

Efecto de capsaicinoides en larvas de *Premnotrypes vorax* de papas (*Solanum tuberosum*) cosechadas y almacenadas en el Valle del Mantaro. Región Junín

Effect of capsaicinoids on larvae of *Premnotrypes vorax* of potatoes (*Solanum tuberosum*) harvested and stored in the Mantaro Valley. Junin Region

Gamarra Mendoza, N⁽¹⁾, Tito León, R⁽²⁾, Gamarra Poma, R⁽³⁾

⁽¹⁾Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Universidad Nacional del Centro del Perú

⁽²⁾ Escuela de Biología, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Cusco, Perú

⁽³⁾ Facultad de Ingeniería Agronómicas- Universidad Nacional del Centro del Perú

E-mail: aunonegame2016@outlook.com

Resumen: En el presente estudio se realizó bioensayos toxicológicos a base de capsaicinoides en larvas de *Premnotrypes vorax* (gusano de los Andes) presentes en papas cosechadas y almacenadas, estos insectos plaga están considerados como insectos perjudiciales económicamente, porque causan una pérdida de aproximadamente del 90% de la producción de este tubérculo. Se realizó la extracción de los capsaicinoides de la placenta de ají panca y luego se preparó diluciones (To, T1, T2, T3 y T4) de capsaicinoides y se aplicó a 10 unidades de larvas con dos repeticiones por cada tratamiento, el tiempo de exposición fue de 6 y 12 horas, al cabo de las 12 horas de contacto entre larvas y capsaicinoides se logró una mortandad superior al 66% en los tratamientos T3 a T2.

Palabras clave: Bioinsecticida, Capsaicinoides, larvas, *Premnotrypes vorax*, papa.

Abstrac: In the present study, toxicological bioassays based on capsaicinoids were performed on larvae of *Premnotrypes vorax* (Andean worm) present in harvested and stored potatoes, these pest insects are considered as economically harmful insects, because they cause a loss of approximately 90% of The production of this tuber. Capsaicinoids were extracted from the placenta of ají panca and then dilutions (To, T1, T2, T3 and T4) of capsaicinoids were prepared and applied to 10 units of larvae with two repetitions for each treatment, the exposure time It was 6 and 12 hours, after 12 hours of contact between larvae and capsaicinoids, a mortality greater than 66% was achieved in treatments T3 to T2.

Keywords: Bioinsecticide, Capsaicinoides, larvae, *Premnotrypes vorax*, potato

1. Introducción

La producción de papa en la Región Junín y en los Andes peruanos es una de las principales actividades de los agricultores y campesinos, quienes cultivan para autoconsumo y como fuente de ingreso económico para el sustento familiar, la producción de papa requiere gran inversión económica y mucha actividad cultural en el campo y en poscosecha, durante estas etapas factores adversos como depredadores, insectos plaga y factores climatológicos, afectan el rendimiento productivo del tubérculo y en consecuencia se ve perjudicado la economía de los pequeños agricultores.

Los principales insectos plaga, que atacan a los tubérculos de papa en periodo de cosecha y poscosecha son los *Premnotrypes vorax* (gusano blanco), polillas *Tesia salinovora* (polilla guatemalteca), *Phthorimaea operculella* y *Symmetrischema tangolias*, son las plagas más perjudiciales que afectan la producción y la calidad de la cosecha en Bolivia, Ecuador y Perú (CIP, 2011). Los agricultores utilizan insecticidas sintéticos muy tóxicos, para contrarrestar el ataque, pero con el paso del tiempo, genera problemas de salud, contaminación al medio ambiente y más aún la resistencia de estos insectos a tales plaguicidas (Gómez, s/f). El *Premnotrypes vorax* (*Coleoptera: Curculionidae*) (Pérez - Álvarez et al., 2010), conocido comúnmente como gusano blanco o gorgojo de los Andes, es la plaga más perjudicial e importante del cultivo de papa en los Andes de Colombia (Valencia, 1989) y Perú a partir de los 3200 msnm, en su forma adulta se alimenta de las hojas de papa y de malezas, sin embargo el daño más severo lo ocasionan las larvas (Figura 1 a, b), las cuales barrenan los tubérculos, penetran y se alimentan de la pulpa de las papas, y pueden llegar a causar pérdidas de hasta un 90% en la cosecha (Vélez, 1997), reduciendo el valor comercial del tubérculo, ya que simultáneamente se suma la proliferación y desarrollo de hongos que excretan micotoxinas dañinas a la salud del hombre, haciéndolo incomible al tubérculo. El principal problema que genera esta plaga es que no existe una técnica de detección de los adultos (gorgojos) que permita cuantificar las poblaciones de campo (Valencia, 1989). El control del gusano blanco se basa

casi exclusivamente en el empleo de insecticidas químicos dirigidos al estado adulto, muchos de los cuales son de categoría toxicológica I, es decir, extremadamente tóxicos (Zenner, 1990; Crissman et al., 2003; Arica et al., 2006). Frente al gran impacto económico negativo que causa la plaga, además de dificultades y problemas de contaminación asociados a su control, requiere desarrollar nuevas alternativas para el manejo del insecto en sus diferentes estadios, así como en larvas y en zonas específicas de infestación, como en áreas de cosecha y en almacén. Actualmente la introducción estratégica en términos de inocuidad de alimentos y control más limpio de insectos plaga, orienta al uso de residuos de vegetales con propiedades insecticidas y repelentes, que contienen compuestos promisorios como las piretrinas y azaradictinas (Ahmed y Grainge, 1986; Addor, 1995; Silva et al., 2002). En los últimos años y a causa de todos los problemas ocasionados por los agroquímicos, se están retomando las estrategias de control de plagas con extractos vegetales, lográndose resultados promisorios en diferentes especies a nivel mundial (Rodríguez, 2000; Mancebo et al., 2000), además los consumidores están tomando conciencia del riesgo que ocasionan los residuos agroquímicos en la salud humana. Entre la diversidad de plantas existentes en la naturaleza, aproximadamente unas 300 especies se han destacado por su poder nematocida e insecticida (Atehortúa, 1994). Los capsaicinoides son compuestos con principios bioactivos, con efecto repelente y biocida de insectos y otros depredadores de los frutos de *Capsicum*, se encuentran acumulados en las placentas, semillas y cáliz (subproductos) del fruto. En el presente estudio, se realizó la extracción de capsaicinoides de los residuos (placenta) de *Capsicum chinense* comúnmente conocido como ají panca en Perú y utilizados en el control de larvas de *Premnotrypes vorax* de papas cosechadas y en almacén

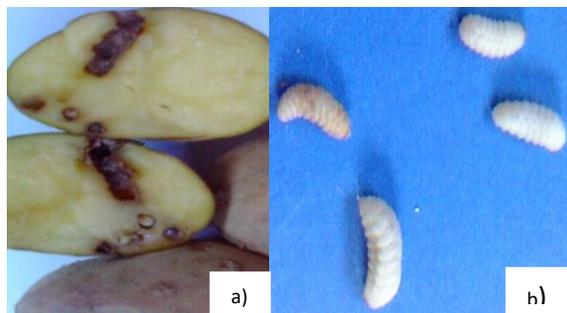


Figura 1. Papas barrenadas (a) por larvas de *Premnotrypes vorax* (b)

2. Materiales y métodos

Acondicionamiento de la placenta de ají panca y extracción de capsaicinoides

Se realizó la colecta de placentas de ají panca de la empresa Sason Lopesa de la ciudad de Huancayo y se trasladado al laboratorio de química de alimentos para iniciar el desarrollo experimental. Se separó las semillas de la placenta y luego se deshidró en una secadora de cabina a 50°C hasta 8 - 10% de humedad. Luego fue molido y tamizado hasta un tamaño de partícula menor a 0.425 mm para facilitar la extracción de los capsaicinoides. Seguidamente se realizó la extracción con etanol al 80% a 60°C y 270 rpm, el extracto obtenido se filtró y el sobrenadante se centrifugó a 5000 rpm por 15 min. Para separar las partículas sólidas presentes luego se filtró a vacío, y rotaevaporado (con un equipo marca Buchi) en 500 mm Hg por 15 min. hasta sequedad y luego se resuspendió con metanol de grado HPLC y se analizó el contenido de capsaicinoides por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) con un cromatografo marca Shimadzu y una columna Resteck de 250 mm x 4.6 μ m y 5 mm DI. Previamente se utilizó estándares de capsaicinoides: nordihidrocapsaicina, capsaicina y dihidrocapsaicina (adquiridos de Sigma – Aldrich) para la elaboración de la curva de calibración y con ello se cuantificó la cantidad de capsaicinoides en los extractos de placenta de ají panca. Seguidamente se almacenó a 4°C, hasta el momento de su aplicación en las larvas de *P. vorax*.

Bioensayos toxicológicos de capsaicinoides en larvas de *P. vorax* de papa en almacén

Se realizó la colecta de tubérculos de papa blanca comercial de almacenes de agricultores de la comunidad campesina de Azapampa, y se seleccionó los tubérculos atacados por *P. vorax* (figura 1). Mediante un estilete se realizó cortes transversales en los tubérculos y se encontraron las larvas de color blanco en el interior de las graderías formadas; así mismo se colecto las larvas del almacén que habían salido del interior de las papas para formar las pupas. Las larvas colectadas se colocaron en placas Petri (8 cm DI) en una cantidad de 10 unidades del mismo tamaño longitudinal (0,6 mm) y transversalmente (0,35 mm). Se preparó las diluciones de capsaicinoides en concentraciones de 0%(To), 25%(T1), 50%(T2), 75%(T3) y 100%(T4), simultáneamente se fijó cinco tratamientos con tres repeticiones. Además se estableció el contacto de las larvas con las soluciones de capsaicinoides en dos tiempos (bloques) B1 = 6 h y B2 = 12 h. En cada placa que contenía las larvas se adicionó 2 ml de las diluciones de capsaicinoides, al cabo de las 6 y 12 horas se monitoreó la sobrevivencia de las larvas, se observó la movilidad y el cambio de color de los insectos (figura 2).

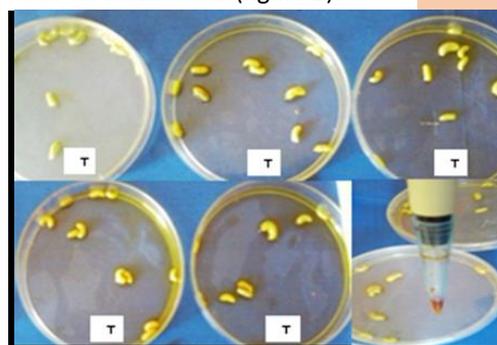


Figura 2. Tratamiento de larvas de *P. vorax* con diferentes concentraciones de capsaicinoides

Diseño estadístico para los bioensayos

Para testear el efecto de las concentraciones del bioinsecticida se aplicó un diseño bloque completo aleatorio (DBCA), donde los tratamientos (To – T4) fueron las diluciones de capsaicinoides y los bloques (B1 y B2) los tiempos de exposición de las larvas de *P. vorax* con capsaicinoides. El To era el tratamiento control, para el cual se utilizó agua potable. Los datos

obtenidos de los bioensayos toxicológicos fueron procesados y analizados mediante el análisis de varianza (ANVA) y el estadístico de Tukey con 5% de error, para el cual se utilizó el software del R, versión 3.5.3.

3. Resultados

Extracción y cuantificación de capsaicinoides

La cantidad de capsaicinoides totales obtenido de los extractos de placenta de ají panca fue de 1.92 mg/ml. En el cromatograma se obtuvo el perfil de capsaicinoides: nordihidrocapsaicina (NDHC), capsaicina (CAP) y dihidrocapsaicina (DHC), donde la CAP presentó un área y una altura mayor que NDHC y DHC, se deduce que la CAP se encuentra en mayor cantidad, que alcanza de 60 a 70%.

Bioensayos de toxicidad de larvas de *Premnotrypes vorax*

Usando diferentes dosis de capsaicinoides obtenidos de placenta de *Capsicum chinense* se aplicó en larvas de la tercera y cuarta etapa de desarrollo. En el tratamiento control (To) se utilizó agua con 0% de capsaicinoides, las larvas se expusieron durante 6 y 12 horas en el medio acuoso, y el porcentaje de mortandad fue 0% (figura 3), contrariamente mostraron mejor movilidad, coloración blanca y buena vitalidad en contacto con el agua potable, se mantuvieron vivos al 100%. Sin embargo las diluciones (T2 a T4) que contenían concentraciones de capsaicinoides de 50% a 100%, causaron un efecto mortal superior desde 50% a más después de 6 h de contacto con las larvas y al cabo de las 12 horas todas las diluciones mostraron un efecto letal en más del 60%. Las larvas progresivamente iban perdiendo movilidad por efecto de asfixia, tornándose desde color amarillo a marrón oscuro. La dosis de 25 % de capsaicinoides, causó un efecto de mortandad a 12 horas de exposición, mientras que con 50% del bioinsecticida ocurrió a seis horas de contacto. En la figura 4, se observa el porcentaje de mortandad de las larvas, donde el tratamiento T3 muestra un mayor efecto a 6 h y 12 h, siendo superior de 60 y 90%, respectivamente.

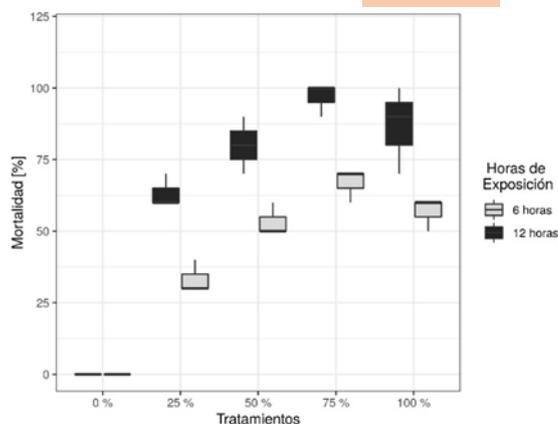


Figura 3. Porcentaje de mortalidad de larvas de *P.vorax* en relación al tiempo de exposición con capsaicinoides

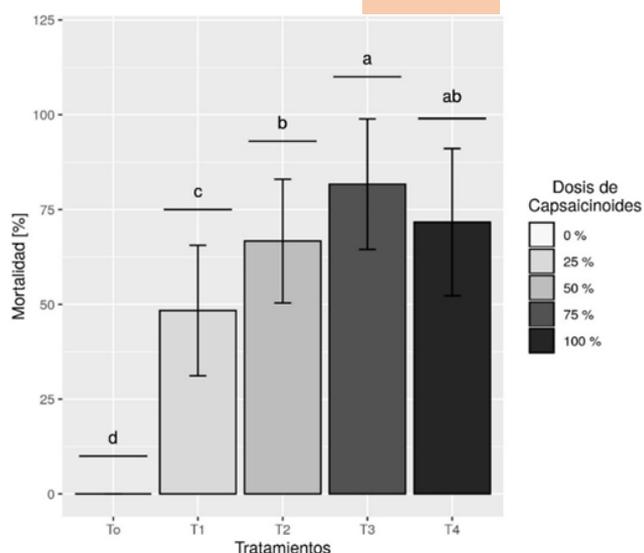


Figura 4. Porcentaje de mortalidad de larvas de *P.vorax* in vitro de papas en almacén

Tabla 1. Análisis de varianza de las concentración de capsaicinoides sobre larvas de *P. vorax*

| Fuente | G | Suma de Cuadros | Cuadrado medio | F | Pr>F |
|-------------|---|-----------------|----------------|------|-------|
| Tratamiento | 4 | 25113 | 6278 | 71.7 | 0.00* |
| os | | | | 5 | ** |

| | | | | |
|----------|---|------|-------|-------------|
| Bloques | 1 | 4083 | 46.67 | 0.00* ** |
| Residual | 2 | | | |
| | 4 | | | |

Los diferentes tratamientos (distintas concentraciones de capsaicinoides) utilizados en el control de la mortandad de la larvas de *P. vorax* mostraron alto efecto significativo ($P < 0.05$) (tabla 1). Así mismo, el efecto de los distintos tiempos de exposición de las larvas sobre los capsaicinoides presentaron alta diferencia significativa.

Tabla 2. Efecto significativo de la concentración de capsaicinoides sobre larvas de *P. vorax*

| Tratamientos | Promedios de mortalidad de grupos de larvas | | | |
|--------------|---------------------------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| T3 | 81.67 ^a | | | |
| T4 | | 71.67 ^{ab} | | |
| T2 | | | 66.67 ^b | |
| T1 | | | | 48.33 ^c |
| To | | | | 0.00 ^d |

Valores con letras diferentes, son significativamente diferentes en $P \leq 0.05$.

Al comparar estadísticamente el efecto de mortandad de las concentraciones de capsaicinoides en larvas de *P. vorax* (tabla 2), se observa que el T3 con 75% de capsaicinoides tiene un efecto mortal superior al 80% y es significativamente diferente a los T4, T2, T1 y To, mientras que el T4 no tiene efecto significativo ($P > 0,05$) comparado a T3 y T2, pero si con respecto a T1 y To. Los tratamientos T3, T4 y T2 son altamente tóxicos y presentan un efecto biopesticida superior al 50% de las larvas de *P. vorax*, mientras que T1 presentó un efecto menor de mortalidad. La correlación del incremento de las concentraciones de capsaicinoides en los tratamientos T1 a T3 y la mortalidad de las larvas de *P. vorax* presentó un valor de $R^2 = 0,988$ y un coeficiente de variabilidad de 19.35%, lo que indica que la mortalidad de las larvas en relación a los tratamientos y tiempos de exposición con los capsaicinoides, no mostraron alta dispersión de los datos obtenidos.

4. Discusión

El capsaicinoides predominante en la placenta de los frutos de *Capsicum chinense* comúnmente conocido como ají panca, una variedad de ají del Perú (Gavilán et al., 2018) fue la capsaicina. Los metabolitos secundarios más importantes de las especies de *Capsicum* con suficiente actividad bioactiva son los capsaicinoides, los cuales son derivados de bencilamina, difieren principalmente en su estructura química, que dependen de sus restos de acilo (Brossi, 1984; Fatoruso and Tagliatalata-Scafati 2008). La capsaicina, un derivado del ácido homovanílico (8-metil-N-vanillyl-6-nonenamida), es un componente activo y se encuentra entre 60-70% en los ajíes pungentes. El nivel de capsaicina en el pimiento sazonado es de alrededor del 0.025%, y en el pimiento picante alrededor del 0.25% (Lazić, 1995; Holzer, 1994). A partir de la concentración de capsaicinoides totales determinado en el estudio se preparó las diluciones para el biocontrol de las larvas de *P. vorax*. En el tratamiento To libre de capsaicinoides las larvas permanecieron vivas durante el tiempo de investigación. Valencia (1989) en sus estudios de campo con *P. vorax*, encontró que la emergencia de las larvas adultas está fuertemente influenciada por el agua de riego para los cultivos de papa. Observó que a los 2 días de iniciado el experimento comenzó la emergencia de adultos en la caja que recibió riego, mientras que en la caja sin riego no emergió ningún adulto durante todo el período de observación. Posteriormente, también aplicó riego a la caja que no había recibido anteriormente y se recuperó en los días siguientes una cantidad de adultos parecida a la obtenida en la caja con riego del experimento, lo anterior demuestra que el agua los estimula para emerger y seguir desarrollándose. La influencia de la humedad en el suelo (por ejemplo agua de lluvias) en la emergencia de los adultos del gusano blanco (*P. vorax*) y de otras especies estrechamente relacionadas que pertenecen al grupo "Gorgojos de los Andes", ha sido sugeridas por varios autores (Valencia, 1975; Alcázar, 1976; Calvache, 1987 y Yabar, 1988).

En el presente estudio la concentración de capsaicinoides desde 25% (v/v), 50%, 75% y 100%

presentaron un efecto biopesticidas en las larvas de *P. vorax*, el T3 (75%) tuvo mayor eficiencia en la mortandad de las larvas desde 80%. Koleva et al., (2000) realizaron la extracción de capsaicinoides de *Capsicum annuum ssp. Microcarpum* L. y los extractos fueron utilizados como ecobiopesticida contra el pulgón verde del durazno *Myzus persicae* Sulz, la dilución de 1:20 de capsaicinoides presentó el efecto biopesticidas más eficiente. Tunka et al., (2012) realizaron estudios de comportamiento del parasitoide en un olfatómetro, utilizando azadirachtin (LC50 y LC25), piretro (LC50 y LC25), capsaicina (1:32) y d-limoneno (1: 4), los resultados del estudio proporcionan evidencia de una interacción entre los extractos botánicos y control biológico. Los resultados encontrados en experimentos de laboratorio y de campo, sugieren fuertemente que los capsaicinoides pueden ser una alternativa ecológica a los pesticidas sintéticos. Diluciones de capsaicinoides (del 5% de concentración) pueden controlar eficazmente el *Aphis cytisorum* de *Spartium junceum*. Además, la rápida actividad biocida (tiempo corto) de los capsaicinoides es importante para la aplicación en el campo, donde algunos factores abióticos (por ejemplo, la lluvia) pueden influir en la efectividad de los pesticidas (Claros et al, 2019).

5. Conclusión

Los ensayos biotóxicos con capsaicinoides en concentraciones de 75% (T₃) y 50% (T₂) causaron una mortalidad de larvas de *P. vorax* en más de 81% y 66% en promedio a partir de las 6 horas de contacto, respectivamente. El uso de insecticidas botánicos tiene un impacto ambiental positivo y en la inocuidad alimentaria.

6. Referencias bibliográficas

- Addor, R.W. 1995. Insecticides. En: Godfrey, CRA. Agrochemicals from natural products. New York, Marcel Decker. 1-62 p
- Ahmed, S.; Grainge, M. 1986. Potential of the neem tree (*Azadirachta indica*) for pest control and rural development. *Economic Botany* 40(2):201-209.
- Alcázar, J. G. 1976. Biología y comportamiento del "Gorgojo de los Andes" *Premnotrypes suturicallus* Kuschel (Coleóptera: Curculionidae). Tesis para optar título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo. 80 p.
- Arica, D.; Kroschel, J.; Forbes, G.; Saint Pere, K. (2006). Persistent Organic Pollutants and Hazardous Pesticides in Andean Farming Communities in Peru. International Potato Center (CIP), Lima, Perú. 48 p.
- Brossi, A. (1984) The alkaloids. Chemistry and pharmacology, Academic Press, Orlando ,228-286.
- Calvache, H. 1986. Aspectos biológicos y ecológicos del gusano blanco de la papa *Premnotrypes vorax* (Hustache). p.p. 18-24. En: Valencia, L. (Edit.), Memorias del Curso sobre Control Integrado de Plagas de Papa. CIP-ICA, Colombia.
- Centro Internacional de la Papa (CIP). 2011. Desarrollo y aplicación de prácticas ecológicas en el manejo de plagas para incrementar la producción sostenible de papas de los agricultores de bajos recursos en las regiones andinas de Bolivia, Ecuador y Perú. 1 – 68.
- Crissman, C.; Espinosa, P.; Barrera, V. (2003). El uso de plaguicidas en la producción de papa en Carchi. En: Yanggen, D.; Crissman, C.; Espinosa, P. (eds.). Los plaguicidas: impactos en producción, salud y medio ambiente en Carchi, Ecuador. Quito. CIP e Iniap. Ediciones Abya Yala, p. 9-24.
- Claros, C. J.; Gamarra, M. N.; Pinillos, O.E.;Tito, R.; Seguil, M. C. (2019). Insecticidal Properties of Capsaicinoids and Glucosinolates Extracted from *Capsicum chinense* and *Tropaeolum tuberosum*. 10, 132; doi:10.3390/insects10050132.
- Fattorusso, E.;Tagliatalata-Scafati, O. (2008) Modern alkaloids: structure, isolation, synthesis and biology, Weinheim, 73-104

- Gómez, H. (s/f). Aplicación de hongos entomopatógenos en el control de plagas. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Ministerio de Agricultura. Perú. 1 – 73.
- Holzer, P. (1994). Capsaicin: cellular targets, mechanisms of action, and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmacol Rev* 43, 143–201
- Koleva, G. L.; Mitrev, S.; Maksimova, V.; Spasov, D. (2000) Content of capsaicin extracted from hot pepper (*Capsicum annuum* ssp. *Microcarpum* L.) and its use as an ecopesticide. "Goce Delcev" – University, Faculty of agricultural sciences.
- Lazić, B. 1995. Povrtarstvo, Paprika (*Capsicum annuum* L.), Poljoprivredni fakultet, Univerzitet Novi Sad, Jugoslavija
- Pérez-Álvarez, R.; Argüelles-Cárdenas, J.; Aguilera G. E. 2010. Distribución espacial de *Premnotrypes vorax* (Hustache) (Coleoptera: Curculionidae) en cultivos de papa. *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu.* 11(1), 11-20
- Tunca, H.; Kiliñer, N.; Özkan, C. 2012. Orijinal araştırma. Side-effects of some botanical insecticides and extracts on the parasitoid, *Venturia canescens* (Grav.) (Hymenoptera: Ichneumonidae) 1 Bazı bitkisel insektisitlerin ve ekstraktların *Venturia canescens* (Grav.) (Hymenoptera: Ichneumonidae) üzerindeki yan etkileri. *Türk. entomol. derg.* 36 (2): 205-214.
- Valencia, L. 1975. Problemas entomológicos de la papa. Centro Internacional de la Papa. Mimeo. 27 p.
- Valencia, V. (1989). El gusano blanco de la papa. *Premnotrypes vorax* (Hustache) en Colombia. Comportamiento de adultos en el campo. I.- *Revista Latinoamericana de la Papa.* 2: 57-70.
- Vélez, R. (1997). Plagas agrícolas de impacto económico en Colombia: biología y manejo integrado. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. 482 p.
- Yabar, E. 1988. Integración de prácticas culturales para el control del gorgojo de los Andes (*Premnotrypes* ssp.). *Revista Latinoamericana de la Papa* 1 (1): 120-131.
- Zenner de Polanía, I. (1990). Research and Management Strategies for Potato Insect Pest in Colombia. En: Hahn, S.K.; Caveness, F.E. (eds.). *Integrated Pest Management for Tropical Root and Tuber Crops. Proceedings of the Workshop on the Global Status of and Prospects for Integrated Pest Management of Root and Tuber Crops in the Tropics.* International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria. pp. 139-148.