: Plantae

Phylum: Espermatofita

Subphylum: Angiosperma

Clase: Dicotiledónea

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Subfamilia: Faboideae

Género: *Medicago*

Especie: *Medicago polymorpha* L.

2.4.2 Distribución

M. polymorpha es una leguminosa originaria de Asia y de países del Mediterráneo que ha sido introducida ampliamente en todo el mundo como resultado del transporte accidental de las vainas de semillas espinosas y probablemente también de la introducción deliberada como planta forrajera. En algunos países es considerada una planta de pasto útil debido a su capacidad de fijación de nitrógeno, pero en otros se considera una maleza muy invasora. En nuestro país, ésta planta está clasificada como maleza introducida según la data online de Germplasm Resources Information Network (GRIN) del año 2013.

2.4.3 Descripción botánica

Según CABI (2018), la carretilla de trébol es una leguminosa herbácea anual que posee un hábito rastrero y ramificado. Sus tallos son débiles y alcanzan una longitud de 60-75 cm. Posee un sistema de raíces poco profundas. Las hojas son trifoliadas, como tréboles y dentadas hacia la parte superior. Las inflorescencias se producen al final de los tallos. Las flores son de color amarillo, atractivas para las mariposas y los insectos polinizadores. La fruta es una vaina espinosa, aplanada y enrollada, de unos 6-7 mm de longitud. Las vainas contienen varias semillas de color marrón en forma de riñón.

2.4.4 Medios de dispersión

Las espinas de las vainas a menudo terminan en pequeños ganchos y se adhieren a la piel, ropa o lana de animales, facilitando la dispersión de un campo a otro. Muchas veces al ser utilizado como especie forrajera, pueden ser propagados en el heno y paja para el ganado.

2.4.5 Cultivos afectados

Según Rapoport *et al.* (2009) esta especie es invasora en praderas naturales y cultivadas, se encuentra infestando cultivos de trigo y otros cereales, papa, lino, alfalfa, almácigos de tabaco y cebolla. En la zona norte de América se reporta principalmente como mala hierba en jardines, césped, áreas recreativas y pastizales mientras que en nuestro país ha sido reportada en el cultivo de quinua (Quispe, 2017).

2.4.6 Prevención y control fitosanitario

Una vez establecida, la carretilla es difícil de controlar, ya que es tolerante al glifosato, al pastoreo y a remoción mecánica. Como alternativa, se puede usar aminocyclopyrachlor, aminopyralid, chlorsulfuron, clopyralid, dicamba, hexazinone, metsulfuron, piroclam, triclopyr o 2,4-D como herbicidas para dar un control selectivo; sin embargo, para ser efectiva la erradicación el uso debe repetirse anualmente durante varios años. Como medida preventiva en zonas de cultivo, se recomienda la técnica de solarización y labranza del suelo y en zonas de césped se recomienda tener un buen manejo de la misma para evitar la aparición del trébol de carretilla (Western Australian Herbarium, 2013; DiTomasso, 2013).

2.5 MANEJO DE MALEZAS

La incidencia nociva de las plantas indeseables, también conocidas como malezas o malas hierbas, es uno de los mayores obstáculos a la producción agrícola del mundo. Según la PSU (2009), existen ciertas características asociadas a la supervivencia de las malezas, siendo estas la abundante reproducción, latencia y supervivencia de semillas, rápido establecimiento en campo de la población, eficientes mecanismos de dispersión y la capacidad para ocupar lugares perturbados por actividades humanas.

Las malezas son un problema principalmente por reducir los rendimientos de los cultivos por competencia de luz, agua, nutrientes del suelo y espacio, mientras más similares son los requerimientos del cultivo y la maleza, mayor será la competencia por estos recursos. Bajo esta premisa es importante el momento en el que ocurre la competencia cultivo-maleza, para ello se ha establecido un periodo crítico, que expresa el tiempo en el que los efectos de competencia ocasionan mermas agrícolas y económicas significativas. De esta manera, las

malezas que se eliminan antes del establecimiento del cultivo o que emergen tiempo después de la misma generan pérdidas de rendimientos poco relevantes (Frick y Johnson, 2002).

Otros problemas asociados con malezas en agricultura incluyen la reducción de la calidad del cultivo principal por contaminación, obstrucción en el proceso de cosecha, ser plantas hospederas de enfermedades y plagas de cultivos y la producción de sustancias químicas o exudados que son tóxicas para las plantas cultivadas (alelopatía), animales o humanos (PSU, 2009).

2.5.1 Impacto de las malezas

Parker y Fryer citados por Labrada *et al.* (1996) señalaron que las pérdidas anuales causadas por las malezas en la agricultura de los países en desarrollo han sido estimadas en 125 millones de toneladas de alimentos, además, los costos de producción de cultivos se elevan debido al uso de herbicidas, maquinaria y mano de obra para el control de malezas. De igual manera, indicó que el daño de estas plagas puede ser del orden de un 5 a 10% de las cosechas en los países desarrollados, mientras que en los países en desarrollo las pérdidas pueden ser superiores al 20 a 30% de la producción. El gobierno australiano estimó que las malezas cuestan a los agricultores australianos alrededor de \$1.5 billones al año en actividades de control de malezas y otros \$2.5 billones al año en producción agrícola perdida.

2.5.2 Manejo integrado de malezas

Se ha optado por desarrollar un manejo integrado de malezas (MIM), considerando a las malezas como una plaga importante en los campos de cultivo. Según Labrada *et al.* (1996) existen diferentes métodos para el control de las malezas o para reducir su infestación a un determinado nivel, siendo estos:

- Métodos preventivos, incluyendo los procedimientos de cuarentena para prevenir la introducción de una maleza exótica a un territorio particular.
- Métodos físicos: arranque manual, escarda con azada, corte con machete u otra herramienta y labores de cultivo.
- Métodos culturales: rotación de cultivos, preparación del terreno, uso de variedades competitivas, distancia de siembra o plantación, cultivos intercalados o policultivo, cobertura viva de cultivos, acolchado y manejo de agua.
- Control químico a través del uso de herbicidas.
- Control biológico a través del uso de enemigos naturales específicos para el control de especies de malezas.

- Otros métodos no convencionales como la solarización del suelo.

De acuerdo con Bedmar (2015) la elección para un buen método de control dependen de muchos factores como un diagnóstico e identificación de las especies en campo, los recursos económicos disponibles, el acceso a los implementos, entre otros.

Uno de los métodos más utilizados mundialmente es el control químico; sin embargo, presenta dos grandes inconvenientes, el primero es la resistencia que ciertas malezas han conferido a algunos productos químicos, haciendo que el control sea más difícil y costoso, y el segundo es el impacto ambiental negativo que ha tenido, tanto en el ambiente como en la salud de los agricultores y consumidores, ya que mucho de estos productos son altamente tóxicos. En la actualidad, se vienen implementando nuevas alternativas al control químico, tales como el uso de bioherbicidas o herbicidas sintetizados a partir de extractos de plantas, que, acompañados de un apropiado manejo integrado pueden llegar a tener una buena eficiencia en el control.

2.5.3 Agricultura sostenible

Según Senerman *et al.* (2016) el sector agrícola enfrenta diversos desafíos a nivel global en la actualidad, tales como aumentar su productividad para cubrir la creciente demanda de alimentos, mejorar su efectividad en el uso de los recursos naturales, adaptarse al cambio climático y causar un impacto positivo al medio ambiente y a la sociedad. Es por ello, que surge la necesidad de desarrollar una actividad que implique protección al medio ambiente, la equidad social y la viabilidad económica, en suma, una agricultura sustentable.

Labrada *et al.* (1996) indican que el uso indiscriminado de pesticidas, ha tenido un impacto negativo sobre el ambiente, la salud de los agricultores y consumidores, los costos de producción, el balance ecológico de las poblaciones de plagas y la resistencia a los químicos que han presentado tanto plagas como malezas. Pareja citado por Gamboa y Pohlen (1997) menciona que el control químico no debe ser el centro del manejo integrado, sino formar parte de un sistema que incluya otros métodos que en conjunto logren mitigar o disminuir el daño por malezas.

Para un apropiado manejo de malezas, en una agricultura sostenible, es necesario conocer la biología de las malezas. Estos estudios establecen la base para conocer mejor sus poblaciones, crecimiento y desarrollo, fenología, interacciones con el agroecosistema, interferencia con los cultivos y alelopatía. Teniendo esta información, es más sencillo elegir la estrategia de manejo integrado que se adecua tanto a la maleza como al cultivo asociado.

Roig *et al.*, (2017) realizaron un ensayo con diferentes productos herbicidas alternativos y aplicables en agricultura ecológica, siendo estos vinagre al 6% de ácido acético pulverizado directamente a 300 l/ha y 600 l/ha, ácido tartárico al 10% y al 30% a 300 l/ha, dos soluciones de urea al 20% y al 40% a 300 l/ha y cloruro potásico al 10% y del 30% a 300 l/ha. Estos tratamientos se compararon con un testigo sin tratar, y con glifosato del 36% a 1/ha y a 2 l/ha de producto comercial. Como resultado obtuvo un control parcial de las malezas con todas las sustancias mencionadas, siendo la dosis alta del vinagre, la urea y el cloruro de potasio los que más se acercaban en eficiencia al control con glifosato.

De la misma manera, Smith-Fiola y Gill (2017) consideran una alternativa al uso de glifosato al vinagre (ácido acético), considerándolo como herbicidas de contacto, no sistémicos. Por lo general, funcionan quemando el follaje de las plantas, pero solo aquel que entra en contacto con el producto y no teniendo actividad residual en aquellas que emergen después de la aplicación, causando un efecto de quemado a corto plazo. Sin embargo, estas malezas requieren múltiples tratamientos y mayores volúmenes del mismo para un control aceptable. También hace mención a los herbicidas a base de hierro quelatado, haciendo que las hojas de las malezas se necrosen y mueran a las pocas horas de aplicación; sin embargo también precisan de una mayor cantidad de aplicaciones para un buen control.

El uso de aceites es otra alternativa viable para el control de malezas. Marshall (2015) menciona a los herbicidas hechos a base de aceite de pino, estos eliminan la capa exterior de cera de la planta y la deshidratan, también reducen la viabilidad de las semillas de malezas en el suelo que entran en contacto con el rocío. Uno de los herbicidas comerciales más importantes de este tipo es BioWeed™, el cual presenta un esquema bastante sustentable.

En la actualidad, muchas tecnologías de manejo de malezas están centradas en el reemplazo de los herbicidas químicos convencionales biopesticidas, algunas veces estos son sintetizados a partir del extracto de alguna planta y cuyo principio de acción es la alelopatía, estos están generalmente direccionados al control de malezas no persistentes.

2.6 ALELOPATÍA

La palabra alelopatía deriva de dos términos, estos son *allelon* que significa “uno al otro” y *pathos* que significa “sufrir”, la International Allelopathy Society (2015) define al término como el impacto que tiene una planta sobre otra y/o su microflora y/o macrofauna asociada con la producción de aleloquímicos, éstos a menudo tienen un efecto negativo en las plantas, interfiriendo en los procesos de germinación, desarrollo o crecimiento.

Existen sustancias producidas por las plantas, microorganismos, hongos, bacterias y virus, que pueden provocar efectos, tanto negativos como positivos, sobre otros organismos, éstas se denominan aleloquímicos y en las plantas pueden estar presentes en uno o más órganos desde hojas, tallos, raíces, flores, semillas, frutos e incluso polen y rizomas (Blanco, 2006; Zeng *et al.* 2008).

La alelopatía ha sido descrita como un mecanismo de defensa especializado en plantas, permitiendo así, que éstas puedan liberar diversos metabolitos secundarios bioactivos de bajo peso molecular que al interactuar con su entorno las protegen causando un efecto perjudicial sobre otras plantas vecinas (Fernández *et al.*, 2013).

2.6.1 Modo de acción de los aleloquímicos

Uno de los desafíos actuales en la alelopatía es determinar los modos específicos de acción de los aleloquímicos en asociación con su naturaleza química y múltiples sitios objetivo en plantas. Se han diseñado varios ensayos biológicos para estudiar los efectos directos de los aleloquímicos en las plantas y evaluar su mecanismo de acción (Inderjit y Weston, 2000). Latif *et al.* (2017) refieren cinco diferentes modos de acción, que se mencionan a continuación.

2.6.1.1 Permeabilidad de membrana

Diferentes metabolitos secundarios alteran la permeabilidad celular y la función de la membrana con la exposición a concentraciones adecuadas, esto puede provocar la pérdida de contenido celular y, en consecuencia, la muerte celular por apoptosis y necrosis. Este proceso eventualmente conduce a la muerte del tejido y la pérdida de una función específica (Li *et al.*, 2010).

2.6.1.2 Captación de agua y nutrientes

Para investigar más a fondo el posible modo de acción de los aleloquímicos liberados en el ambiente, Latif *et al.*, (2017) resaltan la importancia de la función del sistema radicular de las plantas. Los aleloquímicos pueden afectar las raíces vivas y la actividad de las bombas de Na⁺/ K⁺ involucradas en la absorción de iones a través de la membrana plasmática.

2.6.1.3 Respiración

Cheng y Cheng (2015) señalan que los aleloquímicos liberados por las plantas donantes pueden afectar seriamente el crecimiento de las plantas receptoras impactando en el proceso de respiración, incluyendo la transferencia de electrones en las mitocondrias, la

absorción de oxígeno, la generación de CO₂ y la fosforilación oxidativa para la generación de ATP.

Los aleloquímicos generalmente exhiben un efecto más fuerte en el crecimiento y la germinación de las plántulas en contraste con el crecimiento de las plantas maduras, y se ha sugerido que uno de los mecanismos subyacentes de la germinación y la inhibición del crecimiento de las plántulas es a través de la interrupción frecuente de la capacidad mitocondrial para llevar a cabo la respiración (Weir *et al.*, 2004).

2.6.1.4 Fotosíntesis

Los aleloquímicos pueden influir en el proceso de la fotosíntesis interrumpiendo el flujo de electrones en los fotosistemas I y II, afectando la síntesis de pigmentos fotosintéticos o la estimulación de la descomposición de los mismos. En consecuencia, la disminución de las concentraciones de pigmentos fotosintéticos en los brotes de las plantas puede conducir a una síntesis reducida de ATP, principalmente en el fotosistema II (Cheng y Cheng, 2015; Weir *et al.*, 2004).

2.6.1.5 Síntesis de proteínas y ácidos nucleicos y regulación del crecimiento

Los aleloquímicos pueden afectar el crecimiento de las plantas vecinas atacando mecanismos reguladores que afectan el crecimiento de las plantas receptoras. Wink y Latz-Brüning, (1995) indicaron que los alcaloides alteran la intercalación de ADN, la inhibición de enzimas como la ADN polimerasa I y la transcriptasa reversa, y la inhibición de la biosíntesis de proteínas, además de la interferencia con la permeabilidad de la membrana en plantas en desarrollo. Estas se han asociado con una reducción en el crecimiento de las plantas debido a la exposición aleloquímica.

2.6.2 Aplicación de la alelopatía en la agricultura

Los principales objetivos de la investigación sobre la alelopatía incluyen la aplicación de aleloquímicos en la producción agrícola, estos implican la reducción del uso de pesticidas químicos y contaminación ambiental, y el suministro de métodos efectivos para el desarrollo sostenible de los sistemas ecológicos (Labrada, 2006).

Según Bhadoria (2018), los aleloquímicos son un sustituto adecuado de los herbicidas sintéticos porque no tienen efectos residuales o tóxicos ni son perjudiciales para el ser humano, aunque la eficacia y la especificidad de muchos de éstos son limitadas y precisan ser investigadas.

Con el propósito de identificar tecnologías limpias que tiendan a reducir el uso de herbicidas químicos, Jarma y Tirado (2004) desarrollaron una investigación para el manejo de malezas de algodón en el caribe colombiano, en el cual indican que existe potencial para obtener extractos bioherbicidas a partir de extractos obtenidos por destilación etanólica de raíces de *Gliricidia sepium*, *Cyperus rotundus* y *Crotalaria juncea* diluidas al 25, 50 y 100% de concentración, con base a la respuesta evaluadas en la preemergencia y postemergencia sobre las especies arvenses *C. rotundus*, *Amaranthus dubius*, *Ipomoea tiliacea* y *Cucumis melo*. En preemergencia, *G. sepium* registró efectos alelopáticos sobre *A. dubius* y algodón; *C. juncea* sobre *C. rotundus*, y *C. melo* fue susceptible a los tres extractos. En postemergencia, se observó que la masa seca de *I. tiliacea* se redujo considerablemente ante la aplicación de *G. sepium*. Las masas secas de *C. melo* y *C. rotundus* no fue afectada por ninguno de los extractos. *G. sepium* indujo síntomas de fitotoxicidad sobre las plántulas de algodón.

Un experimento realizado en la ciudad de Medellín, comprobó el efecto alelopático de extractos de hojas de eucalipto (*Eucalyptus robusta*) sobre la germinación y crecimiento de especies de importancia económica como fríjol, maíz, lechuga, arveja, arroz y sorgo. Las semillas se colocaron con una solución del extracto o fracción a concentraciones de 7000 ppm de extracto total y 500 ppm de fracción hexano hasta por ocho días, posteriormente se observó el efecto de estas sustancias sobre la germinación de las semillas y crecimiento de plántulas, esto se determinó mediante la observación del número de germinados y midiendo la longitud de la radícula. Ninguna de las fracciones ni el extracto total inhibieron la germinación de las semillas, pero se manifiesta un retraso del crecimiento. Se observó un mayor efecto del extracto total y de la fracción de hexano de eucalipto sobre el crecimiento de monocotiledóneas que sobre dicotiledóneas. El efecto diferencial del extracto de eucalipto podría ser la base del desarrollo de productos para el control de gramíneas (Avila *et al.*, 2007).

Con el fin de determinar el posible uso de aceites esenciales como herbicida natural, García (2013) evaluó la capacidad fitotóxica del aceite esencial de los órganos aéreos de *Thymus capitatus* sobre la germinación in vitro y crecimiento de las arvenses *Setaria adhaerens*, *Solanum nigrum*, *Sonchus oleraceus* y *Chenopodium album* a concentraciones de 0.125, 0.250, 0.50 y 1 µl/ml. Sobre *S. oleraceus* y *C. álbum* se obtuvo 100% de inhibición en la germinación con las cuatro concentraciones ensayadas, mientras que *S. adhaerens* y *S. nigrum* tuvieron el mismo efecto con las mayores dosis. Además, se evaluó el efecto sobre

la germinación y crecimiento de las arvenses *Portulaca oleracea*, *Amaranthus hybridus*, *Conyza canadensis*, *S. adhaerens*, *S. nigrum*, *S. oleraceus* y *C. album* en condiciones de invernadero para la cual se probaron tres métodos de aplicación, siendo estas; inyectado directamente al suelo, emulsionado con Twen 20 y emulsionado con Fitoil, a concentraciones de 1, 2 y 4 µl/ml. La mezcla con Fitoil resultó ser la más eficiente, ya que logró mantener la actividad fitotóxica por 7 de las 9 semanas que duró el experimento.

Chocarro y Lloveras (2014) analizaron el efecto alelopático del extracto acuoso de la alfalfa (*Medicago sativa* L.) sobre ocho especies forrajeras: *Medicago sativa*, *Onobrychis viciifolia*, *Trifolium repens*, *T. pratense*, *T. incarnatum*, *Vicia sativa*, *V. villosa* y *Lotus corniculatus* en donde se utilizaron cuatro concentraciones (0-10-20-40 g/l) de extracto acuoso de diferentes partes de la planta: raíz, tallo y hojas, siendo estas últimas las que presentan mayor efecto inhibitorio. Los extractos de las hojas tuvieron un efecto significativo a concentración de 40 g/l, reduciendo cerca del 50% la germinación y entre el 70 y 80% la longitud radicular media en todas las especies a excepción de *M. sativa*. *T. incarnatum* y *T. repens* son las especies cuya germinación es más sensible a los extractos de raíz y tallos de alfalfa, mientras que con extractos de hojas *O. viciifolia* muestra mayor sensibilidad.

Quintero y Valero (2015) comprobaron el efecto herbicida del mucilago de café (*Coffea arabica*) bajo diferentes tiempos de fermentación (0, 20 y 40 días) y diversas concentraciones (10, 50 y 100%) en malezas asociadas al cultivo en el valle de Risaralda, Colombia. Se evaluó la composición fisicoquímica del mucílago de café con métodos cualitativos los cuales arrojaron resultados positivos en cuanto a quinonas, taninos y fenoles que han sido reportados como metabolitos bioherbicidas. Se logró evidenciar que el tratamiento con el mucilago fermentado durante 40 días aplicado al 100% presenta porcentajes de control en las parcelas experimentales de hasta un 65%, mostrando un amplio rango de control sobre especies arvenses nobles y principios de intoxicación sobre puntos de crecimiento de especies de las familias Poaceae y Ciperaceae.

En la búsqueda de alternativas que puedan suplantar el uso de herbicidas químicos, Anjum *et al.* (2017) investigaron el potencial alelopático de tres cultivares de girasol; Suncross42, Gulshan93 y Supper25, para las cuales se utilizaron extractos acuosos de raíz, tallo y hojas a concentraciones de 10, 20, 30, 40 and 50% p/v y fueron aplicadas sobre cinco malezas problemáticas para el cultivo de trigo; *Phalaris minor*, *Chenopodium album*, *Coronopus didymus*, *Rumex dentatus* y *Medicago polymorpha*, donde el parámetro a evaluar fue el peso seco de las malezas. El extracto de hojas tuvo mayor efectividad que el de raíces y tallos,

incluso a la menor concentración, mientras que las malezas más afectadas fueron las de hoja ancha *R. dentatus* y *C. álbum*, en las que se registró una reducción de peso seco de hasta el 98%. El cultivar Suncross42 fue la variedad más alelopática, por lo que se seleccionó para los análisis adicionales de caracterización química, el cual confirmó la presencia de lactonas sesquiterpénicas en las hojas, pudiendo ser la fuente más efectiva de aleloquímicos para ser utilizados como herbicidas naturales.

2.6.3 Metabolitos secundarios

Afendi *et al.* (2012) han identificado hasta la fecha, aproximadamente 100,000 metabolitos secundarios en plantas. Un reducido número de estos están descritos como aleloquímicos bioactivos y están generalmente clasificados como miembros de grupos químicos específicos. Tal como presentan Walton y Brown (1999) y Rice (1984), los metabolitos y aleloquímicos de las plantas se pueden dividir en tres grupos principales: fenólicos, terpenoides y alcaloides.

2.7 ALCALOIDES

Los alcaloides son compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno de origen vegetal y, predominan en cuatro familias de plantas, incluidas las Asteraceae, Apocynaceae, Boraginaceae y Fabaceae y pueden estar presentes en todos los órganos de la planta (Haig citado por Latif *et al.*, 2017).

Actualmente, son uno de los grupos más grande de metabolitos secundarios con aproximadamente 20,000 compuestos identificados que representan una gran diversidad biosintética estructural. En función de su origen biosintético, los alcaloides se clasifican en diferentes clases; por ejemplo, los alcaloides de indol se derivan de triptófano, los alcaloides de pirrolizidina se derivan de ornitina o arginina, y los alcaloides de quinolizidina se derivan de lisina (Yang y Stöckigt, 2010).

2.7.1 Alcaloides quinolizidínicos (QAs)

Los alcaloides quinolizidínicos son un grupo de alcaloides que poseen un anillo de quinolizidina, la mayoría son bicíclicos o tetracíclicos, se encuentran como bases terciarias y como N-óxidos. Los QAs aparecen principalmente en la familia Fabaceae, especialmente en los géneros *Lupinus*, *Baptisia*, *Thermopsis*, *Genista*, *Cytisus* y *Sophora* (Ohmiya citado por Bunsupa *et al.*, 2012). Los alcaloides quinolizidínicos son sintetizados en los cloroplastos y trasladados por toda la planta a través del floema, se acumulan especialmente en el fruto, vainas y raíces (Wink, 1983).

En los lupinos, los alcaloides que se encuentran en mayor proporción son la lupanina, 13-hidroxyilupanina, esparteína, gramina y angustifolina; sin embargo, el alcaloide predominante y la concentración puede variar debido a distintos factores como la especie, la variedad, fluctuaciones climáticas, fenología y órgano de la planta. En el caso de las especies domesticadas europeas como las americanas, la lupanina es la que se encuentra en mayor concentración (Muzquiz, 1988). Podemos observar su estructura en la Figura 1.

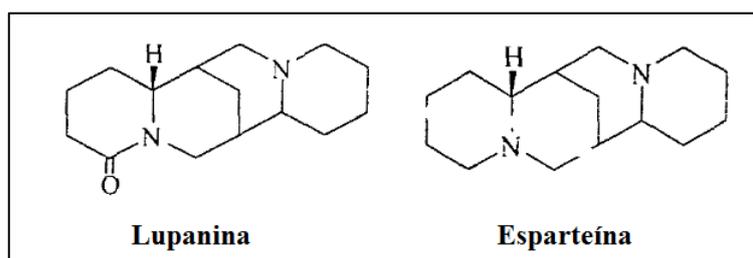


Figura 1: Estructura química de algunos QAs que se encuentran en los lupinos

Según Swiecicki y Jach (1980) los QAs en el género *Lupinus* pueden encontrarse en concentraciones que van desde los 0.01% en variedades ‘dulces’, hasta un 4% en especies amargas, principalmente silvestres. En el caso de las semillas de *L. mutabilis*, Hatzold *et al.* (1983) manifiestan que de la composición química bruta, el rango de contenido de alcaloides totales va desde 2.56 g/100g hasta 4.14 g/100g. Además señala que los principales QAs de las semillas de *L. mutabilis* son lupanina, 13-hidroxyilupanina, 4-hidroxyilupanina y esparteína, tal como se muestra en la Tabla 5.

En un estudio de *L. mutabilis* de Huancayo, Perú, Castillo (1979) reporta que los alcaloides están mayormente presentes en la semilla que la cáscara (2.77 y 0.26% respectivamente).

Tabla 5: Principales fracciones de alcaloides del tarwi

Alcaloides	Porcentaje (%)
Lupanina	60,0
13-Hidroxyilupanina	15,0
Esparteína	7,5
4-Hidroxyilupanina	9,0
Isolupanina	3,0

Fuente: Camarena *et al.* (2012)

Si bien para las especies del género *Lupinus* los alcaloides no son indispensables para el metabolismo primario, son importantes en el mecanismo de defensa de las plantas contra el ataque de plagas, organismos patógenos y virus, ayudándolas a prosperar en un medio natural.

2.7.2 Uso de alcaloides en la agricultura

Uno de los primeros trabajos de investigación en acotar el efecto alelopático de los alcaloides fue el de Wink (1983) que logró inhibir hasta el 90% la germinación de *Lactuca sativa* a una concentración de 4 mM de mezclas de alcaloides de quinolizidina provenientes de semillas de *Lupinus mutabilis* y partes aéreas de *Lupinus polyphyllus*. Además, en otro conjunto de experimentos, observó el efecto de los alcaloides individuales en donde la esparteína alcanzó una inhibición del 20% y la lupanina del 45%, mientras que los esteres de alcaloides resultaron en una inhibición hasta del 100% en la germinación, siendo 13-tigililoxilupanina el componente principal.

En una investigación realizada por Aerts *et al.*, (1991) se estudió la inhibición de la germinación de semillas por efecto de los alcaloides (quinolina metoxilada, quinolina no metoxilada, quinamina) sintetizados por las raíces de plantas del género *Cinchona* sobre cuatro especies; *Cinchona ledgeriana*, *Catharanthus roseus*, *Spermacoce tenuior* y *Ocimum americanum*. Se tomaron datos de la longitud de las radículas, siendo el parámetro de crecimiento más sensible. A concentraciones superiores, los alcaloides son fuertemente tóxicos para las cuatro especies. A medida que las concentraciones aumentaron, las longitudes de las radículas se vuelven cada vez más cortas, incluso, en las concentraciones más altas, las radículas mueren inmediatamente después de la emergencia o no emergen en absoluto. La especie *O. americanum* resultó ser la más sensible. Estos efectos pueden deberse a una inducción o inhibición de las actividades enzimáticas, interacciones con el ADN y una influencia en la glucólisis por parte de los alcaloides.

Muzquiz *et al.*, (1994) obtuvieron extractos de *Lupinus albus* y *Lupinus hispánicus*, donde lupanina (3.6%) y lupinina (1.5%) fueron los alcaloides mayoritarios respectivamente. Se evaluó el efecto antigerminativo de los alcaloides en semillas de tres especies silvestres *Vicia villosa*, *Avena sterilis* y *Chenopodium sp.* y de tres cultivadas. *Pisum sativum*, *Triticum aestivum* y *Lycopersicon esculentum*. Se encontró un alto efecto antigerminativo cuando se usó la lupanina sobre las semillas de *A. sterilis*, pero fue mayor el efecto por el extracto alcaloideo, a una dosis de 14 mM.

M. Wink y Latz-Brüning (1995) utilizaron semillas de *Lepidium sativum* en germinación para analizar una selección de alcaloides, como cafeína, colchicina, gramina, esparteína, entre otros, además de algunas sustancias naturales, por sus propiedades alelopáticas. Se

observó que la longitud de la radícula era generalmente una medida más sensible que el crecimiento de hipocótilo.

Zárate *et al.* (2006) comprobaron la actividad fitotóxica de los alcaloides quinolizidínicos presentes en *Calia secundiflora*. Se obtuvieron extractos acuosos de las hojas y raíces de *C. secundiflora* a concentraciones de 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 y 5.0 % y se evaluó el efecto sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de *Lactuca sativa*, *Amaranthus hybridus*, *Lolium perenne*, *Ipomoea purpurea* y *Bidens odorata*. Se logró observar una disminución del porcentaje de germinación en las cinco especies conforme aumentó la concentración del extracto acuoso de hoja solo hasta llegar a la concentración de 4%, ya que con la concentración de 5% mostro una tendencia a volver a aumentar. Los extractos acuosos de hoja tuvieron mayor fitotoxicidad que los de raíz y en ambos casos, el efecto aumentó con la concentración, además se resalta la diferente respuesta de cada especie frente al extracto aplicado.

Asimismo, Zamora *et al.* (2008), estudiaron la actividad antifúngica y alelopática *in vitro* del extracto crudo de alcaloides provenientes de *Lupinus mexicanus*. La acción antifúngica del extracto se evaluó con base en la inhibición del crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos *Sclerotium rolfii*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*. El extracto inhibió significativamente el crecimiento micelial de *R. solani* en 87%, mientras que el micelio de *S. rolfii* sólo se inhibió 72% con la concentración más alta. La actividad alelopática se evaluó sobre la germinación de semillas de *Amaranthus hybridus* y *Echinochloa crus-galli*, a concentraciones de 0.25, 0.50, 0.75 y 1.0 mg mL⁻¹. Sólo la germinación de semillas de *A. hybridus* mostró diferencias significativas por efecto del extracto, y la inhibición de la germinación fue 80% con la mayor concentración.

Una investigación realizada en la Universidad Estadual de Oeste de Paraná evaluó el efecto alelopático del extracto acuoso de las hojas de *Lupinus albus* sobre la germinación y crecimiento de plántulas de *Lactuca sativa*, *Glycine max* y *Bidens pilosa*, a concentraciones de 20, 40, 60 y 80%. Se observó que el extracto interfirió negativamente en el porcentaje de germinación y longitud promedio de *L. sativa* y *B. pilosa* a partir de la concentración de 20%, mientras que en la soja solo fue afectado el parámetro de velocidad media de germinación a la concentración de 80%. Este efecto fitotóxico fue atribuido a los alcaloides quinolizidínicos presente en la parte aérea de la planta y puede significar un potencial bioherbicida específico para la soja (Malagutti, *et al.* 2008).

Yepes *et al.* (2009) evaluaron el efecto antifúngico del extracto acuoso de semillas de *Lupinus mutabilis* sobre los hongos: *Alternaria solani* y *Fusarium solani*, en el medio de cultivo agar papa combinación con una concentración de 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 mL% del extracto acuoso. Al cabo de 5 días se realizaron las medidas del crecimiento micelial y se observó que el efecto antifúngico del extracto acuoso de semillas de *L. mutabilis* mostró una inhibición del crecimiento micelial en *A. solani* del 74.2% y en *F. solani* del 66.86% con la concentración de 13 mL% y a la concentración de 1 mL% la inhibición del crecimiento micelial alcanzó el 10.33% para *F. solani* y 14.66% en *A. solani*.

Zegarra (2010) evaluó la actividad deterrente y acaricida de extractos de variedades de quinuas amargas y tarwi; así como de aceites esenciales de molle y muña sobre las especies *Boophilus microplus*, *Epilachna paenulata* y *Spodoptera littoralis*, nocivas para ganadería y agricultura. Se logró comprobar la actividad deterrente de los extractos crudos de quinua variedad Markjo (42.1%) y tarwi (94.3%); así como de los aceites esenciales de molle (69.6%) y muña (99.1%) sobre la especie *E. paenulata*, siendo los tres últimos los más activos. Ninguna de las muestras mostró actividad deterrente contra *S. littoralis* y todas las especies mostraron actividad sobre *B. microplus*; siendo el aceite esencial de muña y la quinua Markjo los que mostraron alta bioactividad.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO

El experimento se llevó a cabo en los Laboratorios de Biotecnología 1 y 2 del Programa de Investigación y Proyección Social (PIPS) en Cereales y Granos Nativos de la Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima – Perú, cuyas coordenadas geográficas son las siguientes:

Latitud: 12°04'40.1"S

Longitud: 76°56'37.6"O

Altitud: 238 msnm.

3.2 MATERIAL VEGETAL

Se utilizaron 4 kg de granos de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) var. ‘Andenes’, cosechados en el Instituto Regional de Desarrollo (IRD) Sierra, para la obtención del extracto puro de alcaloides. Las semillas de amaranto (*Amaranthus dubius*) y amor seco (*Bidens pilosa*) fueron colectadas en el campus de la Universidad Nacional Agraria La Molina durante los meses de octubre y noviembre del año 2018, mientras que las semillas de carretilla (*Medicago polymorpha*) fueron colectadas en noviembre del año 2018 y proporcionadas por el Instituto Regional de Desarrollo (IRD) Sierra.

3.3 MATERIALES Y EQUIPOS

Equipos

- Campana extractora
- Estufa
- Molino Thomas Wiley Modelo 4
- Pulverizador Fritsch Modelo Pulverisette 2
- Electromanta Boeco Germany LabHeat
- Shaker giratorio Brunswick Scientific G10
- Centrífuga Multifuge 3 L-R
- Rotavapor Buchi R II
- Incubadora Binder Modelo Estándar Serie BD Avantgarde.Line

- Visi cooler
- Autoclave
- Balanza analítica Sartorius CP124S
- Medidor de pH Hanna ORP Edge

Reactivos químicos

- Agua destilada
- Alcohol 70°
- n-Hexano (Merck)
- Éter de petróleo (Merck)
- Ácido tricloroacético 5 por ciento (Merck)
- Hidróxido de sodio 10 M (Merck)
- Diclorometano (Merck)
- Metanol (Merck)
- Cloroformo (Merck)
- Ciclohexano (Merck)
- Dietilamina (Merck)
- Reactivo de Dragendorff (Merck)
- Ácido sulfúrico 96%
- Lejía comercial (Hipoclorito de sodio 5%)

Materiales de laboratorio

- Micropipeta 1ml
- Tips azules
- Tips amarillos
- Tiras de pH
- Papel Whatman N°1 y N°3
- Placas de Silicagel TLC 60 F254 (Merck)
- Placas Petri de plástico
- Equipo Soxhlet
- Equipo destilador
- Embudo de separación de 250 ml
- Frascos ámbar

- Tamices N°35, N°60, N°016
- Matraces 250 ml
- Tubos Falcon 50 ml
- Vernier o Pie de rey
- Guantes de nitrilo
- Papel film
- Papel milimetrado
- Papel filtro
- Papel aluminio
- Bolsas kraft

3.4 METODOLOGÍA

3.4.1 Pruebas de germinación

Se siguió con el protocolo de ISTA (2016) para obtener semilla pura del material colectado. Para desinfectar las semillas colectadas en campo, se sumergieron en lejía comercial (hipoclorito de sodio 5%) y se agitó por dos minutos, luego, las semillas se enjuagaron por 5 minutos en agua fría para eliminar tanto el desinfectante residual como sustancias exudadas por la semilla que puedan interferir en la germinación. Después del lavado, las semillas fueron esparcidas en papel toalla y llevadas a secado a 20 a 25°C, para, posteriormente, almacenarlas en placas Petri esterilizadas y selladas con papel film.

Se realizó la prueba de germinación 100 semillas por especie, cantidad aceptada como mínima bajo las reglas ISTA (2016), probadas en repeticiones de 25 semillas para el caso de *A. dubius* y 20 para *B. pilosa* y *M. polymorpha* respectivamente, se escogieron estas cantidades de acuerdo al tamaño de la semilla con respecto al tamaño de la placa Petri. Como sustrato para las pruebas se utilizaron discos de papel Whatman N°1, éstos se colocaron sobre las placas Petri y sobre estos, las semillas. A cada placa se le agregó 4 ml de agua destilada.

En el caso de *A. dubius* y *B. pilosa*, no se precisó de algún tratamiento previo para garantizar la germinación, las placas se colocaron en la incubadora a 26±2°C, realizándose el primer conteo de semillas germinadas al segundo día y finalizando la prueba de germinación al sexto día. Se obtuvieron 88% y 97% como porcentajes de germinación respectivamente.

Para *M. polymorpha* se realizó la alternancia de temperaturas como método para romper dormancia adaptando la metodología de Algardaby & El-Darier (2018), modificado en el laboratorio, proporcionando a las semillas 16 horas de frío, a temperatura promedio de $11\pm 2^{\circ}\text{C}$ y 8 horas de calor a $24\pm 2^{\circ}\text{C}$, estas temperaturas fueron escogidas con la finalidad de replicar las condiciones en las que se encuentra en campo. El primer conteo de semillas germinadas fue al cuarto día y la prueba de germinación finalizó al noveno día. Se obtuvo un porcentaje de germinación de 48%.

3.4.2 Obtención de harina de tarwi

Para obtener los alcaloides de los granos de tarwi, estos se molieron Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Agua y Fertilizantes (LASPAF) y el Laboratorio de Calidad del Programa del PIPS en Cereales y Granos Nativos. Los granos de *L. mutabilis* se deshidrataron en estufa por 24 horas a 70°C para facilitar su posterior trituración en el molino. Posteriormente, los granos pasaron al Molino Thomas Wiley Modelo 4, con 10 minutos como tiempo de molienda para cada 120 g de granos de tarwi. Se obtuvo aproximadamente 4 kg de harina de tarwi. Luego, se tamizó harina con los tamices N°35, N°60, N°016, siendo este último el tamiz más fino. Para no desperdiciar material, el restante del tamiz N°35 fue procesada con el pulverizador. La harina obtenida se desengrasó con n-hexano en equipo Soxhlet.

3.4.3 Extracción de alcaloides

Se realizó siguiendo el protocolo modificado de Zamora *et al.* (2008). Se colocaron 50 g de harina desengrasada en un matraz de 250 ml y se homogenizó con 200 ml de ácido tricloroacético (TCA) al 5 por ciento en agitación constante por 12 horas en el *shaker*. La mezcla se centrifugó en tubos Falcon por 20 minutos a $2650 \times g$ -force, incrementándose tanto el tiempo como la velocidad de centrifugado con respecto al protocolo inicial, esto con la finalidad de lograr separar mejor el sobrenadante del precipitado. El sobrenadante se alcalinizó con 8 ml de hidróxido de sodio 10 M en un embudo de separación y se verificó el pH. Los alcaloides se extrajeron con diclorometano (3x50 ml), se recuperó la fase orgánica y se secó a 40°C con rotavapor, separando así, el solvente del extracto crudo de alcaloides. El extracto se resuspendió en metanol y se transfirió a frascos ámbar, luego de 24 horas el solvente se evaporó y fue almacenado a 4°C hasta su uso en los ensayos. El extracto obtenido fue de color naranja claro, de viscosidad mayor a la del agua a temperatura ambiente. Se adjunta flujograma y fotografías en los Anexos 1 y 2.

3.4.4 Prueba de cromatografía

Se realizó la prueba de cromatografía en capa fina para identificar la presencia de alcaloides totales en el extracto obtenido. Alícuotas de 20 µL del extracto alcaloideo fueron sembradas en placas de Silicagel TLC 60 F254 (20 x 20 cm., 250 µm), como fase móvil se mezclaron los solventes cloroformo, ciclohexano y dietilamina (6:4:1). Para el revelado del patrón de manchas, se utilizó el reactivo de Dragendorff, éste se aplicó a manera uniforme a la placa y se dejó secar por 3 horas en la campana extractora. Posteriormente, se comparó con el patrón de manchas establecidas por Muzquiz, *et al.* (1993).

3.4.5 Pruebas preliminares

Zamora *et al.* (2008) utilizaron extracto de alcaloides de *Lupinus mexicanus*, a concentraciones de 0.25, 0.50, 0.75 y 1.0 mg/ml, adicional al tratamiento control de 0 mg/ml. El presente estudio incluyó nuevas concentraciones de extracto teniendo en cuenta otra especie, *Lupinus mutabilis*. Se realizaron dos pruebas preliminares para probar la efectividad del extracto alcaloideo, éstas solo en las especies *Amaranthus dubius* y *Bidens pilosa*, utilizándose 25 y 15 semillas respectivamente para la primera prueba preliminar y 25 y 20 para la segunda. En el primer experimento preliminar, se utilizaron concentraciones de 0, 0.75, 1.5, 2.25 y 3 mg/ml del extracto de alcaloides obtenido de la especie *L. mutabilis*, con dos repeticiones por tratamiento para cada especie. Se aplicaron 4 ml de cada concentración a cada placa y se incubaron a $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ de temperatura, a oscuridad por 84 horas.

Para la segunda prueba preliminar se aumentaron tanto las concentraciones de 0, 1.45, 2.9, 4.35 y 5.8 mg/ml, y el número de repeticiones, elevándose a cinco por tratamiento para cada especie. Se aplicaron 4 ml del extracto en cada placa y se incubaron a $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ a oscuridad por 84 horas.

3.4.6 Preparación del experimento

Se prepararon soluciones de extracto alcaloideo en agua destilada en concentraciones 0, 1.55, 3.1, 4.65 y 6.2 mg/ml. Estas concentraciones se obtuvieron a partir de una concentración stock 200X. Para el caso de *Bidens pilosa* y *Medicago polymorpha* se colocaron 20 semillas por cada placa Petri sobre papel filtro (Whatman N°1), mientras que para *Amaranthus dubius* se colocaron 25. Se adicionaron 4 ml de cada concentración, así como 4 ml de agua destilada en el tratamiento testigo (0 mg/ml). Se tomaron datos cuantitativos para cada concentración. Las placas se incubaron por nueve días en oscuridad en el cuarto de germinación, en el caso de *B. pilosa* y *A. dubius* a $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ y para *M. polymorpha* se alternó las temperatura, tal como

se describe en la prueba de germinación. Se estableció esta cantidad de días de incubación debido al crecimiento de las plántulas del tratamiento testigo en las placas Petri. Se registró diariamente la germinación, se construyó la curva de germinación y además evaluó el crecimiento de las plántulas.

3.4.7 Análisis experimental

3.4.7.1 Variables en estudio

- Para la semilla

- Porcentaje de germinación

Se cuantificó como semilla germinada aquella que logró romper las capas de la semilla para dar aparición a la radícula. El conteo se realizó cada 24 horas durante los nueve días que duró el experimento.

- Para la plántula

En esta investigación, se tomaron los datos de las medidas de algunas de las estructuras que componen el sistema de raíces y el eje de brote en plántulas con ayuda de un Vernier y papel milimetrado:

- Longitud de la radícula: Tomada desde la punta más austral hasta el cambio de color entre radícula e hipocótilo.
- Longitud del hipocótilo: Tomada desde el inicio de cambio de color entre radícula e hipocótilo hasta el inicio de los cotiledones.

3.4.7.2 Diseño experimental

El diseño utilizado para la presente investigación fue el diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial 3A x 5B siendo A el factor especie de maleza, con tres especies (*A. dubius*, *B. pilosa* y *M. polymorpha*) y B el factor extracto de alcaloides, con cinco concentraciones (0, 1.55, 3.1, 4.65 y 6.2 mg/ml). Se realizaron cinco repeticiones por tratamiento. La unidad experimental estuvo constituida por 25 plántulas de *A. dubius*, 20 plántulas de *B. pilosa* y 20 plántulas de *M. polymorpha* contenidas en placas Petri. Las características evaluadas de las interacciones de cada uno de los componentes fueron sometidos a la prueba de comparación de medias de Tukey, a un nivel de significancia de 0.05. El análisis estadístico se realizó utilizando el programa SAS versión 9.3.

El modelo aditivo lineal está representado por:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \theta_j + (\alpha\theta)_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Para:

$i = 1, 2, 3$ especies

$j = 1, 2, 3, 4, 5$ dosis

Donde:

Y_{ij} = Variable respuesta al usar la i -ésima especie en la j -ésima dosis de alcaloides

μ = efecto de la media global.

α_i = Efecto de la i -ésima especie de maleza.

θ_j = Efecto de la j -ésima dosis de extracto de alcaloides.

$(\alpha\theta)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre el factor especie y el factor dosis.

ε_{ij} = error aleatorio experimental.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según los datos obtenidos del análisis de varianza de la Tabla 6 a un nivel de significancia de $\alpha= 0.05$, se encontró que existen diferencias altamente significativas con un p-valor <0.001 en las fuentes de variabilidad especie, dosis y la interacción de ambas. Los coeficientes de variación son menores al 20%, demostrando resultados de confianza y aceptables para condiciones de laboratorio, afirmando la uniformidad de los datos tomados.

Tabla 6: Cuadrados medios del ANVA de porcentaje de germinación, longitud de radícula y longitud de hipocótilo de las tres especies de malezas frente a la aplicación de las cinco dosis de extracto acuoso de alcaloides de *L. mutabilis*

F.V.	G.L.	Porcentaje de germinación	Longitud	
			Radícula	Hipocótilo
Especie	2	27832.68 ***	1271.94 ***	2648.2 ***
Dosis	4	3983.68 ***	1521.68 ***	3194.1 ***
Especie*Dosis	8	1302.58 ***	144.88 ***	171.4 ***
Error	60	52.7	8.25	15.5
Total	74			
p-Valor		< 0.001		
Coefficiente de Variación (%)		14.09	16.43	15.37

Las Tablas de análisis de varianza de las fuentes de variabilidad; porcentaje de germinación, longitud de radícula e hipocótilo, se detallan en los Anexos 3, 4 y 5.

Al resultar significativa la interacción de los factores en estudio, se procederá a analizar la interacción y no los factores principales (Calzada, 1970). Las pruebas de comparación de medias de Tukey para los efectos principales especie y dosis se encuentran especificados en los Anexos 6 y 7 para porcentaje de germinación y en Anexos 14 y 16 para longitudes de radícula y 15 y 17 para longitudes de hipocótilo.

4.1 Germinación de la semilla:

4.1.1 Porcentaje de germinación

La actividad alelopática y el efecto antigerminativo del extracto de alcaloides de tarwi se evaluó *in vitro* sobre *Amaranthus dubius*, *Bidens pilosa* y *Medicago polymorpha* (Tabla 7). Se aprecia una respuesta inversamente proporcional entre la dosis y el porcentaje de germinación en todas las especies; sin embargo, cada una reaccionó de manera diferente ante la aplicación del extracto.

Solo en *A. dubius* se produjo la inhibición en la germinación con el tratamiento T4 (6.2 mg/ml), además existen diferentes niveles de significancia en cada tratamiento exceptuando a los tratamientos T3 (4.65 mg/ml) y T4 (6.2 mg/ml), los cuales son estadísticamente similares. Ninguno de los tratamientos de la especie *B. pilosa* presentan diferencias significativas y poseen elevada capacidad germinativa para todas las dosis comparada con *A. dubius* y *M. polymorpha*, cuyos porcentajes de germinación fueron notablemente más afectados, esto indicaría la rusticidad y la capacidad de recuperación de *B. pilosa* ante la aplicación del extracto. *M. polymorpha* fue la especie con el menor porcentaje de germinación sin aplicar ninguna dosis; sin embargo, éste disminuyó en presencia de todas las dosis de extracto aplicadas, siendo significativa en el tratamiento T2 (3.1 mg/ml) y T4 (6.2 mg/ml) con respecto al T0.

Tabla 7: Prueba Tukey para la interacción de los factores Especie x Dosis para porcentaje de germinación (α al 0.05)

		Especie		
		<i>A. dubius</i>	<i>B. pilosa</i>	<i>M. polymorpha</i>
Dosis del extracto	T0 (0 mg/ml)	86.4 a	97 a	38 c
	T1 (1.55 mg/ml)	48.8 b	95 a	35 c
	T2 (3.1 mg/ml)	38.4 c	91 a	28 d
	T3 (4.65 mg/ml)	7.2 f	83 a	24 d
	T4 (6.2 mg/ml)	0 f	83 a	18 e

Jarma y Tirado (2004) comprobaron el extracto etanólico de raíces de *Gliricidia sepium* a una concentración del 100% registró efectos alelopáticos sobre *A. dubius*, reduciendo su porcentaje de emergencia a menos del 20%. A su vez, Zárate *et al.* (2006) comprobaron la actividad fitotóxica sobre *Amaranthus hybridus* y *Bidens odorata*, de diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Calia secundiflora*, logrando reducir su porcentaje de germinación y desarrollo de plántulas. De la misma manera, el experimento realizado por

Zamora *et al.* (2008) muestra que las semillas de *A. hybridus* disminuyeron su germinación por efecto del extracto acuoso de semillas de *Lupinus mexicanus*, logrando inhibir el 80% en germinación con la dosis de 1 mg mL⁻¹. De esta manera podemos confirmar la sensibilidad del genero *Amaranthus* frente a la aplicación de extractos de alcaloides y otros metabolitos.

Estudios realizados por Raimondo (2013) indican que *B. pilosa* tiene un potencial germinativo mayor al 95%, los aquenios de la especie son unidades de dispersión muy eficientes y germinan inmediatamente después de la maduración, incluso las semillas pueden ser viables en un periodo mayor a dos años. Chauhan *et al.* (2019) muestra en su investigación que a condiciones normales el 93% de semillas de *B. pilosa* germinan. Ambos datos refuerzan lo obtenido con el tratamiento T0, en donde se obtuvieron 97% de semillas germinadas.

Malagutti *et al.* (2008) observaron que el extracto de *Lupinus albus* afectó la germinación de *B. pilosa* con la menor dosis (20%), logrando incluso inhibir la germinación de la especie con las dosis de 80 y 100%, esto contrasta con lo obtenido en este experimento, probablemente debido a la especie de *Lupinus* utilizada en su investigación.

Kimura e Islam (2012) señalaron en su investigación que las legumbres forrajeras, en especial en las especies de *Medicago*, *Trifolium* y *Astragalus*, poseen semillas con cubierta dura, que impide la normal germinación y provoca emergencia desuniforme de plántulas, por ello recomiendan el uso de distintos métodos de escarificación en las semillas. Asimismo, Martin y Cuadra (2004) muestran que, de un lote de semillas de *M. polymorpha*, sin ningún tratamiento de escarificación, solo el 11% germinaron, lo que representa un bajo potencial germinativo. Si bien *M. polymorpha* presento la menor tasa germinativa, en esta investigación, se decidió no utilizar métodos de escarificación con la finalidad de imitar el comportamiento que tiene la semilla en campo.

El efecto que causa el extracto acuoso de *L. mutabilis* en *M. polymorpha* puede compararse al de la investigación de Algardaby y El-Darier (2018), en donde, la germinación de *M. polymorpha* se vio disminuida frente a la aplicación de extractos acuosos de *Achillea santolina*, *Artemisia monosperma*, *Pituranthus tortuosus* y *Thymus capitatus*, logrando ser totalmente inhibida con *A. santolina* y *A. monosperma*, a dosis del 20%. Estas especies presentan alcaloides en su composición química, lo cual confirma la sensibilidad de *M. polymorpha* frente a este metabolito.

4.1.2 Curva de germinación por especie

Se muestran los gráficos de la curva de germinación para cada especie y su respectivo análisis. Se utilizó la abreviatura dds la cual significa días después de la siembra. Las Tablas de análisis de variancia y comparación de medias de Tukey se encuentran en los Anexos 8, 9, 10, 11, 12 y 13.

❖ *Amaranthus dubius*

Se aprecia en la Figura 2 que la germinación en la especie *A. dubius*, en el 1er dds, las diferencias fueron significativas entre el tratamiento T0 y el resto de tratamientos; sin embargo, los tratamientos T2 (1.55 mg/ml), T3 (4.65 mg/ml) y T4 (6.2 mg/ml) son estadísticamente similares. En el 2do y 3er dds, los tratamientos T3 y T4 se diferencian estadísticamente del resto de tratamientos y a partir del 4to dds y hasta el final del experimento, todos los tratamientos se mantienen constantes. Esto confirma, que la especie *A. dubius* es sensible a la aplicación de extracto de alcaloides de tarwi, manteniendo constante número de semillas germinadas y sin germinar en todos los tratamientos sometidos a las diferentes dosis hasta el final del experimento.

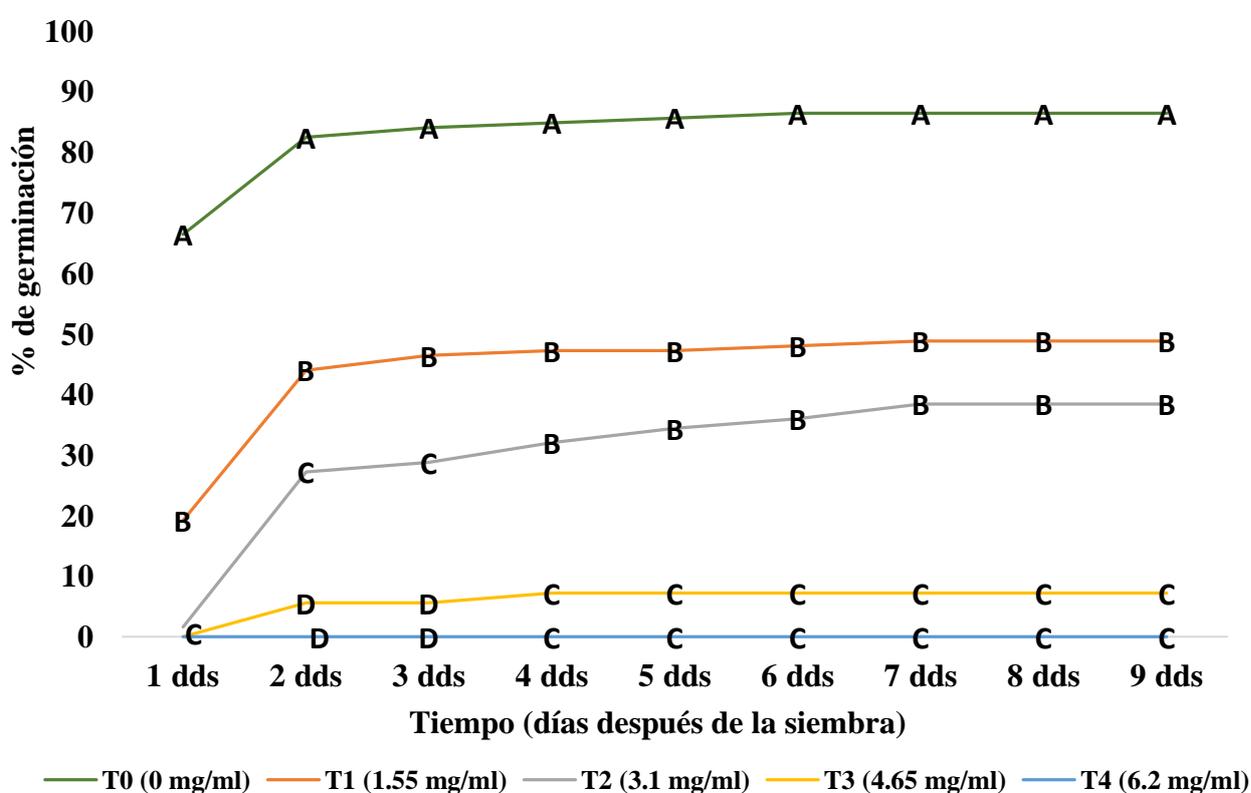


Figura 2: Curvas de germinación de *A. dubius* acorde a las dosis aplicadas del extracto acuoso de alcaloides de *L. mutabilis*

❖ *Bidens pilosa*

En la Figura 3 se aprecia que la germinación de *B. pilosa* tiene tendencia a aumentar en todos los tratamientos. En el 1er dds, la germinación de la especie no tuvo diferencias significativas en los tratamientos T0, T2 (1.55 mg/ml), T3 (4.65 mg/ml) y T4 (6.2 mg/ml) comparándolos con el tratamiento T1. A partir de los 3 dds, podemos notar que la germinación se diferencia en tres grupos, para todos ellos la germinación tiene tendencia a aumentar en magnitudes proporcionales a sus dosis, siendo la mayor dosis T4 (6.2 mg/ml) la que alcance la germinación de los demás tratamientos con menor velocidad en un tiempo más prolongado. Esto se puede evidenciar mejor en el 8vo dds, en donde solo hay dos grupos de significancia hasta el final del experimento. Esto indica que las semillas de *B. pilosa* tienen alta capacidad de resiliencia, pudiéndose recuperar, incluso con la mayor dosis, a la aplicación del extracto de alcaloides de tarwi hasta alcanzar una germinación estadísticamente similar a la dosis más baja.

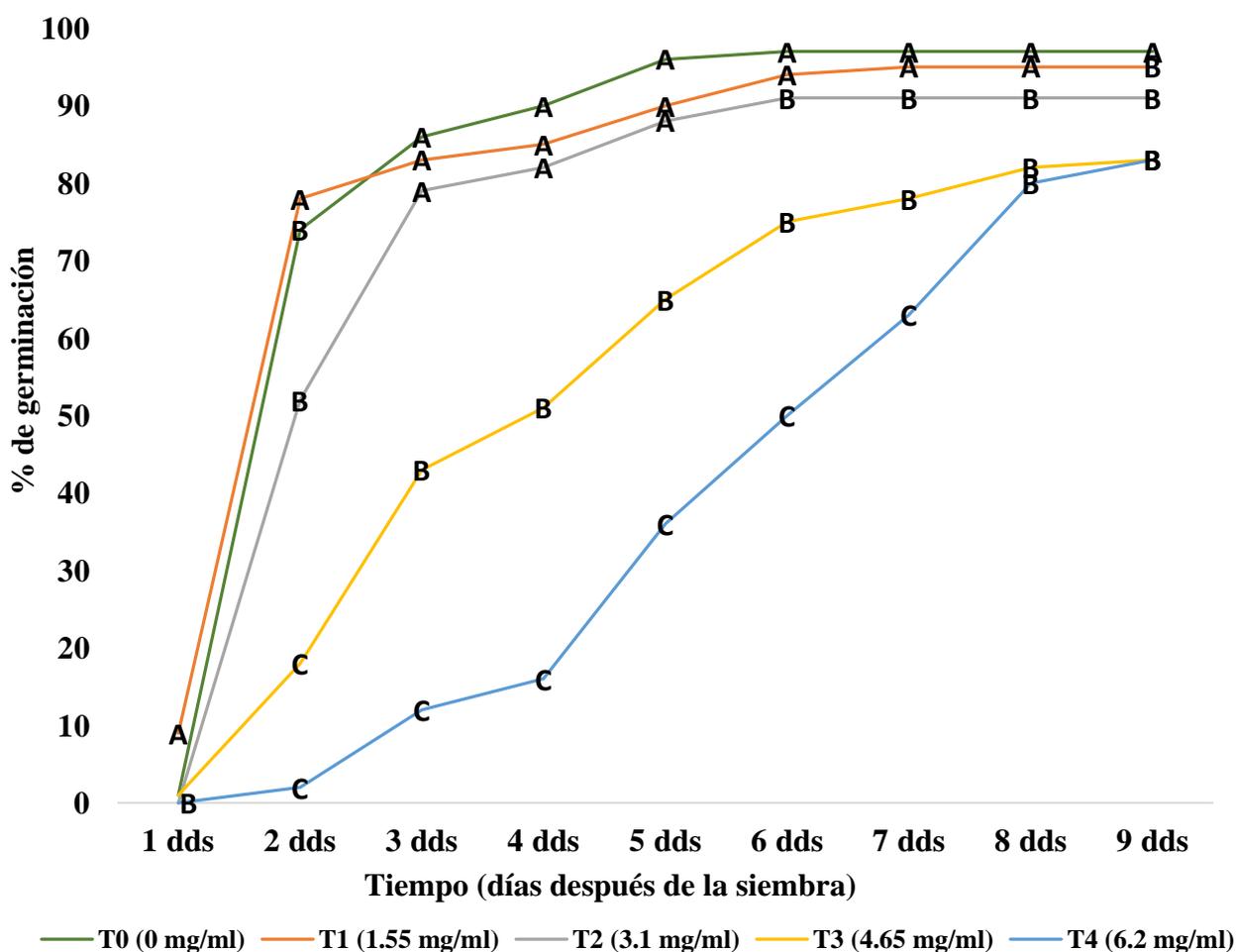


Figura 3: Curva de germinación de *B. pilosa* acorde a las dosis aplicadas del extracto acuoso de alcaloides de *L. mutabilis*

❖ *Medicago polymorpha*

La germinación en la especie *M. polymorpha*, al igual que con *B. pilosa*, presenta tendencia a incrementar. En la Figura 4 se aprecia que al 2do dds el tratamiento T0 empieza a diferenciarse del resto, mas la cantidad de semillas germinadas sigue aumentando inversamente proporcional a la dosis, al igual que en *B. pilosa*. La germinación empieza a ser constante a partir de los 7 dds, siendo los tratamientos T0 y T1 (1.55 mg/ml) los menos afectados y son estadísticamente diferentes a los tratamientos T2 (3.1 mg/ml), T3 (4.65 mg/ml) y T4 (6.2 mg/ml). Esto indicaría que la especie *M. polymorpha* logra recuperar su germinación medianamente ante la aplicación de alcaloides de tarwi.

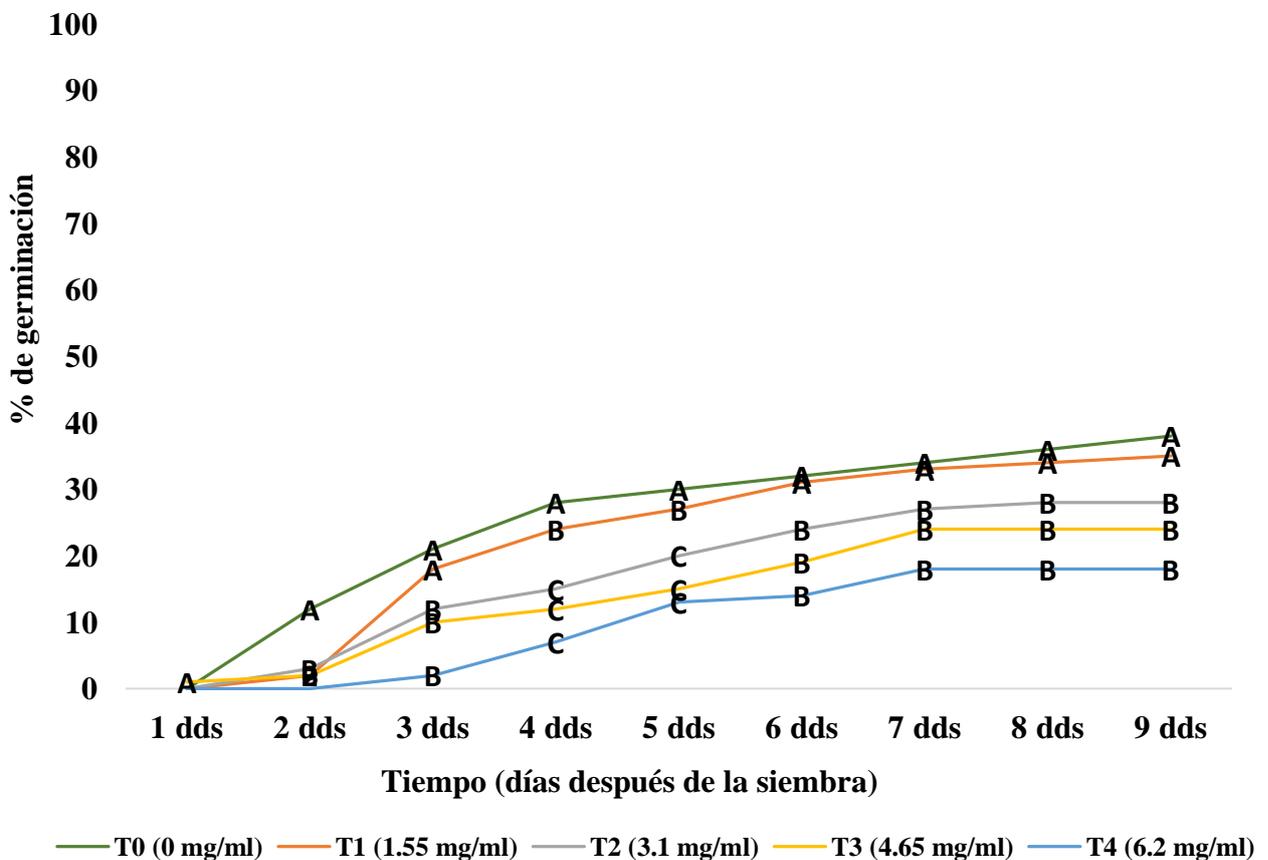


Figura 4: Curva de germinación de *M. polymorpha* acorde a las dosis aplicadas del extracto acuoso de alcaloides de *L. mutabilis*

Como se aprecia, las tres malezas han reaccionado de manera distinta, bajo las mismas condiciones de exposición, al extracto acuoso de alcaloides de tarwi. Se evidencia que la germinación llega a ser constante incluso en días diferentes para todas las especies evaluadas. Para *A. dubius* la constancia en germinación (no se incrementa el número de semillas germinadas) se alcanzó a los 4 dds, mientras que para *M. polymorpha* a los 7 dds y *B. pilosa* a los 8 dds.

Para las tres especies de malezas, el tratamiento T3 (4.65 mg/ml) se podría considerar como el mejor para retardar o inhibir el proceso de germinación, ya que no presenta diferencias significativas con el tratamiento T4 (6.2 mg/ml) en dos de las tres especies. El tiempo que se ganaría con la aplicación del extracto puede ser importante para que, en condiciones de campo, se logre establecer el cultivo sin tener que competir con la maleza por agua, suelo y nutrientes.

4.2 Emergencia de la plántula

4.2.1 Longitud de radícula e hipocótilo

En las Tablas 8 y 9, se observa una respuesta inversamente proporcional entre la dosis y la longitud media de la radícula e hipocótilo, lo cual indica una reducción de las longitudes de ambas estructuras; siendo la mayor reducción en la longitud media de radícula que en hipocótilo para todas las especies.

En *A. dubius* (Tablas 8 y 9), se observa que existe una diferencia marcada y significativa entre el tratamiento T0 y el T1. Se observa en la Tabla 8 una reducción del 52.94% de la longitud radicular del tratamiento T1 con respecto al tratamiento T0, mientras que en la Tabla 9, la reducción en el tamaño del hipocótilo es tan solo del 18.23% con respecto al T0. Las longitudes para el T4 (6.2 mg/ml) en ambos casos son nulos debido a que el extracto acuoso inhibió la germinación. Esta información es comparable a los resultados obtenidos por Zárate *et al.* (2006), en donde *Amaranthus hybridus* fue afectada por la aplicación del extracto de *Calia secundiflora*, disminuyendo también el desarrollo de la longitud radicular conforme se aumentó la concentración del extracto acuoso de hojas.

B. pilosa respondió a todos los tratamientos, en la Tabla 8 se observa la reducción del 38.21% en la longitud radicular del tratamiento T1 con respecto al tratamiento T0, mientras que en la Tabla 9, la reducción en el tamaño del hipocótilo es tan solo del 20.48% con respecto al T0. Malagutti *et al.* (2008) tuvieron resultados similares donde *B. pilosa* presenta reducción en tamaño tanto de radícula como hipocótilo a medida que se aumentan las dosis del extracto acuoso de *Lupinus albus*, concordando con los resultados obtenidos en esta investigación. A pesar que la capacidad germinativa de la especie no fue afectada (Tabla 7), las plántulas que se desarrollaron a partir de estas semillas presentaron problemas con su crecimiento y daños físicos evidentes en sus estructuras.

La respuesta al tratamiento T1 (1.55 mg/ml) también fue significativa para *M. polymorpha* en la longitud de ambas estructuras con respecto al T0. La Tabla 8 muestra que el porcentaje

de reducción de la longitud de radícula entre el tratamiento T0 y el T1 fue de 73.09%, mientras que en la Tabla 9 la diferencia de las longitudes de hipocótilo entre los tratamientos T0 y T1 representa el 46.94%. Estos datos son similares a los obtenidos en la investigación de Algandaby y El-Darier (2018), en donde las longitudes de plúmula y radícula de *M. polymorpha* fueron reducidas con el uso de los extractos de diferentes plantas medicinales.

Con los resultados obtenidos en las Tablas 8 y 9 podemos inferir que los metabolitos secundarios de los alcaloides presentes en *Lupinus mutabilis* no solo afectan la germinación, inhibiéndola o retardándola, sino también afectan la fisiología durante el crecimiento y desarrollo de algunas plántulas, observándose un efecto más homogéneo en este último parámetro. Hall y Henderlong (1989) también observaron que el crecimiento de las plántulas es más sensible a los aleloquímicos que la germinación de semillas asociada.

Tabla 8: Prueba Tukey para la interacción de los factores Especie x Dosis para longitud de radícula (α al 0.05)

		Especie		
		<i>A. dubius</i>	<i>B. pilosa</i>	<i>M. polymorpha</i>
Dosis del extracto	T0 (0 mg/ml)	13.79 c	41.51 a	24.97 b
	T1 (1.55 mg/ml)	6.49 e	25.65 b	6.72 e
	T2 (3.1 mg/ml)	1.73 f	13.83 c	4.43 f
	T3 (4.65 mg/ml)	0.89 f	7.66 d	3 f
	T4 (6.2 mg/ml)	0 f	3.12 f	2.13 f

Tabla 9: Prueba Tukey para la interacción de los factores Especie x Dosis para longitud de hipocótilo (α al 0.05)

		Especie		
		<i>A. dubius</i>	<i>B. pilosa</i>	<i>M. polymorpha</i>
Dosis del extracto	T0 (0 mg/ml)	26.99 d	55.92 a	32.17 c
	T1 (1.55 mg/ml)	22.07 e	44.47 b	17.07 e
	T2 (3.1 mg/ml)	14 f	32.4 c	7.77 g
	T3 (4.65 mg/ml)	1.84 g	13.69 f	4.62 g
	T4 (6.2 mg/ml)	0 g	7.24 g	2.65 g

Para *A. dubius* los porcentajes de reducción con respecto al control fueron de 77.98% para longitud de radícula y 53.18% para hipocótilo, en caso de *B. pilosa* fueron de 76.62% para radícula y 56.28% para hipocótilo, mientras que en *M. polymorpha* fueron de 83.70% y 75.05% respectivamente. Esto indica que el extracto de alcaloides de tarwi afecto más al crecimiento de la radícula que al hipocótilo. De la misma manera, Chung y Miller (1995)

observan mayor disminución en las longitudes de radícula que hipocótilo en seis especies diferentes de malezas frente a la aplicación del extracto de *Medicago sativa*.

Estos resultados también fueron obtenidos por Ashrafi *et al.* (2008), en donde la longitud de radícula de *Hordeum spontaneum* fue más afectada que la del hipocótilo frente a la aplicación del extracto de *Helianthus annuus*. Además, Sadeghi *et al.* (2009) declararon que la longitud de la radícula era más sensible a los aleloquímicos el hipocótilo, esto puede deberse al hecho que las radículas son las primeras en entrar en contacto con el extracto que contiene los aleloquímicos.

El extracto acuoso de alcaloides de *L. mutabilis* redujo la longitud media de la radícula e hipocótilo probablemente debido a que afectó los procesos de división y elongación celular en las diferentes especies de malezas, tal como ha sido reportado con otros aleloquímicos (Javaid & Anjum, 2006). Son pocos los estudios de las propiedades fitotóxicas de algunos alcaloides específicos; sin embargo M. Wink y Latz-Brüning (1995) sugieren que la alelopatía observada se debe a la interacción de los alcaloides relacionados a la inhibición de ADN, biosíntesis de proteínas, inducción o inhibición procesos enzimáticos y permeabilidad de la membrana, afectando su estabilidad.

En las Tablas 8 y 9, se aprecia que el tratamiento T3 con la dosis de 4.65 mg/ml, disminuye tanto la longitud de la radícula como el hipocótilo y, al no tener una diferencia significativa tan marcada con el tratamiento T4 (6.2 mg/ml), podría considerarse al T3 como la mejor concentración de extracto que produce la reducción del crecimiento de estas estructuras radiculares.

La respuesta de las tres especies de malezas fue diferente ante la aplicación del extracto acuoso de *L. mutabilis*, en los dos parámetros de evaluación. En cuanto a germinación el efecto alelopático se manifestó de la siguiente manera: *A. dubius* > *M. polymorpha* > *Bidens pilosa*, mientras que la reducción de la longitud de radícula e hipocótilo: *M. polymorpha* > *A. dubius* > *B. pilosa*.

Muzquiz *et al.* (1994) evidenciaron diferencias en la sensibilidad entre especies luego de la aplicación de alcaloides quinolizidínicos; ellos utilizaron extracto de *Lupinus hispanicus* en la germinación de *Pisum stivum*, *Lycopersicom sculentum*, *Triticum aestivum*, *Chenopodium album*, *Vicia villosa* y *Avena sterilis*, de las cuales solo lograron el efecto antigerminativo en las semillas de *A. sterilis*. De la misma manera, Chung y Miller (1995) indicaron que el grado de fitotoxicidad va a depender de la dosis aplicada y la especie receptora.

En los Anexos 18, 19 y 20 podemos observar las imágenes de cada especie y como fueron afectadas por el extracto acuoso de alcaloides de *L. mutabilis*. Si bien los datos numéricos obtenidos reflejan el efecto negativo del extracto sobre las malezas tanto en el porcentaje de germinación y longitud de radícula e hipocótilo, también se aprecia el daño físico de estas estructuras en las tres especies.

A partir del tratamiento T1 (1.55 mg/ml), se evidencia el efecto fitotóxico del extracto, obteniéndose plántulas anormales caracterizadas por tener radículas ahiladas o atrofiadas con hendiduras e hipocótilos deformados, cortos o gruesos, con manchas necróticas, este signo se extiende hasta la zona del hipocótilo en el tratamiento T2 (3.1 mg/ml) para *M. polymorpha* y a partir del tratamiento T3 (4.65 mg/ml) para *A. dubius* y *B. pilosa*. El tratamiento T0 no presentó ningún signo o daño en la zona radicular. Estos resultados son similares a los obtenidos en la investigación de Zárate *et al.* (2006) quien describe los mismos daños para la zona radicular en todas las especies que fueron evaluadas, indicando que estas plantas no podrían sobrevivir en condiciones de campo. Además, el deterioro en la zona radicular provocaría mayor exposición a patógenos del suelo, facilitando la penetración en las estructuras causando daños irreversibles en el desarrollo de las malezas.

4.3 Prueba de cromatografía en capa fina

El revelado de la prueba de cromatografía permitió identificar y confirmar la presencia de alcaloides, dentro de ellos, esparteína, lupanina y lupinina, los cuales fueron comparados con un patrón de manchas previamente establecidas (Figura 5).

Wink (1983) reporta la influencia de alcaloides quinolizidínicos de *Lupinus albus* sobre la germinación de *Latuca sativa*, siendo inhibida hasta más del 90%, además de afectar negativamente la longitud de la radícula. Esta actividad fue gracias a la acción de la lupanina, el cual es el componente mayoritario en la composición de alcaloides de *L. albus* (58%). Esto puede ser comparable a los resultados obtenidos en la presente investigación con el extracto de *Lupinus mutabilis*, ya que también se logró disminuir o retardar el proceso de germinación y reducir las longitudes de radícula e hipocótilo, siendo también lupanina el componente predominante en la composición de alcaloides (60%).



Figura 5: Cromatografía en capa fina y revelado del patrón de alcaloides quinolizidínicos mediante el uso del reactivo de Dragendorff sobre una placa de Silicagel TLC 60. La tinción color naranja indica presencia de alcaloides

V. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación permiten extraer las siguientes conclusiones:

El efecto fitotóxico de los alcaloides de *L. mutabilis*, afectó el crecimiento y desarrollo de las malezas en estudio. Probablemente los alcaloides quinolizidínicos provenientes de los granos de tarwi pueden ser una fuente potencial para el desarrollo de bioherbicidas.

El extracto acuoso de alcaloides quinolizidínicos de *Lupinus mutabilis* disminuyó el porcentaje de germinación en las especies de malezas en estudio (*Amaranthus dubius* > *Medicago polymorpha* > *Bidens pilosa*), cada una de manera diferente, en la cual se cumple una relación inversamente proporcional mayor dosis, menor porcentaje de germinación.

El extracto acuoso de alcaloides quinolizidínicos de *Lupinus mutabilis* también redujo significativamente la longitud de la radícula e hipocótilo de todas las malezas en estudio (*M. polymorpha* > *A. dubius* > *B. pilosa*), afectando su normal crecimiento y desarrollo.

VI. RECOMENDACIONES

1. Optimizar el proceso de obtención de harina de tarwi, utilizando un molino que triture de manera uniforme los granos de tarwi, de esta manera se evitaría el desperdicio de material vegetal y se ahorraría tiempo en el proceso de tamizado.
2. Utilizar un recirculador de agua durante el proceso de desengrasado con el equipo Soxhlet, esto evitará daños tanto al material vegetal como al equipo.
3. Trabajar siempre sobre superficies estériles previamente desinfectadas para evitar la contaminación.
4. Probar otras metodologías de extracción de alcaloides, utilizando solventes menos nocivos durante el proceso y así poder darle un uso a la harina de tarwi en vez de desecharla.
5. Continuar las investigaciones sobre otros posibles efectos de la alelopatía sobre otras especies de malezas, hongos fitopatógenos, plagas, entre otras para así disminuir el uso de productos químicos y tener una agricultura más sostenible.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aerts, R.; Snoeijer, W.; van der Meijden, E.; Verpoorte, R. (1991). Allelopathic inhibition of seed germination by *Cinchona* alkaloids? *Phytochemistry*, 30(9), 2947–295. doi: 10.1016/S0031-9422(00)98229-3
- Afendi, F.; Okada, T.; Yamazaki, M.; Hirai-Morita, A.; Nakamura, Y.; Nakamura, K.; Darusman, L. (2012). KNApSAcK family databases: integrated metabolite plant species databases for multifaceted plant research. *Plant & Cell Physiology*, 53(2), 1-11. doi: 10.1093/pcp/pcr165
- Algandaby, M. & El-Darier, S. (2018). Management of the noxious weed: *Medicago polymorpha* L. via allelopathy of some medicinal plants from Taif region, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(7), 1339–1347. doi: 10.1016/j.sjbs.2016.02.013
- Álvarez, L.; Garabatos, A.; Puig, C.; Reigosa, M.; Pedrol, N. (2012). Explorando la alelopatía en la búsqueda de bioherbicidas naturales de origen vegetal. Congreso de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica, Vigo, ES. Recuperado de: <https://agroecologia.net>
- Anjum, T.; Stevenson, P.; Hall, D. & Bajwa, R. (2017). Allelopathic potential of *Helianthus annuus* L. (sunflower) as natural herbicide, 1–5.
- Arce, O; Robinet, H; Mansilla, N; de Andrada, N; Gallo, E; Guillén, S. (1995). Determinación de pérdidas de cultivo de soja (*Glycine max*) por competencia de saetilla (*Bidens subalternans*) en el noroeste de la provincia de Tucumán-Argentina. Resúmenes XII Congreso Latinoamericano de Malezas, Montevideo, Uruguay.
- Ashrafi, Z.; Sadeghi, S.; Mashhadi, H. & Hassan, A. (2008). Allelopathic effects of sunflower (*Helianthus annuus*) on germination and growth of wild barley (*Hordeum spontaneum*). *Journal of Agricultural Technology*, 4(1), 219–229.
- Australian Government. Impact of weeds. (2004). Impact of weeds. Recuperado de: <http://www.environment.gov.au/>

- Avila, L.; Murillo, W.; Durango, E.; Torres, F.; Quiñones, W. & Echeverri, F. (2007). Efectos alelopáticos diferenciales de extractos de eucalipto. *Scientia et Technica*, (33), 203–204.
- Bazan, L; Ochea, R. (1974). Determination of the period of weed competition in tomatoes (*Lycopersicon esculentum* var. Marglobe) in Lambayeque. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Bedmar, F. (2015). Malezas: las claves para un control eficiente. INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). Recuperado de: <http://intainforma.inta.gov.ar/>
- Bhadoria, P. (2018). Allelopathy: A natural way towards weed management. *American Journal of Experimental Agriculture*, 1(1), 7–20. doi: 10.9734/ajea/2011/002
- Blanco, H; Arevalo, R. (1991). Effect of soil management on the month by month emergence of six weeds in Sao Paulo, Brazil. Proceedings of the 1991 meeting of the Spanish Weed Science Society Madrid, Spain; Sociedad Española de Malherbologia, 82-86
- Blanco, H; Arévalo, R; Blanco, F. (1996). Injury of *Bidens pilosa* L. on bean plants. *Archivos do Instituto Biológico* (Sao Paulo), 63(2):35-40; 17.
- Blanco, Y. (2006). La utilización de la alelopatía y sus efectos en diferentes cultivos agrícolas. *Cultivos Tropicales*, 27(3), 5-16. La Habana, Cuba.
- Bunsupa, S.; Yamazaki, M. & Saito, K. (2012). Quinolizidine alkaloid biosynthesis: Recent advances and future prospects. *Frontiers in Plant Science*, 3(10), 1–7. doi: 10.3389/fpls.2012.00239
- CABI. (2018). Datasheet of *Amaranthus dubius* (leafy amaranth). En: Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International. Recuperado de: <<http://www.cabi.org/isc/datasheet/4646>>
- CABI. (2018). Datasheet of *Bidens pilosa* (blackjack). En: Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International. Recuperado de: <<http://www.cabi.org/isc/datasheet/9148>>
- CABI. (2018). Datasheet of *Medicago polymorpha* (bur clover). En: Invasive species compendium. Wallingford, UK: CAB International. Recuperado de: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/33031>

- Caligari, P.; Römer, P.; Rahim, M.; Huyghe, C.; Neves-Martins, J. & Sawicka-Sienkiewicz, E. (2011). The Potential of *Lupinus mutabilis* as a crop. 569–573. doi: 10.1007/978-94-011-4385-1_54
- Calzada, J. (1970). Métodos Estadísticos para la Investigación. (3° ed.). Editorial Lima: Editorial Jurídica. 645p.
- Camarena, F.; Huaranga, A.; Jiménez, J.; Mostacero, E. (2012). Revaloración de un cultivo subutilizado: Chocho o Tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet). (2° ed.). Universidad Nacional Agraria La Molina. Ediciones AGRUM. 222 p.
- Campos, M.; Cabrera, R.; Pérez, M. & Laura, B. (2017). Tendencia del mercado y la producción de los productos orgánicos en el Perú. *Rev. Inv. Altoandin.* 19(4), 427–431. doi: 10.18271/ria.2017.318
- Castillo, J.; Rodríguez, P.; Molina, P.; Cardozo, M.; Vega, C. (2015). Entomofauna en las principales malezas asociadas a los cultivos de maíz, cítricos y lúcumo y su población estimada por hectárea en La Molina, Lima. Perú. 76 (2): 315-323.
- Castillo, R. (1979). Extracción y caracterización de extracto etéreo de semilla de tarhui (*Lupinus mutabilis*) (Tesis de Ingeniero de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina). Recuperada de: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/>
- Cerna, L; Valdez, V. (1987). The influence of populations of the weeds *Sorghum halepense* L. and *Bidens pilosa* L. on the yield of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) 'Pirata 2'. Turrialba, 37(4):303-309
- Chauhan, B.; Ali, H. & Florentine, S. (2019). Seed germination ecology of *Bidens pilosa* and its implications for weed management. *Scientific Reports*, 1–9. doi: 10.1038/s41598-019-52620-9
- Cheng, F. & Cheng, Z. (2015). Research progress on the use of plant allelopathy in agriculture and the physiological and ecological mechanisms of allelopathy. *Frontiers in Plant Science*, 6(11), 1020. doi: 10.3389/fpls.2015.01020
- Chocarro, C. & Lloveras, J. (2014). Potencial alelopático de la alfalfa (*Medicago sativa* L.) sobre diferentes leguminosas forrajeras. 53ª Reunión Científica de la SEEP. Lleida, España. doi: 10.13140/2.1.3250.3680

- Chung, I., & Miller, D. A. (1995). Natural herbicide potential of alfalfa residue on selected weed species. *Agron. J.* 87:920-925. doi: 10.2134/agronj1995.00021962008700050024x
- Degiovani, V; Martinez, C; Motta, F. (2010). Producción eco-eficiente del arroz en América Latina, Tomo 1. CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical. Recuperado de: <https://ciat-library.ciat.cgiar.org/>
- DiTomaso, JM; Kyser, GB. (2013). Weed control in natural areas in the western United States. Weed Research and Information Center, University of California. 544 pp. Recuperado de: <https://wric.ucdavis.edu/>
- FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations. (22 abr. 2019). Food and Agriculture Data. Recuperado de: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Fernández, C.; Santonja, M.; Gros, R.; Monnier, Y.; Chomel, M.; Baldy, V. & Bousquet-Mélou, A. (2013). Allelochemicals of *Pinus halepensis* as drivers of biodiversity in Mediterranean open mosaic habitats during the colonization stage of secondary succession. *Journal of Chemical Ecology*, 39(2), 298-311. doi: 10.1007/s10886-013-0239-6
- Frick, B.; Johnson, E. (2002). Weeds - When are they a problem?. Faculty of Agriculture. Dalhousie University, Canada. Recuperado de: <https://www.dal.ca/>
- Gamboa, W; Pohlan, J. (1997). La importancia de las malezas en una agricultura sostenible del trópico. *Journal of Agriculture in the Tropics and Subtropics*, 117-123.
- García, S. (2013). Actividad herbicida del aceite esencial de *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link. y efectividad en función de distintos métodos de aplicación (Tesis de maestría, Universitat Politècnica de València). Recuperada de: <https://riunet.upv.es/>
- Grubben, G. Denton, O. (2004). Plant Resources of Tropical Africa 2. Vegetables. PROTA Foundation, Wageningen, Netherlands. 668 pp. Recuperado de: <http://edepot.wur.nl/417517>
- Hall, M. & Henderlong, P. (1989). Alfalfa autotoxic fraction characterization and initial separation. *Crop Science*, 29:425-428. doi:10.2135/cropsci1989.0011183X002900020038x
- Hatzold, T.; Elmadfa, I. & Gross, R. (1983). Edible oil and protein concentrate from *Lupinus mutabilis*. *Qual. Plant Plant Foods Hum. Nutr.* 32 (1983) 32, 125–126. doi: 10.1007/BF01091333

- Helfgott, S.; Vargas, S.; Gutiérrez, A. & Salvatore, M. (2010). Aptitud de tierras y oportunidades para el desarrollo rural en Perú. In El análisis de BEFS para el Perú Compendio técnico - Volumen I Resultados y conclusiones (pp. 25–36). Recuperado de: <http://www.fao.org/>
- Hernández, J.E. & León, J. (Eds.). (1992). Cultivos marginados otra perspectiva de 1492. Colección FAO: Producción y protección vegetal, N° 26. Roma, Italia. Recuperado de: <http://www.fao.org/>
- Holm L.; Plucknett D.; Pancho J.; Herberger J. (1977). The world's worst weeds. Distribution and Biology. Honolulu, Hawaii, USA: University Press of Hawaii.
- Inderjit, & Weston, L. (2000). Are laboratory bioassays for allelopathy suitable for prediction of field responses? *Journal of Chemical Ecology*, 26(9), 2111–2118. doi: 10.1023/A:1005516431969
- International Allelopathy Society-IAS. (2015). What is Allelopathy?. Recuperado de: <http://allelopathy-society.osupytheas.fr/about/>
- ISTA-International Seed Testing Association. (2016). Reglas Internacionales para el Análisis de las Semillas. Bassersdorf, Suiza. Cap 1-7.
- Jacobsen, S. & Mujica, A. (2006). Investigación y producción de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet.) en el Perú. *Botánica Económica de Los Andes Centrales*, 458–482.
- Jarma, A. & Tirado, G. (2004). Efecto bioherbicida de extractos vegetales para el manejo de malezas en algodón en el Caribe colombiano. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica)*, 71:79–84. Recuperado de: <http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/>
- Javaid, A. & Anjum, T. (2006). Control of *Parthenium hysterophorus* L., by aqueous extracts of allelopathic grasses. *Pak. J. Bot*, 38(1), 139–145. Recuperado de: <http://www.pakbs.org/>
- Kimura, E. & Islam, M. A. (2012). Seed scarification methods and their use in forage legumes. *Research Journal of Seed Science*. 5(2), 38-50. doi: 10.3923/rjss.2012.38.50
- Labrada, R; Caseley, JC; Parker, C. (1996). Manejo de malezas para países en desarrollo. Estudio FAO producción y protección vegetal 120. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). Roma, Italia.

- Labrada, R. (2006). Recomendaciones para el manejo de malezas. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Roma, Italia.
- Latif, S.; Chiapusio, G. & Weston, L. A. (2017). Allelopathy and the role of allelochemicals in plant defence. *Advances in Botanical Research* (Vol. 82). Elsevier Ltd. doi: 10.1016/bs.abr.2016.12.001
- Li, ZH.; Wang, Q.; Ruan, X.; Pan, C. & Jiang, D. A. (2010). Phenolics and plant allelopathy. *Molecules*, 15(12), 8933–8952. doi: 10.3390/molecules15128933
- Malagutti, J., Santorum, M., Leszczynski, R., & Fortes, A. (2008). Efeito alelopático do tremoço branco (*Lupinus albus* L.) sobre a germinação e o crescimento inicial da alface, soja e picão preto. *Revista Brasileira de Biociências*, 6, 14–15. Recuperado de: <http://www.ufrgs.br/>
- Marshall, T. (2015). Alternatives to chemical weed control. Recuperado de: <http://www.gwlap.org.au/>
- Martin, I., & Cuadra, C. (2004). Evaluation of different scarification methods to remove hard-seededness in *Trifolium subterraneum* and *Medicago polymorpha* accessions of the Spanish base genebank. *Seed Sci. & Technol.*, 32:671–681. doi: 10.15258/sst.2004.32.3.03
- MINAGRI-Ministerio de Agricultura y Riego. (20 abril 2019). Serie de Estadísticas de Producción Agrícola - Compendio Estadístico. Perú. Recuperado de: <http://frenteweb.minagri.gob.pe/sisca>
- Mitich LW. (1994). Beggarticks. *Weed Technology*, 8(1):172-175
- Morón, C. (2005). Importancia de los cultivos andinos en la seguridad alimentaria y nutrición. Cultivos Andinos-FAO. Recuperado de: <http://www.fao.org/>
- Muzquiz, M. (1988). Factores antinutritivos y tóxicos que afectan a la utilización de las semillas del *Lupinus hispanicus* Boiss et Reut para uso Alimentario. Madrid, España. 333 p. Recuperado de: <http://libros.inia.es/>
- Muzquiz, M.; Burbano, C.; Cuadrado, C. & de la Cuadra, C. (1993). Determinación de factores antinutritivos termorresistentes en leguminosas. *Invest. Agr.: Prod. prot. veg.*, 8(3).

- Muzquiz, M.; de la Cuadra, C.; Cuadrado, C.; Burbano, C. & Calvo, R. (1994). Herbicide-like effect of *Lupinus* alkaloids. *Industrial Crops and Products*, 2(4), 273–280. doi: 10.1016/0926-6690(94)90118-X
- Ortega-David, E.; Rodríguez, A.; David, A. & Zamora-Burbano, A. (2010). Caracterización de semillas de lupino (*Lupinus mutabilis*) sembrados en los Andes de Colombia. *Acta Agronómica*, 59(1), 111–118.
- PSU-Penn State University. (2009). Introduction to weeds: What are weeds and why do we care?. Pennsylvania, Estados Unidos. Recuperado de: <https://extension.psu.edu/>
- Quintero, C., & Valero, C. (2015). Evaluación del efecto herbicida del mucilago de café (*Coffea arabica* L.) en arvenses asociadas al cultivo.
- Quispe, M. (2017). Tres sistemas de control de malezas y su impacto en el rendimiento de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) cv. Inia 431- Altiplano. (Tesis de Ingeniero Agrónomo, Universidad Nacional San Agustín de Arequipa). Recuperada de: <http://repositorio.unsa.edu.pe/>
- Raimondo, G. (2013). Estudios de biología de la germinación y demografía de *Bidens pilosa* L. (Tesis de maestría, Universidad Nacional de Tucumán). Recuperada de: <http://www.faz.unt.edu.ar/>
- Rapoport, E.; Marzocca, A.; Drausal, B. (2009). Malezas comestibles del cono sur. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Buenos Aires, Argentina. 216 p. Recuperado de: <http://caminosostenible.org/>
- Rice, E. (1984). Allelopathy (2° ed.). London: Academic Press.
- Rodríguez, J. (2012). Efecto de la solarización del suelo sobre la emergencia de malezas. *Agrociencia Uruguay*, 16(1), 79-85. Recuperado de: <http://www.scielo.edu.uy/>
- Roig, G.; Montull, JM.; Llenes, J.; & Taberner, A. (2017). Herbicidas alternativos en viña ecológica. XVI Congreso de la Sociedad Española de Malherbología. 381–384. Recuperado de: <https://academica-e.unavarra.es/>
- Sadeghi, S.; Ashrafi, Z. & Mashhadi, H. (2009). Inhibitive effects of barley (*Hordeum vulgare*) on germination and growth of seedling quack grass (*Agropyrum repens*). *Icelandic Agricultural Sciences*, 22, 37–43. Recuperado de: <https://www.researchgate.net/>

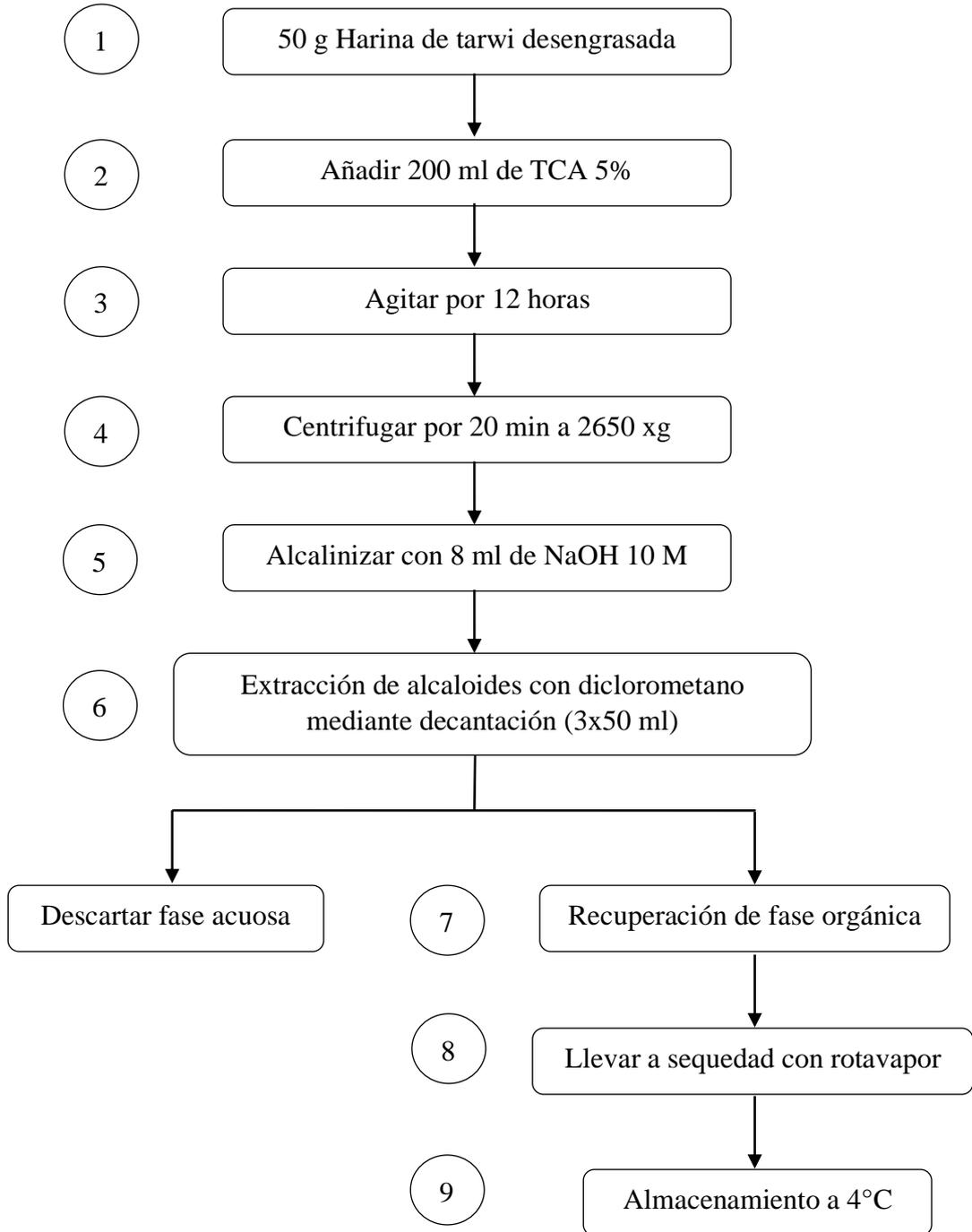
- Schoeneberger, H.; Gross, R.; Cremer, H. & Elmadfa, I. (1982). Composition and protein quality of *Lupinus mutabilis*. *The Journal of Nutrition*, 112(1), 70–76. doi: 10.1093/jn/112.1.70
- Senerman, M.; Florenzano, A.; Aguirre, M. (2016). Protocolo de la agricultura sustentable. ODEPA (Oficina de Estudios y Políticas Agrarias). Chile. Recuperado de: <https://www.odepa.gob.cl/>
- SIGIA-Sistema Integrado de Gestión de Insumos Agropecuarios. (2019). Consultas del Registro de Plaguicidas. Perú. Recuperado de: <https://servicios.senasa.gob.pe/>
- Smith-Fiola, D. & Gill, S. (2017). Vinegar: an Alternative to glyphosate?. University of Maryland Extension. doi: 10.1016/S0022-0248(99)00711-3
- Suca, G. & Suca, C. (2015). Potencial del tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) como futura fuente proteínica y avances de su desarrollo agroindustrial. *Rev. Per. Quím. Ing. Quím.*, 18, 55–71. Recuperado de: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/>
- Swiecicki, W. & Jach, K. (1980). Variation and evolution of alkaloid complex in yellow lupine (*Lupinus luteus* L.) during domestication. *Acta Agrobotanica*. 33: 177-195. doi: 10.5586/aa.1980.015
- Tapia, M. (2000). Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación (2° ed.). FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations. Santiago, Chile. Recuperado de: <http://www.fao.org/>
- Tapia, M. (2015). El Tarwi, Lupino Andino. Fondo Ítalo Peruano. Lima, Perú. Recuperado de: <http://fadvamerica.org/>
- USDA/ARS-United States Department of Agriculture/Agricultural Research Service. (2015). Germplasm Resources Information Network (GRIN). Online Database. Beltsville, Maryland, USA: National Germplasm Resources Laboratory. Recuperado de: <https://npgsweb.ars-grin.gov/>
- Velasco, E.; Valdivia, R. (1981). Origen y evolución del tarwi. Centro de Información para la Investigación Agrícola. Lima, Perú.
- Villacrés, E.; Peralta, E.; Cuadrada, L.; Revelo, I.; Abdo, S. (1998). Propiedades y aplicaciones del alcaloides del chocho: *Lupinus mutabilis*. Editorial Grafistas. *Boletín Técnico* 133. Quito, Ecuador. Recuperado de: <https://repositorio.iniap.gob.ec/>

- Villaseñor, J. & Espinosa, F. (1998). Catálogo de malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica. México, D.F.
- Walton, N. & Brown, D. (1999). Chemicals from plants: Perspectives on plant secondary products. *Imperial College Press*, Londres, UK.
- Weir, T.; Park, S. & Vivanco, J. (2004). Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. *Current Opinion in Plant Biology*, 7(4), 472–479. doi: 10.1016/j.pbi.2004.05.007
- Western Australian Herbarium. (2013). FloraBase. Australia: Western Australian Herbarium. Recuperado de: <http://florabase.dec.wa.gov.au/>
- Weston, L.; & Duke, S. (2003). Weed and crop allelopathy. *Critical reviews in plant sciences*, 22: 3-4. doi: 10.1080/713610861
- Wink, M. (1983). Inhibition of seed germination by quinolizidine alkaloids. *Planta*, 158(4), 365–368. doi: 10.1007/BF00397339
- Wink, M. & Latz-Brüning, B. (1995). Allelopathic properties of alkaloids and other natural products. *American Chemical Society*: 117–126. doi: 10.1021/bk-1995-0582.ch008
- Yang, L. & Stöckigt, J. (2010). Trends for diverse production strategies of plant medicinal alkaloids. *Natural Product Reports*, 27(10), 1469–1479. doi: 10.1039/c005378c
- Yepes, A.; Rodríguez, M.; Enriquez, P.; Zafra, H.; Villegas, S.; Barboza, Y. & Alvarado, P. (2009). Efecto antifúngico del extracto acuoso de semillas del chocho, *Lupinus mutabilis* sobre *Alternaria solani* y *Fusarium solani*. *Rebiol*, 29(1), 7.
- Yorgancilar, M.; Babaoglu, M.; Hakki, E. & Atalay, E. (2009). Determination of the relationship among Old World Lupin (*Lupinus* sp.) species using RAPD and ISSR markers. *African Journal of Biotechnology*, 8(15), 3524–3530. Recuperado de: <http://academicjournals.org/>
- Zárate, J.; García, R.; Zavala, F.; Pérez, R. & Soto, M. (2006). Fitotoxicidad de los extractos de *Calia secundiflora* (Ort.) Yakovlev. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 12(2), 197–202. Recuperado de: <https://www.researchgate.net/>

- Zamora, F.; García, P.; Ruiz, M. & Salcedo, E. (2008). Composición de alcaloides en semillas de *Lupinus mexicanus* (fabaceae) y evaluación antifúngica y alelopática del extracto alcaloideo. *Agrociencia*. Recuperado de: <http://www.scielo.org.mx/>
- Zegarra, G. (2010). Actividad deterrente y acaricida de principios activos de quinuas amargas, aceites esenciales y tarwi. (Tesis de licenciatura, Pontificia Universidad Católica del Perú). Recuperado de: <https://tesis.pucp.edu.pe/repositorio>
- Zeng, R.; Malik, A.; Luo, S. (2008). Allelopathy in sustainable agriculture and forestry. Springer Verlag, Germany. 412p.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Flujograma de extracción de alcaloides de *Lupinus mutabilis* Sweet.



ANEXO 2: Fotografías del proceso de extracción de alcaloides de tarwi



Imagen 1: Desengrasado de harina de tarwi con equipo Soxhlet.



Imagen 2: Agitación de la harina de tarwi con TCA en el *shaker*.



Imagen 3: Tubos Falcon luego del proceso de centrifugado.



Imagen 4: Extracción de alcaloides con en pera de decantación.



Imagen 5: Equipo rotavapor.

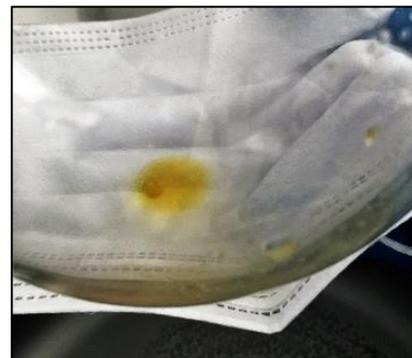


Imagen 6: Obtención de los alcaloides de tarwi.

ANEXO 3: Análisis de variancia del porcentaje de germinación (α al 0.05)

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F-CAL	p-VALOR	SIGNF
Especie	2	55665.36	27832.68	528.1343	0.0001	***
Dosis	4	15934.72	3983.68	75.5916	0.0001	***
Especie*Dosis	8	10420.64	1302.58	24.7168	0.0001	***
Error	60	3162	52.7			
Total	74	85182				
Coefficiente de Variación (%)					14.09	

ANEXO 4: Análisis de variancia de la longitud de radícula (α al 0.05)

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F-CAL	p-VALOR	SIGNF
Especie	2	2543.89	1271.94	154.2	0.0001	***
Dosis	4	6086.71	1521.68	184.47	0.0001	***
Especie*Dosis	8	1159.06	144.88	17.56	0.0001	***
Error	60	494.92	8.25			
Total	74	10284.58				
Coefficiente de Variación (%)					16.43	

ANEXO 5: Análisis de variancia de la longitud de hipocótilo (α al 0.05)

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F-CAL	p-VALOR	SIGNF
Especie	2	5296.4	2648.2	170.42	0.0001	***
Dosis	4	12776.3	3194.1	205.55	0.0001	***
Especie*Dosis	8	1370.8	171.4	11.03	0.0001	***
Error	60	932.3	15.5			
Total	74	20375.9			15.37	
Coefficiente de Variación (%)					15.37	

ANEXO 6: Prueba Tukey para el factor especie para % de germinación (α al 0.05)

Especie	% Germinación
<i>Bidens pilosa</i>	89.8 a
<i>Amaranthus dubius</i>	36.16 b
<i>Medicago polymorpha</i>	28.6 c

ANEXO 7: Prueba Tukey para el factor dosis para % de germinación (α al 0.05)

Dosis	% Germinación
T0 (0 mg/ml)	73.8 a
T1 (1.55 mg/ml)	59.6 b
T2 (3.1 mg/ml)	52.47 b
T3 (4.65 mg/ml)	38.07 c
T4 (6.2 mg/ml)	33.67 c

ANEXO 8: Análisis de variancia para la curva de germinación de *A. dubius* (α al 0.05)

F.V.	G.L.	Cuadrados Medios								
		1 dds	2 dds	3 dds	4 dds	5 dds	6 dds	7 dds	8 dds	9 dds
Dosis	4	0.75	0.79	0.8125	0.8	0.8125	0.825	0.84	0.84	0.84
Error	20	0.0055	0.009	0.0095	0.012	0.011	0.0105	0.0095	0.0095	0.0095
Total	24									
P-valor	0.0001									
Coefficiente de Variación (%)**		5.9	6.47	6.51	7.22	6.93	6.81	6.93	6.39	6.93

** Se realizó una transformación a estas variables debido a que no seguían los supuestos de homogeneidad de varianza y normalidad de errores

ANEXO 9: Prueba Tukey para la curva de germinación de *A. Dubius* (α al 0.05)

Dosis del extracto	% de Germinación (días después de la siembra)								
	1 dds	2 dds	3 dds	4 dds	5 dds	6 dds	7 dds	8 dds	9 dds
T0 (0 mg/ml)	66.4 a	82.4 a	84 a	84.8 a	85.6 a	86.4 a	86.4 a	86.4 a	86.4 a
T1 (1.55 mg/ml)	19.2 b	44 b	46.4 b	47.2 b	47.2 b	48 b	48.8 b	48.8 b	48.8 b
T2 (3.1 mg/ml)	1.6 c	27.2 c	28.8 c	32 b	34.4 b	36 b	38.4 b	38.4 b	38.4 b
T3 (4.65 mg/ml)	0 c	5.6 d	5.6 d	7.2 c					
T4 (6.2 mg/ml)	0 c	0 d	0 d	0 c	0 c	0 c	0 c	0 c	0 c

ANEXO 10: Análisis de variancia para la curva de germinación de *B. pilosa* (α al 0.05)

F.V.	G.L.	Cuadrados Medios								
		1 dds	2 dds	3 dds	4 dds	5 dds	6 dds	7 dds	8 dds	9 dds
Dosis	4	0.0575	0.7275	3325.76	3128.64	1964.8	1216.96	650.24	187.2	138.24
Error	20	0.008	0.017	84.16	75.84	45.44	55.04	30.72	28.16	29.12
Total	24									
P-valor		0.001	0.0001						0.001	0.007
Coefficiente de Variación (%)		8.5**	8**	18.92	16.8	11.23	11.39	8.17	7.45	7.51

** Se realizó una transformación a estas variables debido a que no seguían los supuestos de homogeneidad de varianza y normalidad de errores

ANEXO 11: Prueba Tukey para la curva de germinación de *B. Pilosa* (α al 0.05)

Dosis del extracto	% de Germinación (días después de la siembra)								
	1 dds	2 dds	3 dds	4 dds	5 dds	6 dds	7 dds	8 dds	9 dds
T0 (0 mg/ml)	1 b	74 ab	86 a	90 a	96 a	97 a	97 a	97 a	97 a
T1 (1.55 mg/ml)	9 a	78 a	83 a	85 a	90 a	94 a	95 a	95 a	95 ab
T2 (3.1 mg/ml)	1 b	52 b	79 a	82 a	88 a	91 ab	91 ab	91 ab	91 ab
T3 (4.65 mg/ml)	0 b	18 c	43 b	51 b	65 b	75 b	78 b	82 b	83 b
T4 (6.2 mg/ml)	0 b	2 c	12 c	16 c	36 c	50 c	63 c	80 b	83 b

ANEXO 12: Análisis de variancia para la curva de germinación de *M. polymorpha* (α al 0.05)

F.V.	G.L.	Cuadrados Medios								
		1 dds	2 dds	3 dds	4 dds	5 dds	6 dds	7 dds	8 dds	9 dds
Dosis	4	0.00125	0.08	0.1275	0.0975	0.06	0.06	0.0425	0.0475	0.055
Error	20	0.001	0.01	0.0175	0.01	0.0095	0.0095	0.0105	0.011	0.011
Total	24									
P-valor		0.431	0.0005	0.0008	0.0001	0.0021	0.0021	0.01	0.01	0.0067
Coefficiente de Variación (%)**		3.5	8.95	9.98	7.12	6.71	5.25	6.52	6.7	6.72

** Se realizó una transformación a estas variables debido a que no seguían los supuestos de homogeneidad de varianza y normalidad de errores

ANEXO 13: Prueba Tukey para la curva de germinación de *M. Polymorpha* (α al 0.05)

Dosis del extracto	% de Germinación (días después de la siembra)								
	1 dds	2 dds	3 dds	4 dds	5 dds	6 dds	7 dds	8 dds	9 dds
T0 (0 mg/ml)	0 a	12 a	21 a	28 a	30 a	32 a	34 a	36 a	38 a
T1 (1.55 mg/ml)	0 a	2 b	18 a	24 b	27 b	31 a	33 a	34 a	35 a
T2 (3.1 mg/ml)	0 a	3 b	12 b	15 c	20 c	24 b	27 b	28 b	28 b
T3 (4.65 mg/ml)	1 a	2 b	10 b	12 c	15 c	19 b	24 b	24 b	24 b
T4 (6.2 mg/ml)	0 a	0 b	2 b	7 c	13 c	14 b	18 b	18 b	18 b

ANEXO 14: Prueba Tukey para el factor especie para longitud de radícula (α al 0.05)

Especie	Longitud de Radícula (mm.)
<i>Bidens pilosa</i>	18.3517 a
<i>Amaranthus dubius</i>	8.2489 b
<i>Medicago polymorpha</i>	4.5777 c

ANEXO 15: Prueba Tukey para el factor especie para longitud de hipocótilo (α al 0.05)

Especie	Longitud de Hipocótilo (mm.)
<i>Bidens pilosa</i>	30.7438 a
<i>Amaranthus dubius</i>	12.9791 b
<i>Medicago polymorpha</i>	12.8559 b

ANEXO 16: Prueba Tukey para el factor dosis para longitud de radícula (α al 0.05)

Dosis	Longitud de Radícula (mm.)
T0 (0 mg/ml)	26.7565 a
T1 (1.55 mg/ml)	12.9491 b
T2 (3.1 mg/ml)	6.6597 c
T3 (4.65 mg/ml)	3.8508 c
T4 (6.2 mg/ml)	1.7475 c

ANEXO 17: Prueba Tukey para el factor dosis para longitud de hipocótilo (α al 0.05)

Dosis	Longitud de Hipocótilo (mm.)
T0 (0 mg/ml)	38.3589 a
T1 (1.55 mg/ml)	27.8689 b
T2 (3.1 mg/ml)	18.0587 c
T3 (4.65 mg/ml)	6.7179 d
T4 (6.2 mg/ml)	3.2937 d

ANEXO 18: Efecto del extracto acuoso de *L. mutabilis* en *A. dubius*



Imagen 1: Tratamiento T0 (0 mg/ml)

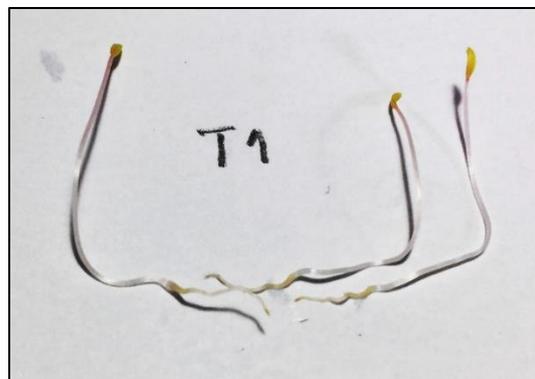


Imagen 2: Tratamiento T1 (1.55 mg/ml)



Imagen 3: Tratamiento T2 (3.1 mg/ml)

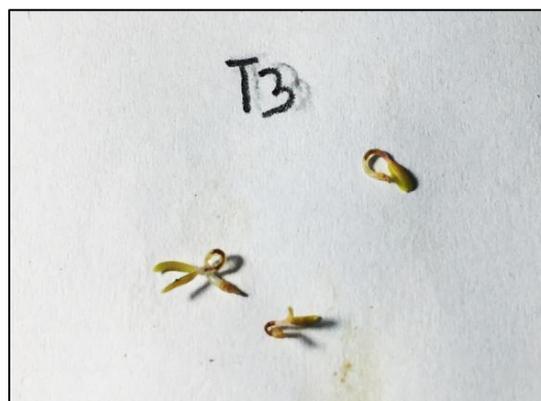


Imagen 4: Tratamiento T3 (4.65 mg/ml)

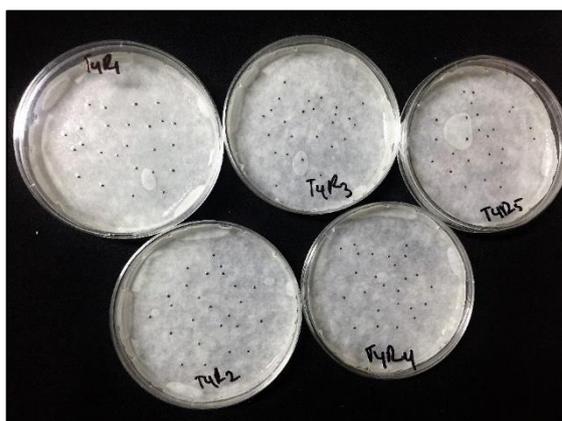


Imagen 5: Tratamiento T4 (6.2 mg/ml)



Imagen 6: Se realizó un corte longitudinal a las semillas del tratamiento T4 para observar el estado de la radícula.

ANEXO 19: Efecto del extracto acuoso de *L. mutabilis* en *B. pilosa*



Imagen 1: Tratamiento T0 (0 mg/ml)

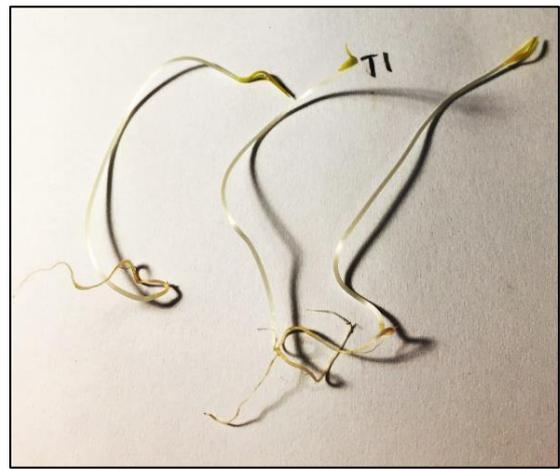


Imagen 2: Tratamiento T1 (1.55 mg/ml)

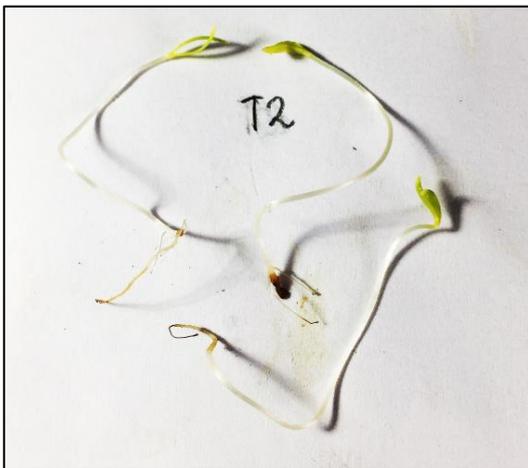


Imagen 3: Tratamiento T2 (3.1 mg/ml)



Imagen 4: Tratamiento T3 (4.65 mg/ml)



Imagen 5: Tratamiento T4 (6.2 mg/ml)

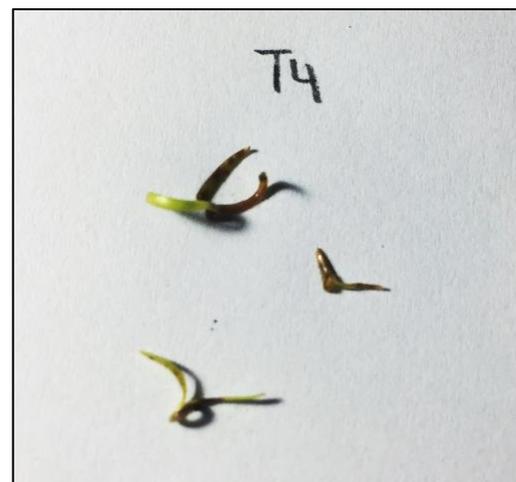


Imagen 6: Tratamiento T4 (6.2 mg/ml)

ANEXO 20: Efecto del extracto acuoso de *L. mutabilis* en *M. polymorpha*



Imagen 1: Tratamiento T0 (0 mg/ml)



Imagen 2: Tratamiento T1 (1.55 mg/ml)



Imagen 3: Tratamiento T2 (3.1 mg/ml)



Imagen 4: Tratamiento T3 (4.65 mg/ml)



Imagen 5: Tratamiento T4 (6.2 mg/ml)

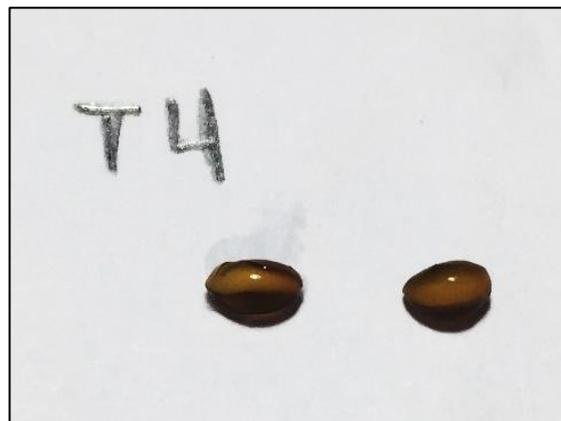


Imagen 6: Tratamiento T4 (6.2 mg/ml)