



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**“EVALUACIÓN PARA EL APROVECHAMIENTO DE LAS
SAPONINAS DE LOS RESIDUOS DE QUINUA (*Chenopodium
quinoa* Willd) COMO INHIBIDORAS DE HONGOS
FITOPATÓGENOS”**

TRABAJO DE TITULACIÓN
TIPO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Presentado para optar el grado académico de:
INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTORA: IVONNE PRISCILA CARRILLO GUALANCAÑAY

DIRECTORA: Dra. Cs. ROSA DEL PILAR CASTRO GÓMEZ. PhD.

Riobamba – Ecuador

2019

2019, Ivonne Priscila Carrillo Gualancañay

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

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

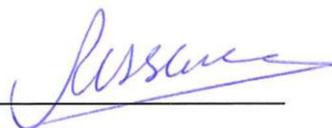
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

El Tribunal del trabajo de titulación certifica que: El trabajo de investigación: **“EVALUACIÓN PARA EL APROVECHAMIENTO DE LAS SAPONINAS DE LOS RESIDUOS DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd) COMO INHIBIDORAS DE HONGOS FITOPATÓGENOS”**, de responsabilidad de la señorita IVONNE PRISCILA CARRILLO GUALANCAÑAY, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

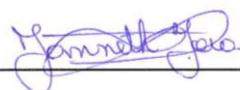
FECHA

Dra. Cs Rosa del Pilar Castro Gómez
**DIRECTORA DEL TRABAJO
DE TITULACIÓN**



2019-07-01

Dra. Lourdes Janneth Jara Samaniego
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



2019-07-01

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Ivonne Priscila Carrillo Gualancañay, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.



.....
Ivonne Priscila Carrillo Gualancañay

CI: 060411031-2

Yo, Ivonne Priscila Carrillo Gualancañay, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este Trabajo de Titulación y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación le pertenece a la Escuela Superior Politécnica De Chimborazo.

Ivonne Priscila Carrillo Gualancañay

DEDICATORIA

A mis padres, por brindarme siempre todo su apoyo y cariño, a mis hermanos que de alguna u otra forma siempre me han animado a seguir adelante y ser mejor persona. A mi sobrinita quien es la personita a quién más quiero y llena de luz mi vida. A mis amig@s con quienes he compartido casi toda una vida especialmente a Karina Ramírez y Karen Brito.

Ivonne Carrillo

AGRADECIMIENTO

A mis padres quienes siempre me han apoyado y comprendido.

A mis amig@s quienes de alguna u otra forma me han ayudado y me han demostrado una amistad verdadera.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, que me permite ser una persona profesional.

Mi más sincero agradecimiento al laboratorio Agromikroben por haberme recibido y facilitado los medios técnicos y los instrumentos de laboratorio para la presente investigación.

Mi más sincera gratitud a la Dra. Rosita Castro, Dra. Marcita Pesántez, Dra. Hortensita Díaz y Dra. Yelenys Alvarado, quienes durante en el proceso del estudio de la investigación me han guiado en cada paso que he dado, han dedicado su tiempo y compartido su conocimiento siendo importante para la culminación de la tesis y sobre todo agradecerles de una manera muy especial por la confianza que me han brindado, por su paciencia, solidaridad, humildad y cariño.

Ivonne Carrillo

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	xviii
ABSTRACT.....	xix
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1.	MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	5
1.1.	Antecedentes	5
1.2.	Marco Teórico	6
1.2.1.	<i>Quinoa (Chenopodium quinoa Willd)</i>	6
1.2.1.1.	<i>Taxonomía</i>.....	8
1.2.1.2.	<i>La Chenopodium quinoa Willd en el Ecuador</i>.....	8
1.2.1.3.	<i>Principales variedades de Chenopodium quinoa Willd en el Ecuador</i>	9
1.2.1.4.	<i>Propiedades nutricionales</i>	10
1.2.1.5.	<i>Usos de la Chenopodium quinoa Willd</i>	11
1.2.2.	<i>Saponinas</i>	12
1.2.2.1.	<i>Composición química de las saponinas</i>	12
1.2.2.2.	<i>Propiedades y usos de las saponinas</i>	13
1.2.2.3.	<i>Saponinas de la Chenopodium quinoa Willd</i>.....	14
1.2.3.	<i>Métodos de extracción de saponinas</i>	14
1.2.3.1.	<i>Extractor Soxhlet</i>.....	15
1.2.3.2.	<i>Funcionamiento del equipo Soxhlet</i>	15
1.2.3.3.	<i>Ventajas del método Soxhlet</i>	16
1.2.3.4.	<i>Desventajas del método Soxhlet</i>.....	16
1.2.4.	<i>Cuantificación de saponinas</i>	16
1.2.4.1.	<i>Método espectrofotométrico uv-vis</i>	17
1.2.5.	<i>Hongos fitopatógenos de importancia agrícola</i>	17
1.2.5.1.	<i>Fusarium sp.</i>.....	17

1.2.5.1.1.	<i>Taxonomía</i>	17
1.2.5.1.2.	<i>Características morfológicas</i>	18
1.2.5.2.	<i>Rhizoctonia</i> sp.	19
1.2.5.2.1.	<i>Taxonomía</i>	19
1.2.5.2.2.	<i>Características morfológicas</i>	20
1.2.5.3.	<i>Pythum</i> sp.	20
1.2.5.3.1.	<i>Descripción</i>	20
1.2.5.3.2.	<i>Taxonomía</i>	20
1.2.5.3.3.	<i>Características morfológicas</i>	21
1.2.5.4.	<i>Alternaria</i> sp.	21
1.2.5.4.1.	<i>Taxonomía</i>	22
1.2.5.4.2.	<i>Características morfológicas</i>	22
1.2.5.5.	<i>Botrytis</i> sp.	22
1.2.5.5.1.	<i>Taxonomía</i>	23
1.2.5.5.2.	<i>Características morfológicas</i>	23
1.2.6.	<i>Hongos fitopatógenos y su importancia económica</i>	24

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	25
2.1.	Hipótesis y especificación de las variables	25
2.1.1.	<i>Hipótesis</i>	25
2.1.2.	<i>Variables</i>	25
2.1.2.1.	<i>Variable dependiente</i>	25
2.1.2.2.	<i>Variable independiente</i>	25
2.1.2.3.	<i>Variables intervinientes</i>	25
2.2.	Tipo y diseño de la investigación	26
2.3.	Lugar de la investigación	26
2.4.	Diseño experimental	26
2.5.	Unidad de análisis	27
2.6.	Población de estudio	28

2.7.	Tamaño de muestra.....	28
2.8.	Selección de la muestra	28
2.9.	Material Biológico	29
2.10.	Material Vegetal	29
2.11.	Técnica de recolección de datos	29
2.11.1.	<i>Fase de laboratorio</i>	29
2.11.2.	<i>Tratamientos estadísticos</i>	30
2.11.3.	<i>Mecanismos de las fases de laboratorio</i>	30
2.11.3.1.	<i>Estimación de la concentración de saponinas del material vegetal (grano y residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd) mediante el método afrosimétrico.</i>	30
2.11.3.2.	<i>Extracción de saponinas de los residuos (episperma) de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd mediante el método Soxhlet</i>	31
2.11.3.3.	<i>Cuantificación de la concentración del extracto acuoso de saponinas por el método espectrofotométrico uv-vis.</i>	31
2.11.3.4.	<i>Obtención de cepas de hongos Fitopatógenos (<i>Fusarium</i> sp., <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Pythium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp. y <i>Botrytis</i> sp.)</i>	33
2.11.3.5.	<i>Determinación del ritmo de crecimiento in vitro de las cepas fúngicas</i>	36
2.11.3.6.	<i>Evaluación de la actividad antifúngica de las saponinas frente a los hongos fitopatógenos.</i>	36

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.....	38
3.1.	Resultados de la estimación de la concentración de saponinas del material vegetal por el método afrosimétrico.	38
3.2.	Obtención del extracto de saponinas mediante el método Soxhlet a partir de una variedad de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	39
3.3.	Resultados de la cuantificación de las concentraciones de los extractos de saponinas por el método espectrofotómetro UV-vis.....	39
3.4.	Identificación macroscópica y microscópica de los hongos fitopatógenos.	42
3.4.1.	<i>Fusarium</i> sp.	42
3.4.2.	<i>Rhizoctonia</i> sp.	42
3.4.3.	<i>Pythium</i> sp.	43
3.4.4.	<i>Alternaria</i> sp.	43

3.4.5.	<i>Botrytis</i> sp.	44
3.5.	Pruebas de crecimiento <i>in vitro</i> de los hongos fitopatógenos.....	45
3.5.1.	<i>Fusarium</i> sp.	45
3.5.2.	<i>Rhizoctonia</i> sp.	46
3.5.3.	<i>Pythium</i> sp.	47
3.5.4.	<i>Alternaria</i> sp.	48
3.5.5.	<i>Botrytis</i> sp.	49
3.6.	Evaluación a nivel de laboratorio de la actividad antifúngica del extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd (<i>episperma</i>) frente a <i>Fusarium</i> sp.	51
3.7.	Evaluación a nivel de laboratorio de la actividad antifúngica del extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd (<i>episperma</i>) frente a <i>Rhizoctonia</i> sp.	53
3.8.	Evaluación a nivel de laboratorio de la actividad antifúngica del extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd (<i>episperma</i>) frente a <i>Pythium</i> sp.	55
3.9.	Evaluación a nivel de laboratorio de la actividad antifúngica del extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd (<i>episperma</i>) frente a <i>Alternaria</i> sp.	57
3.10.	Evaluación a nivel de laboratorio de la actividad antifúngica del extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd (<i>episperma</i>) frente a <i>Botrytis</i> sp.	59
3.11.	Actividad antifúngica del extracto acuoso de saponinas frente a <i>Fusarium</i> sp., <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Pythium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp y <i>Botrytis</i> sp. a las 72 horas de incubación.	61
3.12.	Actividad antifúngica del extracto acuoso de saponinas frente a <i>Fusarium</i> sp., <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Pythium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp y <i>Botrytis</i> sp. a las 144 horas de incubación.	63
3.13.	Actividad antifúngica del extracto acuoso de saponinas frente a <i>Fusarium</i> sp., <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Pythium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp y <i>Botrytis</i> sp. a las 216 horas de incubación.	65
	CONCLUSIONES.....	69
	RECOMENDACIONES.....	70
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

mm	milímetros
mg/L	miligramos por litros
cm	centímetros
C1	Concentración de saponinas del extracto de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 100%
C2	Concentración de saponinas del extracto de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 87.5%
C3	Concentración de saponinas del extracto de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 75%
C4	Concentración de saponinas del extracto de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 50%
C5	Concentración de saponinas del extracto de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 37.5%
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Planta de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.....	7
Figura 1-2: Estructura de las saponinas.....	13
Figura 1-3: Morfología de <i>Fusarium</i> sp.....	18
Figura 1-4: Morfología de <i>Rhizoctonia</i> sp.....	20
Figura 1-5: Morfología de <i>Pythium</i> sp.....	21
Figura 1-6: Morfología de <i>Alternaria</i> sp.....	22
Figura 1-7: Morfología de <i>Botrytis</i> sp.....	23
Figura 3-1: Fotografías de la reacción de Liebermann-Burchard con las concentraciones del extracto de saponinas.....	39
Figura 3-2: Cepa de <i>Fusarium</i> sp y al microscopio con el objetivo 40x.....	42
Figura 3-3: Cepa de <i>Rhizoctonia</i> sp. al microscopio con el objetivo 40x.....	43
Figura 3-4: Cepa de <i>Pythium</i> sp. y al microscopio con el objetivo 40x.....	43
Figura 3-5: Cepa de <i>Alternaria</i> sp. y al microscopio con el objetivo 40x.....	44
Figura 3-6: Cepa de <i>Botrytis</i> sp. y al microscopio con el objetivo 40x.....	44
Figura 3-7: Colonias de <i>Fusarium</i> sp. crecidas en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas.....	46
Figura 3-8: Colonias de <i>Rhizoctonia</i> sp. crecidas en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas.....	47
Figura 3-9: Colonias de <i>Pythium</i> sp. crecidas en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas.....	48
Figura 3-10: Colonias de <i>Alternaria</i> sp. crecidas en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas.....	49
Figura 3-11: Colonias de <i>Botrytis</i> sp. crecidas en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas.....	50

Figura 3-12: Crecimiento del hongo <i>Fusarium</i> sp. en el extracto acuoso de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd a los 9 días.....	52
Figura 3-13: Crecimiento del hongo <i>Rhizoctonia</i> sp. en el extracto acuoso de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd a los 9 días.....	54
Figura 3-14: Crecimiento del hongo <i>Pythium</i> sp. en el extracto acuoso de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd (<i>episperma</i>) a los 9 días.....	55
Figura 3-15: Crecimiento del hongo <i>Alternaria</i> sp. en el extracto acuoso de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd (<i>episperma</i>) a los 6 días.....	58
Figura 3-16: Crecimiento del hongo <i>Botrytis</i> sp. en el extracto acuoso de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd (<i>episperma</i>) a los 9 días.....	60

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 3-1: Cuantificación de saponinas de los extractos de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd mediante el método espectrofotométrico uv-vis.....	41
Gráfico 3-2: Ritmo de crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Fusarium</i> sp. en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas.....	45
Gráfico 3-3: Ritmo de crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Rhizoctonia</i> sp. en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas.....	46
Gráfico 3-4: Ritmo de crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Pythium</i> sp. en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas.....	47
Gráfico 3-5: Ritmo de crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Alternaria</i> sp. en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas.....	48
Gráfico 3-6: Ritmo de crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Botrytis</i> sp. en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas.....	49
Gráfico 3-7: Curva de regresión lineal de <i>Fusarium</i> sp. frente al extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd (<i>episperma</i>), incubado a 28 °C a los 9 días.....	51
Gráfico 3-8: Curva de regresión lineal de <i>Rhizoctonia</i> sp. frente al extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd (<i>episperma</i>), incubado a 28 °C a los 9 días.....	53
Gráfico 3-9: Curva de regresión lineal de <i>Pythium</i> sp. frente al extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd (<i>episperma</i>), incubado a 28 °C a los 6 días.....	55
Gráfico 3-10: Curva de regresión lineal de <i>Alternaria</i> sp. frente al extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd (<i>episperma</i>), incubado a 28 °C a los 6 días.....	57
Gráfico 3-11: Curva de regresión lineal de <i>Botrytis</i> sp. frente al extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd (<i>episperma</i>), incubado a 28 °C a los 9 días.....	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Clasificación taxonómica de la <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.....	8
Tabla 1-2: producción del grano de la <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.....	9
Tabla 1-3: Componentes del grano de la <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.....	10
Tabla 1-4: Clasificación taxonómica de <i>Fusarium</i> sp.....	18
Tabla 1-5: Clasificación taxonómica de <i>Rhizoctonia</i> sp.....	19
Tabla 1-6: Clasificación taxonómica de <i>Pythium</i> sp.....	21
Tabla 1-7: Clasificación taxonómica de <i>Alternaria</i> sp.....	22
Tabla 1-8: Clasificación taxonómica de <i>Botrytis</i> sp.....	23
Tabla 2-1: Tratamientos para determinar el efecto de extractos acuosos de saponinas de residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd (<i>episperma</i>) sobre cinco cepas de hongos fitopatógenos.....	27
Tabla 2-2: Preparación porcentual del extracto acuoso de saponinas en tubos de ensayo.....	31
Tabla 2-3: Preparación del reactivo Liebermann-Burchard.....	32
Tabla 2-4: Concentración del extracto acuosa de saponinas para cada concentración ensayada...37	
Tabla 3-1 Estimación de la concentración de saponinas del material vegetal por el método afrosimetrico.....	38
Tabla 3-2: Datos de la absorbancia de las saponinas y concentración de saponinas puras.....	40
Tabla 3-3: Porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo <i>Fusarium</i> sp. presente en las concentraciones de los extractos de saponinas frente al control.....	51
Tabla 3-4: Porcentaje de inhibición o estimulación del crecimiento del hongo <i>Rhizoctonia</i> sp. presente en las concentraciones de los extractos de saponinas frente al control.....	53
Tabla 3-5: Porcentaje de inhibición o estimulación del crecimiento del hongo <i>Pythium</i> sp. presente en las concentraciones de los extractos de saponinas frente al control.....	55
Tabla 3-6: Porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo <i>Alternaria</i> sp. presente en las concentraciones de los extractos de saponinas frente al control.....	57

Tabla 3-7: Porcentaje de inhibición o estimulación del crecimiento del hongo <i>Botrytis</i> sp. presente en las concentraciones de los extractos de saponinas frente al control.....	59
Tabla 3-8: Análisis de varianza para la variable actividad antifúngica de <i>Fusarium</i> sp., <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Pythium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp. y <i>Botrytis</i> sp. a las 72 horas.....	61
Tabla 3-9: Prueba de tukey al 5% para la actividad antifúngica de <i>Fusarium</i> sp., <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Pythium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp. y <i>Botrytis</i> sp. a las 72 horas.....	62
Tabla 3-10: Análisis de varianza para la variable actividad antifúngica de <i>Fusarium</i> sp., <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Pythium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp. y <i>Botrytis</i> sp. a las 144 horas.....	63
Tabla 3-11: Prueba de tukey al 5% para la actividad antifúngica de <i>Fusarium</i> sp., <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Pythium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp. y <i>Botrytis</i> sp., a las 144 horas.....	64
Tabla 3-12: Análisis de varianza para la variable actividad antifúngica de <i>Fusarium</i> sp., <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Pythium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp. y <i>Botrytis</i> sp. a las 216 horas.....	65
Tabla 3-13: Prueba de tukey al 5% para la actividad antifúngica de <i>Fusarium</i> sp., <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Pythium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp. y <i>Botrytis</i> sp., a las 216 horas.....	66

RESUMEN

En este trabajo se procedió a obtener un extracto acuoso de saponinas a partir de residuos de *episperma* de *Chenopodium quinoa* Willd, para inhibir el crecimiento *in vitro* de hongos fitopatógenos (*Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp., y *Botrytis* sp.) aislados a partir de tubérculos de *Solanum tuberosum*, *Rubus ulmifolius*, muestras de suelo y hojas en medio de cultivo PDA. Se aplicó el método afrosimétrico para determinar la existencia de saponinas en *Chenopodium quinoa* Willd y verificar que éstas pertenecieran a una variedad amarga, a partir de esto se obtuvo el extracto acuoso de saponinas mediante el método Soxhlet, se aplicaron cinco concentraciones al 100 %, 87.5%, 75%, 50% y 37.5% V/V. Se empleó el método espectrofotométrico UV-vis para cuantificar el contenido de saponinas en los extractos a una longitud de onda de 528 nm. Las concentraciones de los extractos acuosos de saponinas con medio de cultivo Potato Dextrosa Agar (PDA) fueron colocadas en cajas Petri y se procedió a inocular los hongos en estudio para observar y medir su crecimiento *in vitro* durante nueve días. Se estableció un diseño completamente al azar (DCA) utilizando cinco tratamientos, se aplicó separación de medias mediante la prueba de Tukey al 5% a las 72, 144 y 216 horas para establecer el mejor tratamiento. Los resultados obtenidos demostraron que el extracto acuoso de saponinas presenta mayor porcentaje de inhibición del crecimiento *in vitro* de *Alternaria* sp. y *Fusarium* sp. con un valor de 89.5% y 26.42% respectivamente, para *Rhizoctonia* sp. el porcentaje de inhibición fue bajo con un valor de 3.26% a 3.72% en las concentraciones del 87.5% y 75%, para *Pythium* sp. el porcentaje de inhibición fue de 12.01% y 6.86% en las concentraciones de 37.5% y 75%, mientras que en las demás concentraciones se estimuló el crecimiento del hongo, para *Botrytis* sp. el porcentaje de inhibición fue de 28.48%.

Palabras clave: <BIOTECNOLOGÍA>, <QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd)>, <EPISPERMA>, <EXTRACTOR SOXHLET>, <SAPONINAS>, <HONGO (*Fusarium* sp.)>, <HONGO (*Rhizoctonia* sp.)>, <HONGO (*Pythium* sp.)>, <HONGO (*Alternaria* sp.)> <HONGO (*Botrytis* sp.)>.



ABSTRACT

In this research work an aqueous saponins extraction was obtained from residues of *Chenopodium quinoa* Willd episperm, to inhibit the in-vitro growth of phytopathogenic fungi (*Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp., And *Botrytis* sp.) isolated from tubers of *Solanum tuberosum*, *Rubus ulmifolius*, soil and leaf samples in PDA culture medium. The afrosimetric method was applied to determine the existence of saponins in *Chenopodium quinoa* Willd and it was verified that they belong to a diverse range of bitter plants, from this procedure, the aqueous saponins extraction was obtained through the Soxhlet method, 5 concentrations were applied at 100%, 87.5 %, 75%, 50% and 37.5% V/V. The UV-vis spectrophotometric method was used to quantify the saponins extracts content at a wavelength of 528 nm. The concentrations of the aqueous saponins extracts with Potato Dextrose Agar (PDA) culture medium were placed in Petri dishes and the fungi under study were inoculated in order to observe and measure their in-vitro growth for nine days. A completely randomized design (CRD) was established using five treatments, study levels separation was applied by using the Tukey test at 5% at 72,144 and 216 hours to determine the best possible treatment. The results obtained showed that the aqueous saponins extract has a higher percentage of in-vitro growth inhibition of *Alternaria* sp. and *Fusarium* sp. with a value of 89.5% and 26.42% respectively, for *Rhizoctonia* sp. the percentage of inhibition was low with a value of 3.26% to 3.72% in the concentrations of 87.5% and 75%, for *Pythium* sp. the percentage of inhibition was 12.01% and 6.86% in the concentrations of 37.5% and 75%, while in the other concentrations the fungus growth was stimulated, for *Botrytis* sp. the inhibition percentage was 28.48%.

KEYWORDS: <BIOTECHNOLOGY>, <QUINOA (*Chenopodium quinoa* Willd)>, <EPISPERM>, <SOXHLET EXTRACTOR>, <SAPONINS>, <FUNGUS (*Fusarium* sp.)>, <FUNGUS (*Rhizoctonia* sp.)>, <FUNGUS (*Pythium* sp.)>, <FUNGUS (*Alternaria* sp.)>, < FUNGUS (*Botrytis* sp.)>.



INTRODUCCIÓN

Identificación del Problema

A nivel de Latinoamérica la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) es el segundo grano más cultivado y provoca grandes acumulaciones de residuos donde muchos de éstos no son aprovechados de manera adecuada y se depositan en vertederos o a cielo abierto (Meyhuay, 2013).

En la provincia de Chimborazo, Ecuador, uno de los principales productos agrícolas generados es la *Chenopodium quinoa* Willd, la cual se utiliza para el autoconsumo y la exportación (Suquilanda, 2012). A nivel local existen empresas las cuales, para el proceso de beneficiado del grano de la *Chenopodium quinoa* Willd, utilizan el método de abrasión mecánica, que consiste en separar el grano de la *episperma* (Bacigalupo y Tapia, 2000; Apaza *et al.*, 2016), y uno de los principales problemas a la hora de desechar es la presencia de saponinas, ya que estos glucósidos son ligeramente tóxicos (García *et al.*, 2018).

La *Chenopodium quinoa* Willd, dependiendo de su variedad, posee cierto contenido de saponinas (Szakiel *et al.*, 2011), las cuales tienen cierto efecto en la eliminación de conidios de los hongos (Apaza *et al.*, 2016), lo cual podría ser aprovechado para inhibir hongos fitopatógenos que dañan los cultivos, y a la vez podrían reemplazar grandes cantidades de agroquímicos que causan alteraciones al ambiente ya que de una u otra manera inciden en la generación de altas concentraciones de compuestos xenobióticos y dificultan la preservación de los ecosistemas, los recursos naturales, la calidad de productos de consumo, y además afecta la salud de las comunidades que se encuentran expuestas. En las últimas décadas se ha conseguido obtener la productividad en un tiempo relativamente corto, donde este resultado ha conllevado un serio problema de contaminación y envenenamiento (del Puerto Rodríguez *et al.*, 2014).

Los hongos fitopatógenos tienen la característica de ser organismos eucariontes, poseen núcleos verdaderos, pared gruesa, no son organismos fotosintéticos, así como también no tiene hojas, tallo ni raíces, La mayoría de las especies de hongos son saprófitas, sin embargo, un número de ellas son parásitos de las plantas, debido a que necesitan un hospedador para completar su ciclo biológico (García, 2004).

Se sabe que el uso de fungicidas hace que los hongos fitopatógenos se vuelvan más resistentes, o inclusive aparecen nuevas especies de hongos patógenos (Villa *et al.*, 2014). Por tal razón, es necesario buscar alternativas para su manejo donde el uso de los residuales de *Chenopodium*

quinoa Willd (episperma) podría ser una alternativa viable y a su vez contribuiría en el aprovechamiento de los residuos y utilidad debido a que ya se han identificado 30 tipos diferentes de saponinas en toda la planta (Ahumada *et al.*, 2016).

Con el enunciado planteado anteriormente, esta investigación conlleva a la formulación de la pregunta central del problema:

¿Son las saponinas de los residuos de la *episperma* de *Chenopodium quinoa* Willd eficientes para la inhibición del crecimiento de hongos fitopatógenos?

Justificación

Las saponinas tienen gran actividad microbicida, propiedades tensoactivas, insecticida natural, molusquicida, actividad antifúngica, etc (Francis *et al.*, 2002).

En países como Ecuador, Colombia, Perú entre otros, la *episperma* de *Chenopodium quinoa* Willd se caracteriza por poseer contenidos variables de saponinas siendo los responsables del sabor amargo (Rojas, 2012). Su contenido permite distinguir las variedades de *Chenopodium quinoa* Willd como dulces (0,11%) o amargas (>0,11%) (Gómez, 2014; Ahumada *et al.*, 2016).

Considerando las propiedades que tiene la *episperma* de *Chenopodium quinoa* Willd, sería apropiado aprovechar los residuos para el control biológico de los cultivos que son afectados por hongos fitopatógenos.

Este tipo de actividades se enmarca en las tendencias de la biotecnología ambiental porque se centra en el aprovechamiento de los residuos en este caso la *episperma* de la *Chenopodium quinoa* Willd.

Debería valorizarse este tipo de residuos para aprovechar las cualidades que éstos tienen y que no vaya a parar en los botaderos a cielo abierto de cualquier punto territorial. Los residuos de la *Chenopodium quinoa* Willd generan o abren campo a nuevas investigaciones para poder controlar afectos adversos sobre el ambiente.

Ha sido demostrado mediante varias investigaciones que algunos hongos fitopatógenos inhiben su crecimiento al reaccionar frente a la actividad de las saponinas en extracto etanólico (Lozano *et al.*, 2012; Coello, 2015; Apaza *et al.*, 2016; Arcos, 2017; Alegre *et al.*, 2017). Sin embargo, para facilitar su aplicación y que pueda ser utilizado por los productores y a su vez aprovechar las

aguas residuales del proceso de obtención del grano, se busca comprobar cuán factible es aprovechar las saponinas extraídas en extracto acuoso. Se podrían obtener varios beneficios como el aprovechamiento de los residuos, control biológico de hongos y disminución del impacto ambiental.

Con este proceso se disminuye el uso de fungicidas, agroquímicos, compuestos xenobióticos que son altamente acumulables en el entorno y que generan efectos adversos en el tiempo.

Este trabajo de titulación está incluido en las dos sublíneas de investigación de la carrera de Ingeniería en Biotecnología Ambiental:

Sub línea de biotecnología y sub línea de tecnología de tratamiento de recursos y residuos.

El presente trabajo tiene el aval de AGROMIKROBEN empresa dedicada a la elaboración de productos biológicos para la agricultura, que garantiza el cumplimiento del estudio propuesto y que además promoverá el uso en su laboratorio.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el aprovechamiento de las saponinas de los residuos de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) como inhibidoras de hongos fitopatógenos.

Objetivos Específicos

- Obtener extractos acuosos de saponinas mediante el método Soxhlet a partir de episperma de *Chenopodium quinoa* Willd.
- Cuantificar las saponinas presentes en los extractos acuosos.
- Obtener cepas de cinco hongos fitopatógenos (*Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp., *Botrytis* sp.).
- Determinar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto acuoso de saponinas frente a los patógenos aislados.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Antecedentes

Arcos (2017) realizó pruebas de extracción de saponinas en extracto acuoso y etanólico del grano de la *Chenopodium quinoa* Willd y su *episperma*, y fueron aplicadas a hongos causales del damping off, de los cuales las saponinas en extracto etanólico de la *episperma* demostraron tener mayor actividad antifúngica frente al grano de *Chenopodium quinoa* Willd, y las saponinas en extracto acuoso tanto del grano como el de la *episperma* estimuló el crecimiento de los hongos.

Tenorio *et al.* (2010) realizó pruebas para evaluar la actividad biocontroladora del extracto de saponinas de la *episperma* de *Chenopodium quinoa* Willd y extracto de *Caiophora andina*, donde el primero presentó mayor porcentaje de inhibición frente a *Aspergillus flavu*, y *Fusarium* spp. excepto *Ulocladium* spp. de 42%, 47.6% y 35% respectivamente, mientras que el segundo extracto presenta porcentajes de inhibición de 20.1%, 28.3 % y 36.89%.

Apaza *et al.* (2016) realizó el aislamiento de *Cercospora beticola* Sacc. a partir de cultivo de acelga (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) en el cual aplicó una concentración de 5 mg/ml hasta 250 mg/ml de extracto de saponinas, manifestando resultados prometedores, indicando que presenta una inhibición del 95%.

Para la extracción de saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd se han empleado diferentes métodos entre los que se encuentran: extracción por microondas, alta presión, líquido-líquido y método Soxhlet.

Méndez (2016) extrajo saponinas de *Solanum marginatum* mediante extractos metanólicos, etanólicos y agua destilada, utilizando el método Soxhlet y extracción directa a reflujo, determinó que el primer método permite obtener un concentrado rico en saponinas y lo consideró como el mejor método.

Gianna (2013) realizó una comparación de los métodos de extracción más eficientes de saponinas, donde menciona que el método de extracción por microondas y alta presión fue mejor que el método Soxhlet y reflujo, teniendo los dos el mismo rendimiento de extracción. Pero el método de extracción de saponinas por Soxhlet presentó varias ventajas entre estas: no requiere de

filtración, produce temperatura alta (Wang y Weller, 2006), además mientras menor sea el tamaño de la partícula, el tiempo de extracción se reduce drásticamente (García y Castro, 2004).

Lozano *et al.* (2012) extrajeron saponinas de 10 muestras de mojuelo de *Chenopodium quinoa* Willd real en diferentes mezclas de EtOH/H₂O y posteriormente fueron concentradas a presión para evaporar el etanol, después fueron congeladas y liofilizadas y demostraron que la mejor mezcla para la extracción es al 50%, el tiempo óptimo fue de 72 horas aplicando una relación de 1 de mojuelo /3 volumen (mg/ml).

Lozano *et al.* (2012) realizaron la cuantificación de saponinas provenientes del mojuelo de *Chenopodium quinoa* Willd mediante el método de espuma, espectrofotométrico UV y por cromatografía HPLC, y demostraron que el último método produce un menor margen de error, pero en sí, los tres métodos no varían mucho ya que brindan resultados similares, y se comprobó que la *Chenopodium quinoa* Willd Real blanca tiene mayor concentración de saponinas con respecto a la *Chenopodium quinoa* Willd roja y *Chenopodium quinoa* Willd mezclada con otros residuos.

1.2. Marco Teórico

1.2.1. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd)

La *Chenopodium quinoa* Willd es cultivada desde tiempos ancestrales, pertenece a la familia de Amaranthaceae, los países donde se ha desarrollado la mayor diversidad de este cultivo son en las zonas de los Andes, por lo tanto, los países como Bolivia y Perú cubren el 80% de la demanda internacional. La planta al tener una gran capacidad de adaptación a condiciones ecológicas extremas permite que ésta se extienda a otros países en diferentes pisos y zonas agroecológicas (Cruces, 2016).

Por tanto, existe una diversidad de formas de *Chenopodium quinoa* Willd, pero siguen siendo de la misma especie, es por esta razón que se registra cinco ecotipos diferentes a lo largo de los Andes. La primera es conocida como *Chenopodium quinoa* Willd de los valles interandinos y lo conforman los países como Colombia, Perú y Ecuador; la segunda se destaca como *Chenopodium quinoa* Willd del Altiplano norte y lo conforman los países como Perú y Bolivia; la tercera se conoce como *Chenopodium quinoa* Willd de las Yungas y lo conforma Bolivia; la cuarta se designa como *Chenopodium quinoa* Willd de los Salares o Altiplano Sur y lo conforma Bolivia, Chile y Argentina; la quinta es conocida como *Chenopodium quinoa* Willd de la costa o de nivel de mar y lo conforma Chile centro y sur, al menos hasta Chiloé (INIA, 2015).

Según la FAO (2014) la *Chenopodium quinoa* Willd representa el significado de grano madre y esta procede del lenguaje quechua. Antiguamente fue conocido como alimento de los pueblos indígenas, pero hoy en día es reconocido a nivel internacional desde los años 70 del siglo XX.

Según la FAO (2013) afirma que la *Chenopodium quinoa* Willd tuvo su origen en las cercanías del lago Titicaca entre Perú y Bolivia.

La NASA, buscando plantas para soportar la vida en el espacio, recomendó la *Chenopodium quinoa* Willd por su alto contenido de proteínas y otros aminoácidos esenciales y por su fácil uso y preparación; a su vez se comprobó que respondió bien a pruebas hidropónicas en ambientes controlados siendo una razón más para considerarlo un alimento extra (FAO, 2015).

La ONU ha nombrado al año 2013 como año internacional de la *Chenopodium quinoa* Willd, destacando que este pseudocereal jugaría un papel importante en la alimentación y a su vez ha reconocido el rol de los pueblos indígenas en la conservación de la biodiversidad (Chevarria *et al.*, 2013; Padron *et al.*, 2014), en la (Figura 1-1) se observa la planta de *Chenopodium quinoa* Willd proveniente del cantón Colta.

INIA (2015) menciona que, en los años 60 aconteció un incremento de salinización en el suelo agrícola, debido a que en esa época no se tomaba en cuenta al ambiente y se dio un alza a la agricultura convencional, lo que trajo como consecuencia la disminución de la producción agrícola y el abandono del suelo. La *Chenopodium quinoa* Willd al adaptarse muy bien a estas condiciones se consideró como una alternativa de cultivo y a su vez un beneficio al considerarse un grano con un alto valor nutricional.



Figura 1-1: Planta de *Chenopodium quinoa* Willd
Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

1.2.1.1. Taxonomía

La (Tabla 1-1) muestra la clasificación taxonómica de *Chenopodium quinoa* Willd (Bojanic, 2011).

Tabla 1-1: Clasificación taxonómica de la *Chenopodium quinoa* Willd

Nombre científico	<i>Chenopodium quinoa</i> Willd
Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Subdivisión	<i>Angiospermae</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	<i>Caryophyllidae</i>
Orden	<i>Caryophyllales</i>
Familia	<i>Chenopodiaceae</i>
Género	<i>Chenopodium</i>
Especie	<i>Quinoa</i>
Sección	<i>Chenopodia</i>
subsección	<i>Cellulata</i>

Fuente: Bojanic, 2011, p.22

La *Chenopodium quinoa* Willd es conocido por su alto valor nutricional, por la capacidad que tiene de tolerar el ataque de insectos, heladas y sequias, estas pueden ser aprovechadas en el futuro ya que contienen valiosos genes (Rojas *et al.*, 2008; del Castillo *et al.*, 2007).

1.2.1.2. La *Chenopodium quinoa* Willd en el Ecuador

Existe una gran diversidad de *Chenopodium quinoa* Willd, pero la mayoría se encuentra en países andinos. Ecuador se encuentra en cuarto lugar, cuenta con 740 accesiones y dos bancos de genes. En total existen 16.263 accesiones en el mundo, siendo Bolivia uno de los sitios de mayor colección de *Chenopodium quinoa* Willd continuando Perú, Argentina, Ecuador, Chile y Colombia (Rojas *et al.*, 2013).

Según Suquilanda (2012) menciona que las provincias de Imbabura, Chimborazo, Cotopaxi, Pichincha, Carchi y Tungurahua están ordenadas jerárquicamente de acuerdo con el nivel de importancia que conlleva la producción de *Chenopodium quinoa* Willd en el Ecuador, según datos

recopilados de estudios realizados por el INIAP (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias) y la fundación IDEA (Instituto de Estrategias Agropecuarias).

En el año 2013 el Ecuador contaba con aproximadamente 2.000 hectáreas para su cultivo y tenía una producción de 2.000 toneladas al año, con un plan de incremento de 10.000 hectáreas, con el objetivo de ofrecer un grano de calidad y no de cantidad. En las provincias de Chimborazo, Tungurahua, Cotopaxi, Imbabura y Carchi las familias campesinas utilizan menos de 5 hectáreas para el cultivo de *Chenopodium quinoa* Willd y por ende el precio llega a ser variable. La siembra se hace particularmente de septiembre hasta abril ya que estos son los meses de lluvia, la cosecha se hace en los meses de mayo, junio y julio (Silva *et al.*, 2013).

En el año 2015 la producción de *Chenopodium quinoa* Willd fue de 12.707 toneladas en 7.148 hectáreas y para el año 2016 se estimó que hubo una productividad de 1.36 toneladas por hectárea (Monteros, 2016), en total 3.903 toneladas, en el 2017 se calculó una producción de 1.286 toneladas (Enriquez, 2018).

1.2.1.3. Principales variedades de *Chenopodium quinoa* Willd en el Ecuador

La *Chenopodium quinoa* Willd chaucha y dulce es conocida por los campesinos del sector rural, pero están mezcladas y no permite una cosecha uniforme, también está la cosecha de granos iguales (Suquilanda, 2012).

Una de las variedades más producidas es la conocida como Tunkahuán, considerándose como una de las semillas más demandadas a nivel industrial por su bajo contenido de saponinas y debido a que sus características físicas facilitan su procesamiento. En la provincia de Chimborazo se encuentra la *Chenopodium quinoa* Willd nativa la cual contiene alto contenido de saponina, en áreas altas y frías de la sierra se encuentra la *Chenopodium quinoa* Willd conocida como Pata de Venado (PRO ECUADOR, 2015; Trujillo y Valencia, 2017).

En la (Tabla 1-2) se encuentran las variedades y altitudes a la que se encuentra *Chenopodium quinoa* Willd en el Ecuador (Suquilanda, 2012).

Tabla 1-2: Producción del grano de la *Chenopodium quinoa* Willd

Variedad que dispone el INIAP	Altitud (msnm)
Tunkahuan	2.000 a 3.400
Pata de Venado	2.800 a 3.800

Fuente: Suquilanda, 2012

Monteros (2016) indica que, la semilla utilizada en mayor proporción es la nativa de Chimborazo con un 66% seguida de la variedad Tunkahuan con un 34%.

1.2.1.4. Propiedades nutricionales

La *Chenopodium quinoa* Willd se considera como un grano excepcional ya que aporta la mayoría de los nutrientes, tiene un alto contenido de proteínas, calcio y hierro, cuenta con aminoácidos esenciales como la lisina la cual se considera escasa en alimentos vegetales y es importante en la alimentación. La *Chenopodium quinoa* Willd puede proporcionar 1.5 veces más calcio, el doble de zinc y 3.3 veces más hierro al ser comparada con otras especies de vegetales como el *Triticum* (trigo), pero si es comparada con el *Zea mays* (maíz) y *Oryza sativa* (arroz) la *Chenopodium quinoa* Willd llega a tener incluso más ventajas, ya que el *Zea mays* y el *Oryza sativa* no cuenta con un alto valor nutricional (Suquilanda, 2012).

Los componentes de grano de *Chenopodium quinoa* Willd están descritos en la (Tabla 1-3).

Tabla 1-3: Componentes del grano de *Chenopodium quinoa* Willd

Elementos	Porcentaje %
Humedad	12.6
Proteína	13.8 a 16
Extracto etéreo	5.1
Carbohidratos	59.7
Fibras	4.1
Cenizas	3.3
Lisina	0.88
Metionina	0.42
Triptofano	0.12
Grasas	4 a 9

Fuente: Manuel Suquilanda, 2012

Además, Valeiro *et al* (2013) mencionaron que además de tener una gran cantidad de proteínas, éstas se caracterizan por tener un 45% de azúcares totales, 16% de azúcares solubles, 4% de

lípidos, 33% de almidón (localizado en el perisperma), vitamina E y C, riboflavina, tiamina, y una alta cantidad de folatos que es 10 veces más grande comparada al *Triticum* (trigo). También contiene saponinas en la capa externa del grano, el potasio (9.7 mg/kg) y calcio 707.9 mg/kg se encuentra en concentraciones altas al compararlas con el *Oryza sativa*, *Zea mays* y *Triticum*.

1.2.1.5. Usos de la *Chenopodium quinoa* Willd

De acuerdo con Arias (2017) la *Chenopodium quinoa* Willd es usada principalmente como:

- Alimento para el ser humano debido a que el grano tiene un alto contenido de proteínas y es mezclada con alimentos como leguminosas y cereales, siendo un producto significativo dentro de la dieta del ser humano.
- El grano es de uso versátil y con él se puede preparar un innumerable número de recetas, la *Chenopodium quinoa* Willd se puede utilizar como grano entero, harinas, polvo instantáneo, sémola, hojuelas etc.
- Es usado en la industria alimentaria pero los precios a veces llegan a ser exorbitantes por lo que la mayoría de la población no puede costearlo, para mejorar la calidad del producto y la dieta de niños se realizan combinaciones con otras leguminosas.
- Es usado como cereal en el desayuno, existen diferentes tipos de cereal de *Chenopodium quinoa* Willd como del tipo rallados, inflados, extrusados, en copos y calientes.
- Es usado en la industria harinera, caracterizando su producto libre de gluten, utilizan entre el 10 al 40% de harina de *Chenopodium quinoa* Willd para hacer pan, 60% para hacer bizcochos, 40% para hacer pasta y 70% para hacer galletas.
- Los residuos de las cosechas y plantaciones de *Chenopodium quinoa* Willd son usados como forraje verde para la alimentación animal.
- Las hojas, tallos y granos son de uso medicinal, se emplean para, curar cicatrices, analgésico, desinfectante de las vías urinarias, en fracturas, hemorragias y como repelente.
- El almidón que posee la *Chenopodium quinoa* Willd puede ser usado para la producción de papel, aerosoles, postres, talcos, plásticos etc.

1.2.2. Saponinas

Delporte (2014) menciona que las saponinas son glucósidos que pueden ser triterpénicas (ácida) derivadas del isopreno o esteroidales (neutras) derivadas del ciclopentanoperhidrofenantreno, se pueden clasificar en variedades amargas o dulces según el contenido de saponinas.

La concentración de saponinas varía dependiendo del desarrollo de la planta de *Chenopodium quinoa* Willd, va a presentar mayor contenido de saponinas durante la floración y menor contenido de saponinas durante la ramificación (Bhargava *et al.*, 2006; Ahumada *et al.*, 2016).

Pastor (2014) mencionó que las saponinas en su estructura poseen una o más moléculas de azúcar, las cuales están unidas al carbono-3, al perder un azúcar terminal pierden su actividad antifúngica.

Los glucósidos o heterósidos de las saponinas se caracterizan por poseer una parte glucídica y otra genina, denominada sapogenina (López, 2001). La sapogenina de la *Chenopodium quinoa* Willd se reduce cuando hay la presencia de sequías en un 45% (Gomez *et al.*, 2012), mientras que cuando existe salinidad en el suelo presenta mayor cantidad de sapogenina (Soliz *et al.*, 2002 y Pulvento *et al.*, 2012; Santis *et al.*, 2016).

Los hongos, bacterias e insectos son vulnerables a las saponinas que se encuentran en los tejidos vegetales de las plantas (Wina *et al.*, 2005; Deniz y Bayraktar, 2016). Las semillas de *Chenopodium quinoa* Willd deben pasar por un proceso para remover las saponinas para su consumo (Gianna, 2013).

1.2.2.1. Composición química de las saponinas

Existe una diversidad de plantas que contiene saponinas, su nombre se debe a que usaban raíces de la plata Saponaria para obtener jabón, son anfipáticas, químicamente las saponinas contienen una aglicona policíclica o sapogenina ligada al carbono 3, ésta se une a una cadena de azúcares mediante un enlace etéreo (Troisi *et al.*, 2013). En la (Figura 1-2) se puede observar la estructura de las saponinas.

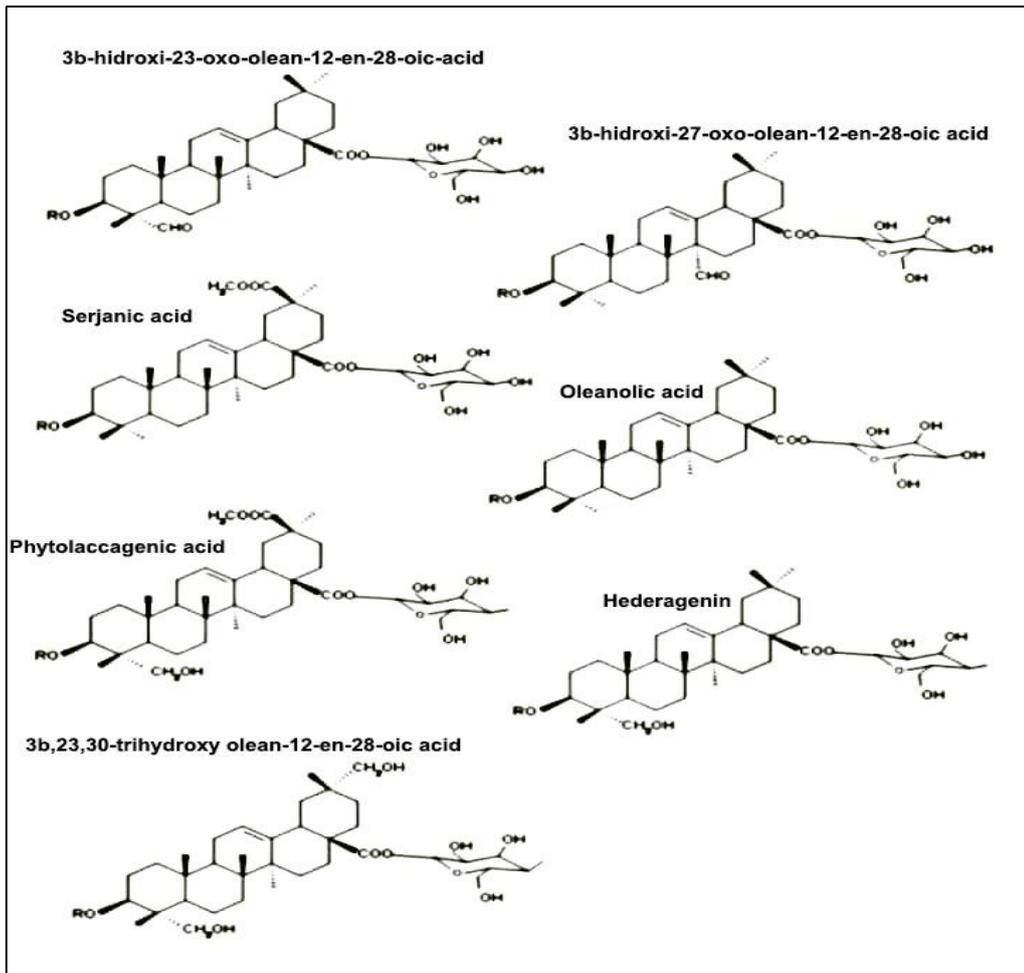


Figura 1-2: Estructura de las saponinas
 Fuente: Troisi *et al.*, 2013

La saponina se encuentran constituida de una aglicona y un azúcar, unidos mediante enlace glucosídicos, esta combinación ha hecho que se identifique alrededor de treinta diferentes saponinas, localizadas en frutos, *episperma*, grano, panoja, tallos y flores, otros factores determinantes en el contenido de estos compuestos y que a su vez permiten su adaptabilidad a factores abióticos y bióticos son: tipo de suelo y clima (Ahumada *et al.*, 2016 y Apaza *et al.*, 2016; García *et al.*, 2018).

1.2.2.2. Propiedades y usos de las saponinas

A partir de las saponinas se pueden obtener varios subproductos para el área farmacéutica como medicamentos para inducir cambios en la permeabilidad intestinal y antibióticos. Presentan aplicaciones en la industria cosmética y alimenticia y también es utilizada como un insecticida natural para el control de plagas. Tiene propiedades tensoactivas naturales debido a que bajan la tensión superficial formando soluciones coloidales con el agua, formando espuma al momento de la agitación (Ahumada *et al.*, 2016; Areas, 2017), esto se debe a que las saponinas se presentan

como agliconas, es decir el terpeno sin azúcar, por lo cual al adicionar un grupo hifrofilico a un terpenoide hidrofóbico presentan propiedad surfactante (Ávalos y Pérez, 2009; Delporte *et al.*, 2014).

Las saponinas tienen propiedades bioquímicas, presentando actividad hemolítica, molusquicida, alelopática, fungicida, insecticida y antimicrobial (Francis *et al.*, 2002).

Guzmán *et al.* (2015) realizaron investigaciones donde obtuvieron resultados positivos para la inhibición, control de plagas y enfermedades contra hongos fitopatógenos (*Fusarium*, *Botrytis cinerea*, *Aspergillus* y *Pomacea canaliculata* Lamarck) mediante la utilización de saponinas.

1.2.2.3. Saponinas de la *Chenopodium quinoa* Willd

Las saponinas de la *Chenopodium quinoa* Willd representan un factor antinutricional por lo cual hay que eliminarla para el consumo, éstas se encuentran en una concentración entre 0.1 y 5%, sin embargo, el *Asparagus officinalis* (espárrago), *Medicago sativa* (alfalfa), *Spinacia oleracea* (espinaca) entre otras contienen también saponinas. Las saponinas se encuentran en el pericarpio del grano de *Chenopodium quinoa* Willd y tienen propiedades espumantes, las cuales son estables en concentraciones bajas y son aplicadas en bebidas, jabones, shampoo, etc (Bojanic, 2011).

Szakiel *et al.* (2011) mencionaron que los factores ambientales abióticos tienen mucho que ver al momento de determinar si la *Chenopodium quinoa* Willd pertenece a una variedad de *Chenopodium quinoa* Willd dulce o amarga.

Las 30 saponinas de la *Chenopodium quinoa* Willd se identificaron de acuerdo a la mezcla que conforman los carbohidratos y agliconas estas son: (hexosa, pentosa y ácidos urónicos) y (ácido: serjánico, oleanólico, fitolacagénico, hederagenina, 3 β ,23,30-trihidroxi olean-12-eno-28-oico y 3 β -hidroxi-27- oxoolean-12-eno-28-oico) respectivamente (Ahumada *et al.*, 2016; García *et al.*, 2018).

1.2.3. Métodos de extracción de saponinas

Según Nuñez (2008) la extracción se define cuando una porción específica de una muestra que se separa, mediante el uso de un líquido que sea soluble en la muestra. Existen tres formas de extracción; extracción gas-líquido, extracción sólido-líquido, y extracción líquido-líquido.

1.2.3.1. Extractor Soxhlet

La extracción Soxhlet fue desarrollada en 1879 y se considera la técnica más antigua de extracción, pero hasta hoy en día es usada como método de referencia y se evalúa el rendimiento de extracción en comparación a otros métodos actuales. Es un método que fue admitido por la EPA (Agencia de Protección Ambiental) y se puede encontrar como método 3540C (Canosa, 1998).

De acuerdo con la EPA (1996) el método de extracción Soxhlet sirve para extraer compuestos orgánicos no volátiles. En sí el equipo Soxhlet se compone de un material de vidrio, el cual arrastra compuestos contenidos en un sólido de naturaleza lipídica (Arias, 2011). Se considera un método de extracción sólido-líquido con el objetivo de separar compuestos de fuentes naturales utilizando un tipo de disolvente (Caldas, 2012).

Según Arias (2011) el equipo permite obtener triglicéridos, pigmentos, carotenoides, lecitinas, ácidos grasos, fosfolípidos, clorofila, y ácidos grasos.

1.2.3.2. Funcionamiento del equipo Soxhlet

Para entender el funcionamiento del equipo Soxhlet, se va a mencionar primero el montaje del equipo.

Según Campos (s,f) el equipo Soxhlet está constituido de abajo hacia arriba por: el reverbero, es la fuente de calor para evaporar el disolvente; el matraz que contiene el disolvente y los compuestos extraídos del capuchón; el extractor Soxhlet, es el que contiene el capuchón y dentro de éste se encuentra la muestra; el refrigerante, aquí el disolvente se condensa.

De acuerdo con Nuñez (2008) el funcionamiento del equipo se da en cinco etapas:

- 1.** Preparación de la muestra, la cual es colocada en el extractor Soxhlet
- 2.** Colocación del solvente en el matraz
- 3.** Evaporación del solvente que se dirige hacia el refrigerante
- 4.** Condensación del solvente contenido en el refrigerante hacia el capuchón que se encuentra en el extractor, es aquí donde ocurre la extracción sólido-líquido
- 5.** Producción de reflujo del solvente con el material extraído de la muestra hacia el matraz. El proceso es continuo hasta que los componentes de la muestra que son arrastrados al matraz se agote.

1.2.3.3. Ventajas del método Soxhlet

Wang y Weller (2006) mencionan que el método Soxhlet cuenta con algunas ventajas como:

- Es simple y económico.
- El mismo solvente está en contacto con el sólido repetidamente.
- No es necesario realizar filtrado del sólido.
- La temperatura de extracción es alta.

1.2.3.4. Desventajas del método Soxhlet

Wang y Weller (2006) menciona que el método Soxhlet cuenta con algunas desventajas como:

- Períodos largos para extraer los componentes del sólido.
- Desnaturalización de los compuestos del sólido a altas temperaturas (termolábiles).
- Se utiliza una gran cantidad de disolvente para el proceso de evaporación.
- Gran cantidad de agua de enfriamiento.

1.2.4. Cuantificación de saponinas

Existen diversos métodos para determinar la concentración de saponinas en las semillas de *Chenopodium quinoa* Willd, entre los métodos se encuentra la medición de la altura de la espuma que son características típicas de la *Chenopodium quinoa* Willd, así también como su capacidad hemolítica (Kensil *et al.*, 2004).

Ncube *et al.* (2011) mencionaron que primero se debe realizar un proceso para identificar la presencia de saponinas, en donde se debe colocar una porción del material vegetal en un tubo con agua destilada y se debe agitar durante dos minutos, si existe la presencia de espuma de por lo menos 15 minutos indica que existe saponinas, después de esto se puede proceder a realizar la cuantificación.

Los métodos de cuantificación de saponinas se clasifican en métodos espectrofotométricos y cromatográficos, el primer método se caracteriza por dar un valor total de saponinas, el segundo método se caracteriza por cuantificar el compuesto específicamente (Cheok *et al.*, 2014).

1.2.4.1. Método espectrofotométrico uv-vis

El método se caracteriza por ser sencillo, simple y económico, este método se basa en la reacción de las saponinas frente a un reactivo de color, en donde el ácido sulfúrico actúa como oxidante y se observa un color púrpura, también se puede utilizar el ácido perclórico, se debe tomar en cuenta antes de aplicar este método que los estándares y longitud de onda son muy importantes por lo que se deben tener en consideración (Cheok *et al.*, 2014).

La determinación de la concentración de saponinas de extractos de quinua por el método espectrofotométrico se basa en la reacción del reactivo de Liebermann-Burchard con las saponinas presentes en el extracto que genera un color vino tinto diluido con un máximo de absorción a 528 nm (Monje y Raffailac, 2006).

1.2.5. Hongos fitopatógenos de importancia agrícola

1.2.5.1. *Fusarium* sp.

Fusarium sp. producen marchitamientos vasculares principalmente en flores y hortalizas anuales, plantas herbáceas perennes de ornato, plantas de cultivo, malezas y en la mimosa o árbol de seda (*Albizia julibrissin*) y la pudrición de la raíz de muchas plantas. Son organismos saprófitos y una vez que se introducen en un terreno de cultivo, se establecen ahí por tiempo indefinido (Agrios, 2005).

Fusarium oxysporum f. sp causa marchitez en *Passiflora edulis*, *Passiflora foetida*, *Passiflora mollissima*, *Passiflora ligularis* y *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* en países como Ecuador, Estados Unidos, Panamá entre otros (Forero *et al.*, 2015). Se aislaron e identificaron hongos fitopatógenos en cacao (*Theobroma cacao*) en las principales zonas cacaoteras en el Ecuador y se obtuvieron 291 hongos entre los más importantes se encuentran *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Lasidiopodia theobromae*, *Pestalotiopsis* sp., *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora perniciososa* (Maridueña *et al.*, 2017).

1.2.5.1.1. Taxonomía

Barnett y Hunter (1978) clasifica a *Fusarium* sp. de la siguiente forma, en la tabla 1-4 se muestra la taxonomía de *Fusarium* sp.

Tabla 1-4: Clasificación taxonómica de *Fusarium sp.*

Reino	Fungi
División	Eumycota
Orden	Moniliales
Clase	Deuteromycete
Familia	Moniliaceae
Género	<i>Fusarium</i>

Fuente: Barnett y Hunter, 1978

1.2.5.1.2. Características morfológicas

Fusarium oxysporum f. sp. se caracteriza por ser de estructura reproductiva asexual y no posee un estado sexual, la dispersión de este hongo se produce mediante la producción de macroconidios, microconidios y clamidosporas (Fouré *et al.*, 2011).

Macroconidios: su altura puede ser largo o corto, no son rectos y presentan una curvatura, se observa una anchura en la mitad de la espora y en los extremos la anchura va disminuyendo (Agrios, 2005).

Microconidios: poseen diferentes formas entre ellas ovoide, ovalada, truncada, reniforme, globosa, periforme y éstos se puede encontrar en un solo cultivo, el tamaño varía, el número de conidio es de cero o uno y en algunas especies produce dos septos (Vera, 2013).

Clamidosporas: se pueden formar en cadenas, en grupos o por separado, son de pared gruesa y compuestas por una o dos células, sus esporas son redondas y se forman en el micelio más viejo o macronidios del hongo (Agrios, 2005).

En la (Figura 1-3) se observa la Morfología de *Fusarium sp.*

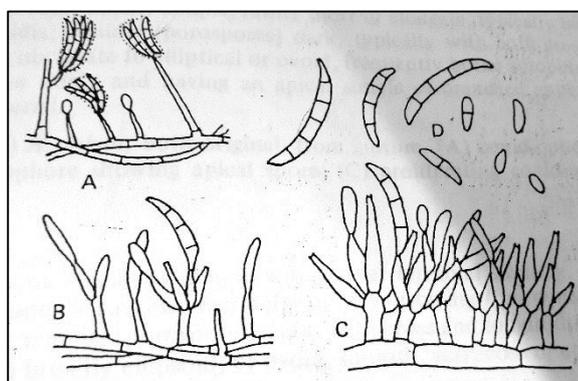


Figura 1-3: Morfología de *Fusarium sp.*

Fuente: Barnett, 1998

1.2.5.2. *Rhizoctonia* sp.

Este hongo fitopatógeno causa pérdidas incontrollables al productor, causando pérdida de los cultivos, afecta a todo tipo de plantas como arbustos, perennes, hortalizas y florales entre otras, los síntomas de *Rhizoctonia* sp. varían y depende en qué etapa de crecimiento se encuentra la planta, al inicio de la enfermedad el hongo forma micelios vegetativos y se caracteriza por poseer una fase sexual (Montoya, 2008).

Este hongo se presenta solo, las altas temperaturas y humedad en el suelo favorecen su desarrollo, causa marchitez y la muerte de la planta, otra característica de la planta infectada con este hongo es la pudrición las cuales son de tipo superficiales que alcanzan la raíz y tallo de la planta (Montoya, 2008).

García (2008) refiere entre los síntomas más conocidos y que se presenta en la mayoría de las plantas, el ahogamiento de la planta, canchros del tallo, pudrición de follaje y raíz. Las plantas de *Chrysanthemum* (crisantemo) afectadas por este hongo presentan el tejido que se torna de un color marrón oscuro, tienen un escaso desarrollo y se observa en la superficie de la planta un moho negro en forma de costras (Cumes, 2008).

La *Solanum tuberosum* en Ecuador es de importancia económica en el sector agrícola, en la provincia de Carchi se obtuvo 31 aislamientos de *Rhizoctonia solani* en suelos paperos durante tres etapas siembra, floración y cosecha, a partir de esto se realizaron pruebas de infección en plantas de *Solanum tuberosum*, en donde se presentaron síntomas de esclerocios y necrosis en tallos (Méndez, 2015).

1.2.5.2.1. Taxonomía

ITIS (2014) clasifica a *Rhizoctonia* sp. de la siguiente forma (Tabla 1-5).

Tabla 1-5: Clasificación taxonómica de *Rhizoctonia* sp.

Reino	Fungi
Orden	Canthrellales
Clase	Agaricomycetes
Familia	Ceratobasidiaceae
Género	Thanatephorus

Fuente: ITIS, 2014

1.2.5.2.2. Características morfológicas

Al inicio de su desarrollo su micelio es incoloro, después torna un color amarillo o café claro, se conocen tres tipos de micelio: hifas pigmentadas, hifas de aspersorios y esclerocios (unión de las dos anteriores), las hifas contienen núcleos de 8 a 12 μm de diámetro, las hifas son alargadas y se ramifican en forma de T es decir a 90 grados frente a la hifa principal (García, 2008).

Montoya (2008) menciona que la única forma de identificar al hongo es por medio de las ramificaciones, otra forma de identificar al hongo es cuando por ejemplo en *Solanum tuberosum* presenta costras que son ramilletes de células. En la (figura 1-4) se muestra la morfología de *Rhizoctonia* sp.

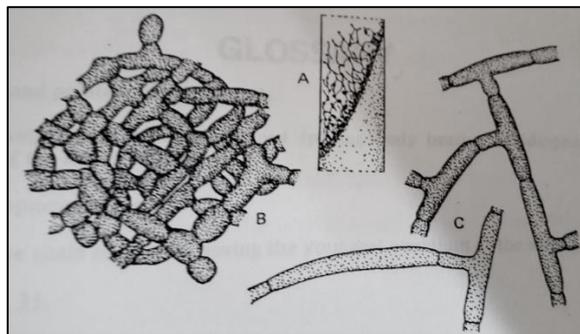


Figura 1-4: Morfología de *Rhizoctonia* sp.
Fuente: Barnett, 1998

1.2.5.3. *Pythium* sp.

1.2.5.3.1. Descripción

Es un oomicete, es la causa del ahogamiento de las plántulas, la pudrición de la semilla, raíz y frutos carnosos, además de otros órganos que se encuentran en contacto con el suelo (Rengifo, 2010). Se ha reconocido más de 120 especies, este hongo puede vivir como saprófito, no mata la planta, pero si daña severamente la raíz, genera gran cantidad de propágulos y causan grandes daños económicos ya que se propaga rápidamente (Díaz *et al.*, 2011).

1.2.5.3.2. Taxonomía

Holt y Iudica (2016) clasifica a *Pythium* sp. de la siguiente forma, y se puede observar en la (Tabla 1-6).

Tabla 1-6: Clasificación taxonómica de *Pythium* sp.

Reino	Mycetae
Orden	Peronosporales
Clase	Oomycetes
Familia	Pythiaceae
Género	<i>Pythium</i>

Fuente: Holt y Iudica, 2016

1.2.5.3.3. Características morfológicas

Gilman (1985) menciona que las hifas son finas menor o igual a 8 μ m de diámetro, presenta ramificaciones, al principio de su desarrollo se caracterizan por ser unicelulares, presenta esporangios esféricos, zoosporas uniformes con flagelos laterales.

La forma de los esporangios determina al hongo *Pythium* sp., las zoosporas se producen tanto como si hay o no producción de oosporas (fusión de un oogonio y uno o varios anteridios) (Urrutia Anaya & Pacheco Aguilar, s,f). En la (Figura 1-5) se puede observar la morfología de *Pythium* sp.

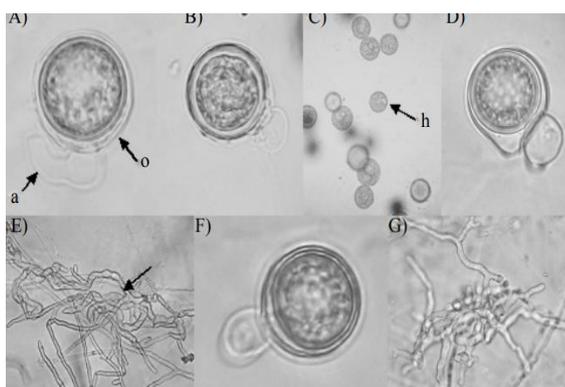


Figura 1-5: Morfología de *Pythium* sp.

Fuente: Díaz *et al.*, 2011

1.2.5.4. Alternaria sp.

Es un hongo filamentoso dematiáceo, aislado de suelos, plantas, comida y aire (Tangarife, 2011), presenta esporas que forma pequeñas cadenas, que pueden llegar a ser diferentes unos de otros al esporular, esta se debe a la forma que adopta el conidio y conidióforos (Simmons y Roberts, 1993). Es uno de los agentes causales de enfermedades en humanos y animales, produce infecciones como feohifomicosis, y en algunas ocasiones causa onicomycosis y queratitis (Tangarife, 2011). Reduce el rendimiento de las cosechas o afectan a los vegetales almacenados (Flores *et al.*, 2015).

En la provincia de Bolívar, Ecuador el principal cultivo en este lugar es el maíz (*Zea mays*), el cual presentó una serie de hongos fitopatógenos produciendo daño foliar provocando que el desarrollo de *Zea mays* disminuya, entre estos se encuentra *Alternaria* sp. (Román *et al.*, 2017).

1.2.5.4.1. Taxonomía

La (Tabla 1-7) se puede observar la clasificación taxonómica de *Alternaria* sp.

Tabla 1-7: Clasificación taxonómica de *Alternaria* sp.

Reino	Fungi
Orden	Pleosporales
Clase	Dothideomycetes
Familia	Pleosporaceae
Género	<i>Alternaria</i>

Fuente: Rivas, s.f

1.2.5.4.2. Características morfológicas

Presentan hifas y conidióforos septados, con apariencia recta o en zigzag, los conidios tienen una coloración café, éstos pueden estar cerca o lejos del conidióforo, al encontrarse juntos la base del conidio tiene una forma redonda, mientras que los que se encuentran en el ápice son estrechas (Tangarife, 2011). En la (Figura 1-6) se puede observar la morfología de *Alternaria* sp.

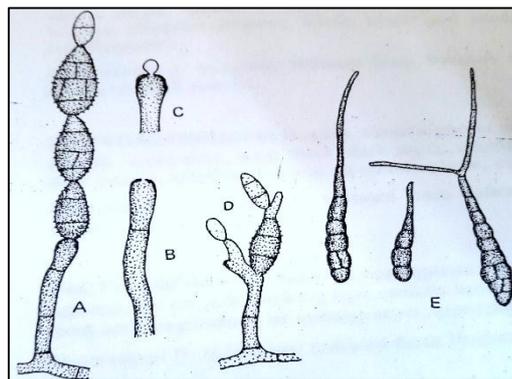


Figura 1-6: Morfología de *Alternaria* sp.

Fuente: Barnett, 1998

1.2.5.5. Botrytis sp.

Patógeno de plantas que causa la enfermedad del moho gris, considerado como un parásito facultativo en una amplia variedad de hospedantes y es un grave problema económico en cultivos

como uva (*Vitis*), fresa (*fragaria*), frambuesa (*Rubus idaeus*), lechuga (*Lactuca sativa*), pepinos (*Cucumis sativus*), habas (*Vicia faba*), tomates (*Solanum Lycopersicum*), frijoles (*Phaseolus vulgaris*), flores y plantas forestales producidas en contenedores, favorece su crecimiento las temperaturas bajas y zonas húmedas, los conidios se dispersan en el aire al llegar a la maduración y se propagan a los demás cultivos (Flores *et al.*, 2015).

Botrytis Cinerea presenta lesiones, su presencia se considera una de las más graves en los cultivos (Deferara *et al.*, 2003), se desarrolla en un ambiente fresco y húmedo, aparece en frutos como limones, manzanas, uvas, fresas y toronjas (Zhang *et al.*, 2010).

1.2.5.5.1. Taxonomía

La (Tabla 1-8) se puede observar la clasificación taxonómica de *Botrytis* sp.

Tabla 1-8: Clasificación taxonómica de *Botrytis* sp.

Reino	Fungi
Orden	Moniliales
Clase	Hyphomycetes
Familia	Moniliaceae
Género	<i>Botrytis</i>

Fuente: Alencastro, 2011

1.2.5.5.2. Características morfológicas

El patógeno *Botrytis* sp. presenta conidióforos largos y ramificados, en la punta de éstos se producen conidios en forma ovoide semejante a un racimo de uvas, unicelulares, rara vez produce esclerios (Agris, 2005). En la (Figura 1-7) se puede observar la morfología de *Botrytis* sp.

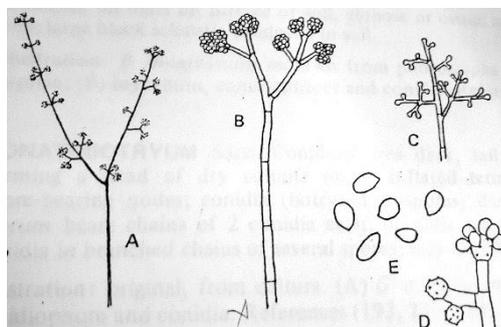


Figura 1-7: Morfología de *Botrytis* sp.

Fuente: Barnett, 1998

1.2.6. Hongos fitopatógenos y su importancia económica

Los hongos fitopatógenos causan enfermedades a los cultivos, esto implica pérdidas económicas al productor y reduce su valor en el mercado debido a que las plantas y frutas atacadas por hongos no se desarrollan de una manera adecuada, los agricultores para asegurar el desarrollo de la planta utilizan pesticidas y fungicidas los cuales afectan en gran medida al ambiente (Juárez *et al.*, 2010).

El deterioro de los cultivos con frecuencia es causado por hongos entre los más comunes se encuentran *Fusarium* sp, *Alternaria* sp., *Botrytis* sp., *Monilinia* sp., *Phomopsis* sp., *Rhizopus* sp., *Diplodia* sp., *Mucor* sp., *Colletotrichum* sp. y *Penicillium* sp., se sabe que estas pérdidas ascienden de un 20 % al 50% en países en desarrollo y un 5% al 25% en países desarrollados (FHIA, 2007), en Ecuador las pérdidas son del 50% (Gallozzi y Duarte, 2007).

Los hongos invaden la planta como organismos hospederos o parásitos, otros son saprófitos, el mismo hongo puede atacar diferentes tipos de plantas, ya que se pueden encontrar sobre la superficie de los tejidos de la planta y las esporas pueden dispersarse y afectar a otros cultivos (García, 2004).

La región Andina del Ecuador presenta una variedad de frutales en donde la producción y exportación se ha vuelto difícil debido a la presencia de hongos fitopatógenos, afectando la economía del país, se identificó en durazno (*Prunus pérsica*) la presencia de *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Botrytis Cinerea* y *Colletotrichum* (Flores *et al.*, 2017).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Hipótesis y especificación de las variables

2.1.1. *Hipótesis*

Las saponinas provenientes de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd inhiben el crecimiento de hongos fitopatógenos de los géneros (*Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Alternaria* y *Botrytis*).

2.1.2. *Variables*

2.1.2.1. *Variable dependiente*

- Inhibición del crecimiento *in vitro* de cepas.

2.1.2.2. *Variable independiente*

- Concentración de saponinas en extracto acuoso

2.1.2.3. *Variables intervinientes*

- Variedad de *Chenopodium quinoa* Willd
- Temperatura de ebullición
- Calidad del agua para extraer saponinas
- Tiempo de extracción
- Contaminantes del aire

2.2. Tipo y diseño de la investigación

La investigación fue de tipo explicativa y documental.

- **Explicativa:** porque se describió las técnicas y métodos a utilizar, se analizó el resultado del efecto de las concentraciones de saponinas en extracto acuoso que serán aplicadas.
- **Documental:** ya que se basó en la búsqueda de información la cual permitió relacionar los resultados con otros estudios.

Se utilizó un diseño de investigación de tipo experimental.

- **Experimental:** porque se realizó a nivel de laboratorio en un ambiente controlado. Aplicando cinco concentraciones de saponinas en cinco especies de hongos fitopatógenos en cultivo puro, para evidenciar si inhiben o no su crecimiento, se mantuvo un grupo control de hongos purificados sin aplicar saponinas para observar su crecimiento.

2.3. Lugar de la investigación

La investigación se realizó a nivel de laboratorio; en el laboratorio AGROMIKROBEN que se encuentra vía a Chambo, provincia de Chimborazo en el Ecuador y en el laboratorio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.4. Diseño experimental

Se estableció un diseño completamente al azar (DCA) comprendió cinco concentraciones de un extracto acuoso de saponinas de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*) en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA) (v/v) y cinco cepas de hongos fitopatógenos para un total de 25 tratamientos con tres réplicas cada uno. Además, se incluyó un control por cada cepa en medio de cultivo sin extracto que completaron 30 tratamientos y 90 unidades experimentales (Tabla 2-1).

Tabla 2-1: Tratamientos para determinar el efecto de extractos acuosos de saponinas de residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*) sobre cinco cepas de hongos fitopatógenos.

UNIDADES EXPERIMENTAL	TRATAMIENTOS	DESCRIPCIÓN
1	TF	<i>Fusarium</i> sp.
2	TF1	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 100% frente a <i>Fusarium</i> sp.
3	TF2	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 87,5% frente a <i>Fusarium</i> sp.
4	TF3	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 75% frente a <i>Fusarium</i> sp.
5	TF4	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 50% frente a <i>Fusarium</i> sp.
6	TF5	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 37,5% frente a <i>Fusarium</i> sp.
7	TR	<i>Rhizoctonia</i> sp.
8	TR1	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 100% frente a <i>Rhizoctonia</i> sp.
9	TR2	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 87,5% frente a <i>Rhizoctonia</i> sp.
10	TR3	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 75% frente a <i>Rhizoctonia</i> sp.
11	TR4	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 50% frente a <i>Rhizoctonia</i> sp.
12	TR5	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 37,5% frente a <i>Rhizoctonia</i> sp.
13	TP	<i>Pythium</i> sp.
14	TP1	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 100% frente a <i>Pythium</i> sp.
15	TP2	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 87,5% frente a <i>Pythium</i> sp.
16	TP3	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 75% frente a <i>Pythium</i> sp.
17	TP4	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 50% frente a <i>Pythium</i> sp.
18	TP5	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 37,5% frente a <i>Pythium</i> sp.
19	TA	<i>Alternaria</i> sp.
20	TA1	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 100% frente a <i>Alternaria</i> sp.
21	TA2	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 87,5% frente a <i>Alternaria</i> sp.
22	TA3	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 75% frente a <i>Alternaria</i> sp.
23	TA4	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 50% frente a <i>Alternaria</i> sp.
24	TA5	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 37,5% frente a <i>Alternaria</i> sp.
25	TB	<i>Botrytis</i> .
26	TB1	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 100% frente a <i>Botrytis</i> sp.
27	TB2	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 87,5% frente a <i>Botrytis</i> sp.
28	TB3	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 75% frente a <i>Botrytis</i> sp.
29	TB4	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 50% frente a <i>Botrytis</i> sp.
30	TB5	Extracto acuoso de saponinas de los residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al 37,5% frente a <i>Botrytis</i> sp.

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

2.5. Unidad de análisis

Cada unidad experimental constó de:

- Extracto acuoso de las saponinas de residuos de *Chenopodium quinoa* Willd amarga

- Obtención de cepa *Fusarium* sp.
- Obtención de cepa *Rhizoctonia* sp.
- Obtención de cepa *Pythium* sp.
- Obtención de cepa *Alternaria* sp.
- Obtención de cepa *Botrytis* sp.

2.6. Población de estudio

- Residuos de *Chenopodium quinoa* Willd
- Hongos fitopatógenos

2.7. Tamaño de muestra

El tamaño de la muestra le corresponde a:

- Una variedad de *Chenopodium quinoa* Willd amarga
- Cinco cepas de hongos fitopatógenos puros
- Cinco concentraciones de extracto acuoso de saponinas

30 tratamientos con tres repeticiones cada uno (cinco cepas x cinco concentraciones + cinco controles), dando un total de 90.

2.8. Selección de la muestra

Los residuos (*episperma*) de *Chenopodium quinoa* Willd para la extracción de saponinas, fueron tomados de acuerdo a si éstos eran de variedad amarga, basados en los resultados que determinan la prueba afrosimétrica, la cual indica que si la concentración de saponinas es \geq a 0.11% corresponde a variedad amarga.

Para seleccionar la muestra para la obtención de cada uno de los hongos patógenos, se partió de material vegetal enfermo que presentaba síntomas característicos a partir de los cuales se realizó el aislamiento, purificación e identificación de los cuatro géneros en estudio *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria* y *Botrytis*. Para el caso de *Pythium* se aisló de una muestra de suelo.

2.9. Material Biológico

El material biológico estuvo conformado por cepas puras de *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp, obtenidas a partir del aislamiento de tubérculos de papa (*Solanum tuberosum*), muestras de suelo, hojas y además mora (*Rubus ulmifolius*), las cuales fueron recolectadas de Chambo.

2.10. Material Vegetal

La recolección de la muestra residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (episperma) para la presente investigación se realizó en la comunidad Tabla Rumi que se encuentra en las siguientes coordenadas 1°47'01.6"S 78°45'08.9"W.

La comunidad Tabla Rumi pertenece a la parroquia Sicalpa, cantón Colta, provincia de Chimborazo, Ecuador, está ubicado al suroeste a 18 km de la ciudad, las principales actividades económicas realizadas en el cantón Colta son la agricultura, ganadería y pastoreo.

La *Chenopodium quinoa* Willd es representativa de la zona, es considerada amarga y orgánica, los productores la venden a la fundación “Escuelas Radiofónicas Populares del Ecuador”.

2.11. Técnica de recolección de datos

2.11.1. Fase de laboratorio

- Estimación de la concentración de saponinas del material vegetal (grano y residuos de *Chenopodium quinoa* Willd) mediante el método afrosimétrico.
- Extracción de saponinas de los residuos (*episperma*) de *Chenopodium quinoa* Willd mediante el método Soxhlet.
- Cuantificación de la concentración del extracto acuoso de saponinas por el método espectrofotométrico UV-vis.
- Obtención de cepas de hongos Fitopatógenos (*Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp.).
- Determinación del ritmo de crecimiento *in vitro* de las cepas fúngicas.
- Evaluación de la actividad antifúngica de las saponinas frente a los hongos fitopatógenos.

2.11.2. *Tratamientos estadísticos*

- Se realizó un análisis de regresión lineal para la determinación del crecimiento *in vitro* de los hongos fitopatógenos frente a las concentraciones de los extractos acuosos de saponinas.
- Y se emplearon análisis de varianza con un diseño completamente al azar para todos los tratamientos aplicados, para la variable actividad antifúngica. Si existieran diferencias altamente significativas, se realizó una prueba de separación de medias mediante Tukey al 5% para determinar los rangos y las diferencias entre medias de los tratamientos aplicados, usando el software SSPSS.V.21

2.11.3. *Mecanismos de las fases de laboratorio*

2.11.3.1. *Estimación de la concentración de saponinas del material vegetal (grano y residuos de *Chenopodium quinoa* Willd) mediante el método afrosimétrico.*

Para determinar la concentración de saponinas presentes en las semillas y residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (episperma), se siguió la metodología descrita por (Kozioł, 1991).

Se pesaron 0.5 g de semilla de *Chenopodium quinoa* Willd + 5 ml de agua destilada en un tubo de ensayo.

Se pesaron 0.5 g de residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (polvo) + 10 ml de agua destilada en un tubo de ensayo.

Los tubos de ensayo fueron agitados vigorosamente durante 30 segundos y se dejó reposar durante 10 segundos, seguidamente se procedió a medir la altura de la espuma con una regla graduada y se calcula los datos con la siguiente ecuación:

$$\text{Concentración de saponinas} \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) = \frac{[(0.432)(\text{Altura de la espuma después de 30 s, cm}) + 0.008]}{\text{masa fresca de la muestra (g)}}$$

A cada prueba se realizó 10 repeticiones.

2.11.3.2. Extracción de saponinas de los residuos (episperma) de *Chenopodium quinoa* Willd mediante el método Soxhlet

Se procedió a pesar 200 gramos de residuo de *Chenopodium quinoa* Willd (episperma) incorporándolas en un cartucho que se elaboró con papel filtro y se introdujo dentro del extractor Soxhlet.

En un matraz de fondo redondo de capacidad de 1000 ml, se incorporaron 700 ml de solvente (agua).

Se procedió a montar el equipo Soxhlet y se realizaron tres extracciones sucesivas utilizando como solvente agua.

Aproximadamente el ciclo duró cinco horas hasta realizar 3 sifonadas y se observó que el solvente en el matraz poseía un color ámbar.

Posteriormente se midió el volumen del extracto acuoso, este se almacenó en una botella ámbar previamente esterilizada y se mantuvo en refrigeración.

2.11.3.3. Cuantificación de la concentración del extracto acuoso de saponinas por el método espectrofotométrico uv-vis.

Preparación de las seis concentraciones de saponinas al 100%, 87.5%, 75%, 50% y 37.5% para la cuantificación.

A partir del extracto acuoso obtenido en el acápite anterior se prepararon cinco concentraciones en agua destilada (v/v) (Tabla 2-2) en tubos de ensayo.

Tabla 2-2: Preparación porcentual del extracto acuoso de saponinas en tubos de ensayo.

CONCENTRACION DE SAPONINAS		
Concentración	%	Contenidos en tubos de ensayo
C1	100	1ml del extracto de saponinas
C2	87.5	0.875 ml del extracto de saponinas + 0.125 ml de agua destilada
C3	75	0.75 ml del extracto de saponinas + 0.25 ml de agua destilada
C4	50	0.5 ml del extracto de saponinas + 0.5 ml de agua destilada
C5	37.5	0.375 ml del extracto de saponinas + 0.625 ml de agua destilada

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

Preparación del reactivo de Liebermann-Burchard

El reactivo de Liebermann-Burchard fue preparado según la metodología descrita por Gianna (2013), y se explica en la tabla 2-3.

Tabla 2-3: Preparación del reactivo Liebermann-Burchard

REACTIVOS	PREPARACIÓN
-Ácido sulfúrico concentrado -Anhídrido acético	El reactivo de Liebermann-Burchard contiene H_2SO_4 y $C_4H_6O_3$ en una proporción 5:1. Para la realización del reactivo se trabajó en una campana extractora de gases. Se colocó un pequeño balde con hielo y en él se dejó reposar una botella ámbar, después se colocó 20 ml de ácido sulfúrico concentrado y se tapó, se dejó reposar en hielo aproximadamente 10 minutos, a continuación, lentamente se agregó 4 ml de Anhídrido acético y se agitó con precaución. Nota: si los reactivos se mezclan al revés se forman compuestos de color amarillo de igual forma si no se enfría adecuadamente.

Fuente: Gianna, 2013

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

Cuantificación de los extractos en el equipo uv-vis

Las pruebas de los extractos se realizaron para determinar cuantitativamente la concentración del extracto de saponinas en mg/ml.

La cuantificación de los extractos acuosos de saponinas de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd fue preparada según la metodología descrita por (Monje y Raffailac, 2006; Gianna, 2013) y se explica a continuación.

- De las concentraciones C1, C2, C3, C4, C5; se tomó 1.0 ml del extracto acuoso de saponinas y se colocó en diferentes tubos de ensayo.
- Se añadió lentamente y con cuidado 3.5 ml del reactivo de Liebermann-Burchard en cada tubo de ensayo y se cerró.
- Se agitó cuidadosamente en intervalos regulares durante 30 minutos, presentando un color rojo vino.
- Previamente se encendió el equipo espectrofotómetro UV-VISIBLE de la marca Thermo Electron Helios β , y se esperó 15 minutos para leer las muestras.
- Se leyó la absorbancia de las concentraciones de extracto acuoso de saponinas a una longitud de onda de 528 nm, también se leyó la absorbancia del extracto acuoso de saponinas sin el reactivo considerándose como blanco o absorbancia del extracto, además se leyó la

absorbancia del reactivo de Liebermann-Burchard, todo esto se midió antes de los 50 minutos de preparado las muestras con el reactivo de Liebermann-Burchard.

La absorbancia de las saponinas se calculó aplicando la siguiente ecuación.

$$AS = AM - (AR + AE)$$

Donde

AS: Absorbancia de las saponinas

AM: Absorbancia medida de la mezcla extracto y reactivo de Liebermann-Burchard

AR: Absorbancia del reactivo de Liebermann-Burchard

AE: Absorbancia del extracto

La concentración de saponinas se calculó mediante la siguiente fórmula (Gianna, 2013).

$$C \text{ saponinas } \left(\frac{mg}{ml} \right) = \frac{A - 0.0164}{4.5725}$$

2.11.3.4. Obtención de cepas de hongos Fitopatógenos (*Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp.)

- **Aislamiento y purificación de *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp.**

- Aislamiento

Para el aislamiento de *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp. se utilizaron tubérculos de papa (*Solanum tuberosum*) con presencia y síntomas de pudrición seca (Acuña y Araya, 2017).

En un frasco de vidrio estéril se colocó algodón y se remojó con agua estéril para simular un ambiente húmedo (cámara húmeda).

El tubérculo se lavó con agua estéril y un cepillo, después se lavó con una mezcla de agua e hipoclorito de sodio para su desinfección, se enjuagó con abundante agua estéril y fue incorporado a la cámara húmeda, este fue sellado e incubado por 72 horas a temperatura ambiente y luz para que el hongo desarrolle.

Posteriormente se trasladaron a una cámara de aislamiento en condiciones de asepsia y con un bisturí completamente desinfectado se procedió a cortar pequeños fragmentos de tubérculo con

presencia de crecimiento fúngico que se inocularon en cajas Petri de 90 mm de diámetro con medio de cultivo PDA.

Las cajas Petri fueron selladas y se dejaron incubar a 28 °C por tres días, hasta el crecimiento de colonias características. En total se hicieron cinco réplicas.

- Identificación y Purificación

En las colonias crecidas se observaron los caracteres culturales y se hicieron preparaciones microscópicas para observar (400X) los caracteres morfológicos del micelio, las estructuras de reproducción y verificar la presencia de los hongos fitopatógenos. Mediante la clave taxonómica propuesta por Barnett y Hunter (1998) se identificaron los géneros de hongos presentes. A través de subcultivos en similar medio de cultivo se purificaron los aislados fúngicos.

- **Aislamiento y purificación de *Pythium* sp.**

-Aislamiento

Para el aislamiento de *Pythium* sp. se utilizó una muestra de suelo proveniente del cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*), el cual se dejó secar a temperatura ambiente y se tamizó con granulometría de 2 mm.

En un erlenmeyer se colocaron 10 g de suelo y 90 ml de agua estéril (dilución 1/10), se agitó (aproximadamente 15 minutos) y se dejó reposar la muestra durante 5 minutos.

Posteriormente se llevó la muestra a una cámara de aislamiento en condiciones de asepsia y se realizaron diluciones decimales seriadas como se describe a continuación.

Con una pipeta se tomó 1 ml de la suspensión madre de suelo y se colocó en un tubo de ensayo que contenía 9 ml de agua estéril (dilución 1/100), luego se tomó 1 ml de esta dilución y se colocó en otro tubo de ensayo con 9 ml de agua estéril (1/1000), procedimiento que se realizó de manera sucesiva hasta obtener el número de diluciones necesarias, en este caso se obtuvieron seis diluciones hasta 1/10⁶.

Con una pipeta se tomó 1 ml de cada una de las diluciones y se colocó en cajas Petri, seguidamente a cada caja Petri se les colocaron 10 ml de medio de cultivo PDA, se homogeneizó suavemente y se esperó hasta que solidificara y se procedió a sellar las cajas.

Posteriormente se incubaron por 48 horas a 28°C, hasta el crecimiento de colonias fúngicas. En total se hicieron cinco réplicas.

- Identificación y Purificación

Se siguió un procedimiento similar al descrito previamente con las colonias crecidas, que por sus caracteres culturales se asemejaran a *Pythium*. Cuando se confirmó su presencia al microscopio óptico se purificaron.

- **Aislamiento y purificación de *Alternaria* sp.**

- Aislamiento

Para el aislamiento de *Alternaria* sp. se utilizaron hojas de tomate (*Solanum lycopersicum*) con manchas pardas características del hongo (Martínez, 2018).

Las hojas fueron lavadas con agua estéril, y se dejaron reposar 5 minutos en un recipiente que contenía una mezcla de agua e hipoclorito de sodio, posteriormente se enjuagaron con abundante agua y se secaron con un paño estéril.

En una cámara de aislamiento en condiciones de asepsia se cortó cada mancha de la hoja de 1x1 cm y se procedió a colocarlas en cajas Petri con medio de cultivo PDA.

Las cajas Petri fueron selladas y se dejaron incubar a 28 °C y oscuridad por 5 días. En total se hicieron cuatro réplicas.

- Identificación y Purificación

Para la identificación y purificación se siguió un protocolo similar al descrito previamente.

Aislamiento y purificación de *Botrytis* sp.

- Aislamiento

Para el aislamiento de *Botrytis* sp. se utilizaron frutos de mora (*Rubus ulmifolius*) con presencia de síntomas de moho gris, los cuales son característica de la presencia del hongo (Leiva, 2011).

Los frutos de mora (*Rubus ulmifolius*) se lavaron cuidadosamente con agua estéril, después se lavó con una mezcla de agua e hipoclorito de sodio para su desinfección, inmediatamente se enjuagaron con abundante agua y se secó con un paño estéril.

En una cámara de aislamiento en condiciones de asepsia, se cortaron fragmentos con un bisturí estéril y se colocaron en una caja de Petri con medio de cultivo PDA.

La caja Petri fue sellada y se dejó incubar a 28 °C y oscuridad por 5 días. En total se hicieron cuatro réplicas.

- Identificación y Purificación

Para la identificación y purificación se siguió un protocolo similar al descrito previamente.

Los aislados obtenidos se identificaron con un código, se conservaron a 4 °C en tubos de ensayo con medio de cultivo PDA para continuar los ensayos y se incorporaron al cepario de Agromikroben.

2.11.3.5. Determinación del ritmo de crecimiento in vitro de las cepas fúngicas

Para determinar el ritmo de crecimiento de las cepas fúngicas en medio de cultivo PDA, las colonias crecidas fueron llevadas a una cámara de aislamiento en condiciones de asepsia y mediante la ayuda de un sacabocados de 4 mm de diámetro se procedió a retirar discos del micelio de cada cepa y se inocularon en el centro de cajas Petri con medio de cultivo PDA.

Se realizaron tres réplicas por cada cepa, que se incubaron a 28 °C y oscuridad. Cada 24h y hasta las 120 h de incubación se midió el radio de la colonia (cuatro mediciones por colonia) y se calculó el ritmo de crecimiento (mm/día).

2.11.3.6. Evaluación de la actividad antifúngica de las saponinas frente a los hongos fitopatógenos.

Preparación del medio de cultivo con las diferentes concentraciones de saponinas

A partir del extracto acuoso obtenido como se describió en el acápite 2.11.3.2 se prepararon cinco concentraciones en medio de cultivo PDA (v/v) (100%, 87.5%, 75%, 50% y 37.5%). Se incluyó un control de medio de cultivo sin extracto (tabla 2-4).

Tabla 2-4: concentración del extracto acuosa de saponinas para cada concentración ensayada

Ensayos	%	Concentración
C1	100	se colocó un volumen de 150 ml del extracto de saponinas.
C2	87.5	se colocó 131.25 ml del extracto de saponinas + 18.75 ml de agua destilada.
C3	75	se colocó 112.5 ml del extracto de saponinas + 37.5 ml de agua destilada.
C4	50	se colocó 75 ml del extracto de saponinas + 75 ml de agua destilada.
C5	37.5	se colocó 56.25 ml del extracto de saponinas + 93.75 ml de agua destilada.
C6	control	se colocó un volumen de 150 ml de agua

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

La preparación de cada concentración se realizó en Erlenmeyer de 250 mL de capacidad, previamente etiquetados. En cada una de los Erlenmeyer se añadieron 6 g de medio de cultivo PDA (marca HIMEDIA), se procedió a tapar con papel aluminio y se agitaron vigorosamente.

Las cajas Petri de vidrio y el sacabocados fueron empaquetadas con papel kraft, estos fueron colocados en el autoclave junto con los Erlenmeyer, a 1 atm de presión y 120 °C por aproximadamente 30 minutos. Posteriormente se llevaron los materiales a la cámara de aislamiento en condiciones de asepsia.

En las cajas Petri previamente etiquetadas, se vertió el medio de cultivo con las concentraciones de saponinas de los tratamientos preparados y control, aproximadamente 10 ml en cada caja y se dejó solidificar y se realizó tres replicas.

Inoculación de las cepas en los extractos preparados

En una cámara de aislamiento en condiciones de asepsia, con la ayuda de un sacabocados de 3.5 mm de diámetro se cortó un disco de micelio de cada cepa fúngica y se inocularon en el centro de las cajas Petri que contenían las concentraciones del extracto acuoso de saponinas, posteriormente las cajas Petri fueron selladas e incubadas en una estufa a 28 °C y oscuridad.

Por cada cepa se realizaron tres réplicas. Los datos del radio de las colonias (cm) se midieron cada 24 horas por nueve días.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

3.1. Resultados de la estimación de la concentración de saponinas del material vegetal por el método afrosimétrico.

Mediante la aplicación del método afrosimétrico se comprobó que la variedad de *Chenopodium quinoa* Willd empleada se puede clasificar como amarga (Koziol, 1991) (tabla 3-1).

Tabla 3-1 Estimación de la concentración de saponinas del material vegetal por el método afrosimétrico.

	altura de la espuma (cm)	mg saponina / g masa fresca	Contenido de saponinas (%)
Grano	6.18	5.36	53.56
Residuos de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd (<i>episperma</i>)	2.56	2.23	22.28

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019 n=10

Se observó que las saponinas presentan propiedades tensoactivas las cuales al ser agitadas en tubos de ensayo presentan una espuma estable para el grano y residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*).

Koziol (1991) señala que el método afrosimétrico es viable y de rápida estimación mientras que el método estándar tiene una duración de 73 minutos, además el primer método mencionado ha sido utilizado por los agrónomos de Latinreco en más de 5000 *Chenopodium quinoa* Willds dando resultados exitosos, pero indica que se debe tener precaución debido a que la altura de la espuma puede cambiar rápidamente, también menciona que la concentración de saponinas para considerarla de variedad amarga debe ser \geq a 0.11 y que la altura de la espuma al ser \leq a 1.3 cm pertenece a una variedad de *Chenopodium quinoa* Willd dulce, por lo tanto los resultados observados en la figura 3.1 pertenecen a una variedad de *Chenopodium quinoa* Willd amarga.

Mina (2014) evaluó la concentración de saponinas en variedades de *Chenopodium quinoa* Willd dulce, una de las variedades que determinó fue INIAP –Pata de venado mediante el método de espuma, donde obtuvo como resultados 0.06% de saponinas. Al comparar este estudio con la presente investigación se observó que los valores son muy distantes entre sí. Esta diferencia

observada entre los porcentajes demuestra el grado de viabilidad de comprobación del método para comparar *Chenopodium quinoa* Willd dulce de *Chenopodium quinoa* Willd amarga.

3.2. Obtención del extracto de saponinas mediante el método Soxhlet a partir de una variedad de *Chenopodium quinoa* Willd.

Una vez analizado los resultados de la concentración de saponinas se obtuvo el extracto acuoso utilizando los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*), obteniendo un volumen total de 425 ml por cada extracción.

3.3. Resultados de la cuantificación de las concentraciones de los extractos de saponinas por el método espectrofotómetro UV-vis.



Figura 3-1: Fotografías de la reacción de Liebermann-Burchard con las concentraciones del extracto de saponinas
Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

En la (Figura 3-1) Se observó que después de la agitación de los tubos que contienen las concentraciones de saponinas con el reactivo de Liebermann-Burchard se obtuvo una coloración rojo vino.

Tanto Gianna (2013) y Alvarez y Gallegos (2018), mencionaron que la reacción de Liebermann-Burchard dan un resultado positivo al ponerlo en contacto con saponinas, presentando un color azul y verde para saponinas esteroidales, mientras que al presentar un color rosado, rojo o violeta se evidencia la presencia de saponinas triterpénicas, refiriendo en su estudio un color rojo-anaranjado en extractos alcohólicos de saponinas extraídas a partir de mojuelo de *Chenopodium quinoa* Willd de variedad blanca y un color rojo vino en semillas de quinua de variedad CICA, lo

cual coincidió con los resultados obtenidos en la presente investigación, por lo tanto, el extracto de saponinas extraída de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*) contuvo saponinas triterpénicas.

Tabla 3-2: Datos de la absorbancia de las saponinas y concentración de saponinas puras

Concentración del extracto acuoso (%)		Absorbancia UV/VIS $\lambda=528$ nm	Absorbancia	Concentración de saponinas puras (mg/ml)
1	100	4.495	2.806	0.610
2	87.5	4.464	2.775	0.603
3	75	4.432	2.743	0.596
4	50	3.840	2.151	0.467
5	37.5	2.578	0.889	0.191

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

Se determinó la absorbancia del reactivo de Liebermann-Burchard dando como resultado 0.094 nm y la absorbancia del extracto acuoso de saponinas sin el reactivo mostrando un resultado de 1.595 nm, datos que fueron necesarios para obtener la absorbancia y concentración de saponinas.

Los resultados presentados en la (tabla 3-2) corresponden a los datos para cuantificar las concentraciones de saponinas en cada uno de los ensayos o diluciones realizadas del extracto obtenido.

Monje y Raffailac (2006) determinaron el contenido de saponinas en 10 variedades de *Chenopodium quinoa* Willd Chucapaca, Surumi, Camiri, Huganda, Jiwaki, Agro 2000, Toledo N, Real B, Toledo R y K'ellu; e informaron que entre la muestra Surumi codificada como número 2 y Real Blanca como número 8 tienen una concentración de 0.18% hasta 5.01% de saponinas. Mientras que Aranibar (2017) mencionó que el polvillo o residuos de *Chenopodium quinoa* Willd blanca presentó un mayor contenido de saponinas siendo de 0.935 mg/ml.

Ramos (2016) realizó la cuantificación de saponinas en tres muestras de *Chenopodium quinoa* Willd y obtuvo como resultado 0.2588, 0.3273 y 0.2349 mg/ml de concentración de saponinas, indicó que estos resultados sobrepasan los límites permisibles de 120 mg/100 g de *Chenopodium quinoa* Willd mencionados en la norma Boliviana y Norma Andina, por lo tanto al comparar con las concentraciones de los extractos acuosos de saponinas todas llegan a sobrepasar los límites de estas normas, lo cual llega a ser bueno en la presente investigación, debido a que mientras mayor concentración de saponinas exista en la muestra, mayor es el porcentaje de inhibición que va a tener sobre las cepas, mientras que llega a ser malo para el consumo, esto quiere decir que la quinua necesita de varias enjuagadas para estar en los límites permisibles de la norma.

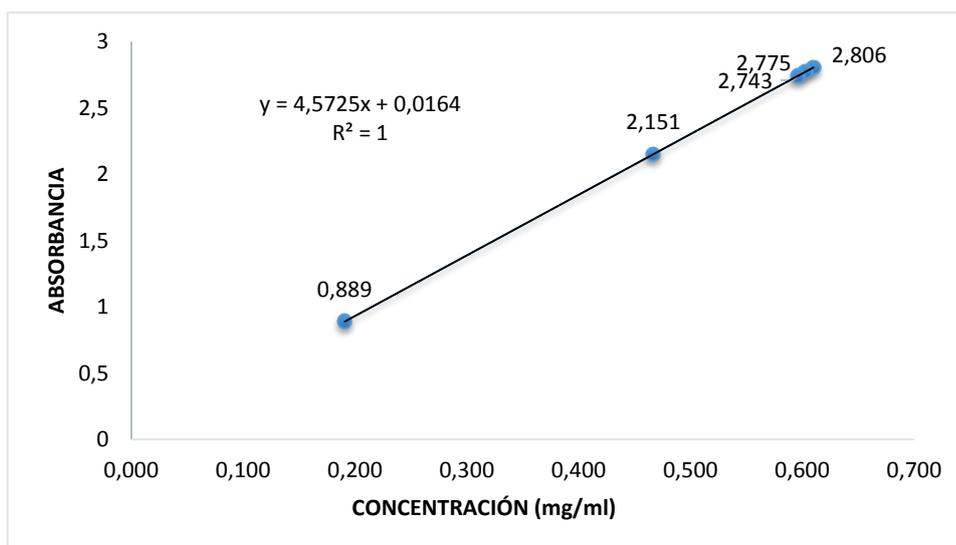


Gráfico 3-1: Cuantificación de saponinas de los extractos de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd mediante el método espectrofotométrico UV-vis.
Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

En la (Gráfica 3-1) el análisis de la regresión lineal permitió obtener la ecuación de la recta siendo $y = 4.5725x + 0.0164$, y un coeficiente de correlación de $R^2=1$, lo que demuestra que las concentraciones de saponinas al (100, 87.5, 75, 50, 37.5) % tuvo un ajuste lineal bueno, lo que llega a ser 100% viable.

Los resultados obtenidos (gráfico 3-1) son idénticos a los resultados reportados por Gianna (2013) en lo referente a la ecuación de la recta, dicha investigación se realizó usando semillas de quinoa de variedad CICA reportando 0.598 mg/ml de concentración de saponinas, siendo similar a la concentración del 75% como se observa en la (tabla 3-2).

En estudios realizados por Lozano *et al* (2012) menciona que para obtener el concentrado de saponinas utilizaron como solvente mezclas de agua y etanol, pero esto permite arrastrar también compuestos como flavonoides y antioxidantes al ser solubles en alcoholes, determinando una recta de calibración de $Y = 0.912x - 0.003$ y un coeficiente de correlación de 0.995. De acuerdo a lo descrito por Francis (2002) y Usiña (2017) menciona que el proceso de extracción con n-butanol reduce la cantidad de saponinas que están originalmente en la muestra debido a que solo cadenas cortas de oligosacáridos podrán ser extraídas por la parte butanólica, sin embargo, en esta investigación se utilizó como solvente agua, según Ramos (2016) azúcares, proteínas y otros elementos son solubles en agua, pero que al utilizar el reactivo de Liebermann- Burchard este sólo reacciona cuando existe la presencia de saponinas por lo que otros elementos no interfieren en la lectura en el espectrofotómetro UV-vis, determinaron una recta de calibración de $Y = 0.0051x - 0.0364$ y un coeficiente de correlación de 0.998.

Se trabajó con una longitud de onda de 528 nm siguiendo la metodología de Gianna (2013), resultados que concuerdan con Monje y Raffaillac (2009), Coello (2015) en dos variedades como Pata de Venado y *Chenopodium quinoa* Willd criolla y Maggi (2016) en variedades INIAP Tunkahuan y INIAP Pata de Venado, mientras que Rojas y Tapia (2011) realizaron un barrido espectral de su extracto de saponinas determinando una longitud de onda de 412 nm para semillas de *Chenopodium quinoa* Willd, al igual que Subieta *et al* (2011) determinó una longitud de onda a 527.5 nm para *Chenopodium quinoa* Willd real blanca, amarilla y rosada, de igual manera Aranibar (2017) determinó una longitud de onda de 407 nm en variedades de mojuelo de *Chenopodium quinoa* Willd blanca real.

3.4. Identificación macroscópica y microscópica de los hongos fitopatógenos.

3.4.1. *Fusarium* sp.

En la (figura 3-2) se observó que el cultivo en la caja Petri presentó colonias de color blanco, pero al pasar el tiempo presentaron una pigmentación rosada a púrpura, el micelio tiene una apariencia algodonosa y densa, también presentan bordes definidos, microscópicamente se observó la presencia de microconidios, elipsoidal, rectos y macroconidios ligeramente curvados. De acuerdo con lo descrito por Carrillo (2003) y Schroers *et al.* (2009) se confirma el género *Fusarium*.



Figura 3-2: Cepa de *Fusarium* sp y al microscopio con el aumento 400x

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

3.4.2. *Rhizoctonia* sp.

En la (figura 3-3) se observó que presentó forma y margen circular, textura algodonosa, el micelio presentó una coloración o pigmentación café, también se pudo observar microscópicamente

constricción de las hifas, en donde se ramifica a 90 grados en ángulo recto con respecto a las hifas principales teniendo forma de T. De acuerdo con lo descrito Barnett *et al.* (1998) y García (2008) se confirma el género *Rhizoctonia*.



Figura 3-3: Cepa de *Rhizoctonia* sp. y al microscopio con el aumento 400x.

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

3.4.3. *Pythium* sp.

La (figura 3-4) presentó forma y margen circular, textura algodonosa, el micelio presentó una coloración blanca, también se observó microscópicamente varias oosporas. De acuerdo con lo descrito por García (2008) se confirmó el género *Pythium*.



Figura 3-4: Cepa de *Pythium* sp. y al microscopio con el aumento 400x

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

3.4.4. *Alternaria* sp.

La (figura 3-5) presentó colonias de color blanca grisácea en un principio, pero al pasar el tiempo presentaron un color café, el micelio tuvo una apariencia plana y algodonosa, microscópicamente

se observó conidio largos y cortos, con cadenas pequeñas. De acuerdo con lo descrito por Barnett *et al.* (1998) y Carrillo (2003) se confirmó el género *Alternaria*.

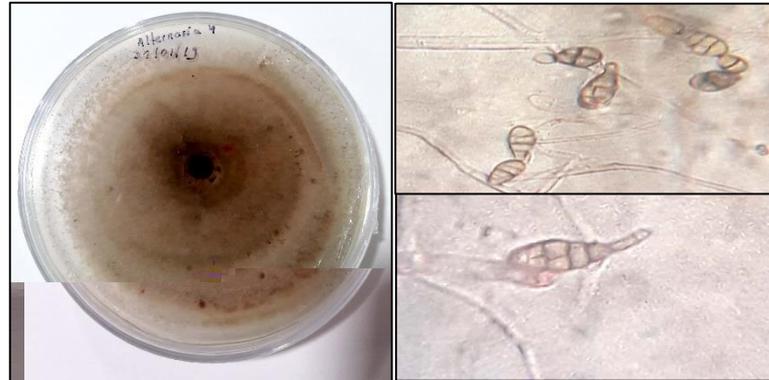


Figura 3-5: Cepa de *Alternaria* sp. y al microscopio con el aumento 400x

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

3.4.5. *Botrytis* sp.

En la (figura 3-6) se presentó colonias de color café claro, el micelio tiene una apariencia algodonosa. También se observó microscópicamente conidióforos y racimos de conidios. De acuerdo con lo descrito por Barnett *et al.* (1998) y Carrillo (2003) se confirma el género *Botrytis*.



Figura 3-6: Cepa de *Botrytis* sp. y al microscopio con el aumento 400x

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

3.5. Pruebas de crecimiento *in vitro* de los hongos fitopatógenos

3.5.1. *Fusarium* sp.

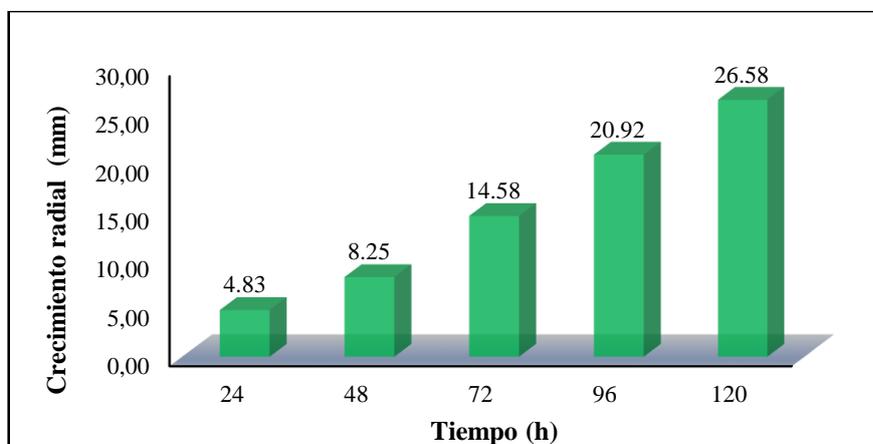


Gráfico 3-2: Ritmo de crecimiento *in vitro* de *Fusarium* sp. en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

En la (Gráfica 3-2) se observó que el hongo *Fusarium* sp. creció de manera constante, así a las 0 horas se tuvo un crecimiento de 3.5 mm de diámetro al haber incorporado un disco de micelio en la caja Petri, con la ayuda de un sacabocados, por lo tanto, a las 24 horas se observó un crecimiento *in vitro* del patógeno de 4.83 mm, a las 48 horas creció 8.25 mm, y así hasta llegar a las 120 horas que tuvo un crecimiento *in vitro* de 26.58 mm.

La cepa de *Fusarium* sp. mostró un ritmo de crecimiento *in vitro* promedio de 5.44 mm por día en las condiciones experimentales ensayadas, por tal razón se consideró de crecimiento lento al no llegar a cubrir la caja Petri (figura 3-7). Estos resultados concuerdan con los informados por Arcos (2017), donde menciona que *Fusarium* sp. es de crecimiento lento teniendo un crecimiento *in vitro* promedio de 3.56 mm diarios y que a las 120 horas tuvo un crecimiento total de 21.35 mm, al igual que Arbito (2017) menciona que *Fusarium* spp. tiene un promedio de crecimiento *in vitro* diario de 5 mm, llegando a cubrir la caja Petri a los nueve días con un diámetro de 90 mm, es decir con un crecimiento *in vitro* de 45 mm. Al igual que Retana *et al.* (2018) menciona que *Fusarium oxysporum* aislada de apio (*Apium graveolens*) colmó la caja Petri a los ocho días, mientras que Verdezoto (2017) confirma que *Fusarium oxysporum* posee colonias de crecimiento rápido debido a que a los cinco días el hongo llegó a colmar toda la caja Petri. El ritmo de crecimiento de las cepas fúngicas depende de la especie y de las condiciones de cultivo (Gimeno, 2002).

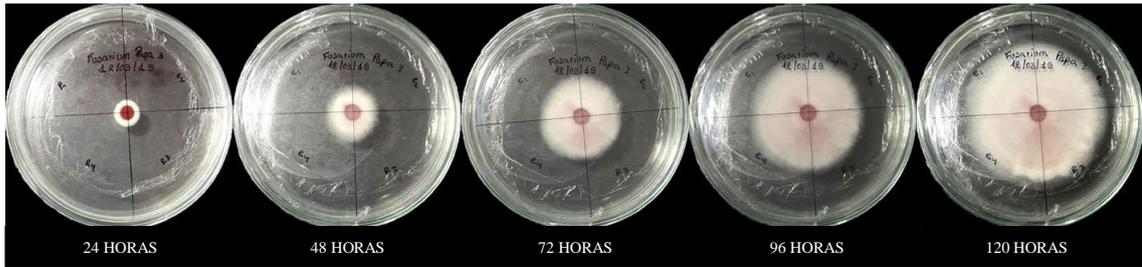


Figura 3-7: Colonias de *Fusarium* sp. crecidas en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas.

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

3.5.2. *Rhizoctonia* sp.

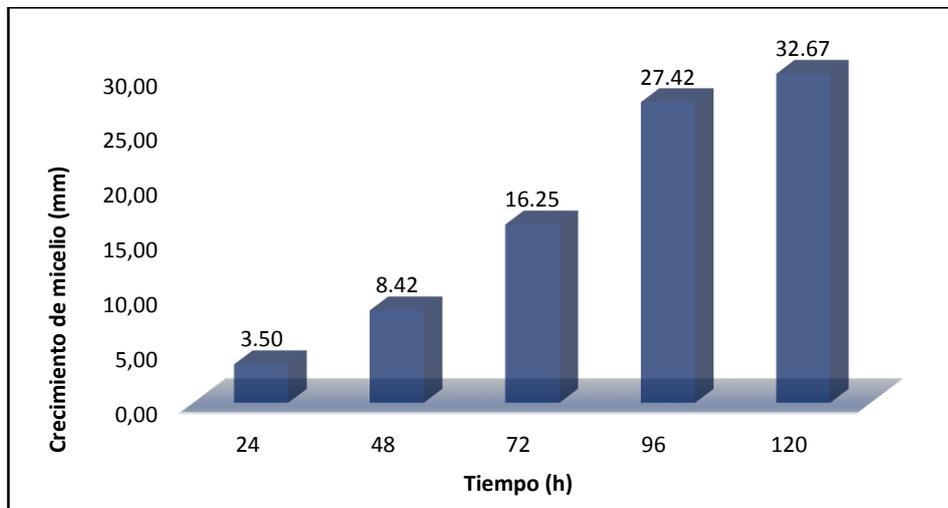


Gráfico 3-3: Ritmo de crecimiento *in vitro* de *Rhizoctonia* sp. en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

En la (Gráfica 3-3) se expone los resultados del área de crecimiento micelial del hongo *Rhizoctonia* sp. La cepa obtenida creció en medio de cultivo PDA a 28 °C, siendo que a las 0 horas asume un crecimiento de 3.5 mm de diámetro al haber incorporado un disco de micelio en la caja Petri, a las 24 horas se observó que el hongo fitopatógeno no ha crecido y se mantiene constante, a las 48 horas crece 8.42 mm y a lo largo de las 120 horas de su inoculación presentó un crecimiento *in vitro* de 32.67 mm.

La cepa de *Rhizoctonia* sp. mostró un ritmo de crecimiento *in vitro* promedio de 7.29 mm por día en las condiciones experimentales ensayadas, se consideró de crecimiento lento al no llegar a cubrir la caja Petri (figura 3-8). Estos resultados concuerdan con los informados por Arcos (2017) donde *Rhizoctonia* sp. presenta un crecimiento *in vitro* promedio de 8,08 mm por día y Gallegos (1997) menciona que *Rhizoctonia* sp. cubre a las 84 horas la mitad de la caja Petri por lo que considera un ritmo de crecimiento acelerado.

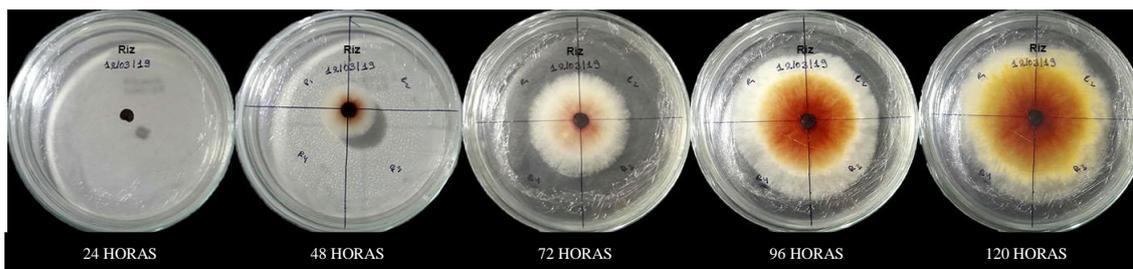


Figura 3-8: Colonias de *Rhizoctonia* sp. crecidas en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas.

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

3.5.3. *Pythium* sp.

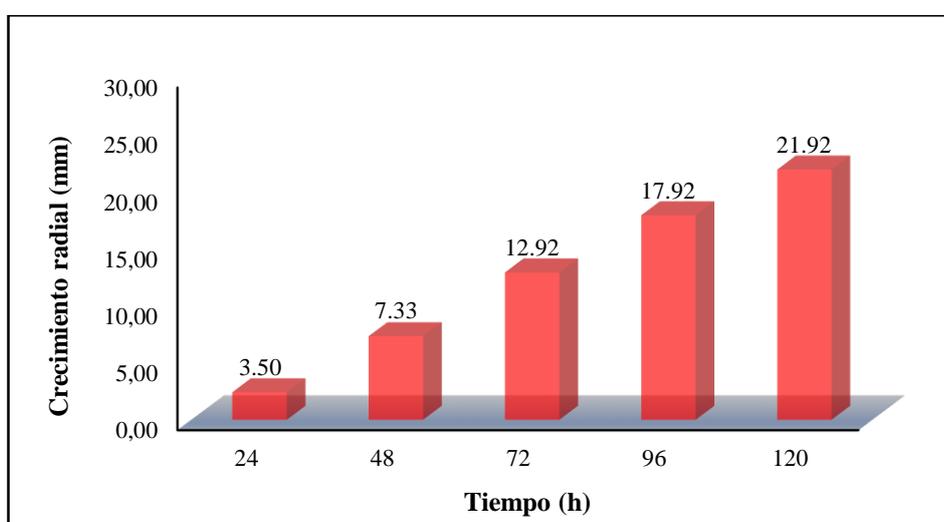


Gráfico 3-4: Ritmo de crecimiento *in vitro* de *Pythium* sp. en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

En la (Gráfica 3-4) se expone los resultados del área de crecimiento micelial del hongo *Pythium* sp. La cepa que se obtuvo creció en medio de cultivo PDA a 28 °C, siendo que a las 0 horas asume un crecimiento de 3.5 mm de diámetro al haber incorporado un disco de micelio en la caja Petri, a las 24 horas se observó que el hongo fitopatógeno no ha crecido y se mantiene constante, a las 48 horas creció 7.33 mm y a lo largo de las 120 horas de su inoculación presentó un crecimiento *in vitro* de 21.92 mm.

La cepa *Pythium* sp. mostró un ritmo de crecimiento *in vitro* promedio de 4.6 mm por día en las condiciones experimentales ensayadas, por tal razón se consideró de crecimiento lento debido a que no llega a cubrir la caja Petri (figura 3-9). Estos resultados concuerdan con los informados por Arcos (2017) y Benavides (2001) que mencionaron que *Pythium* sp. presenta un crecimiento *in vitro* promedio de 3.56 mm por día y que a las 120 horas cubrió el 39.56% y 31.06% de la caja Petri, respectivamente. Grijalba *et al.* (2016) mencionó que al colocar 5 mm de micelio en una

caja Petri, a los siete días cubrió toda la caja Petri, mientras que Grijalba (2017) reportó que basta dos o tres días para que el hongo alcance el borde de la caja.



Figura 3-9: Colonias de *Pythium* sp. crecidas en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas.

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

3.5.4. *Alternaria* sp.

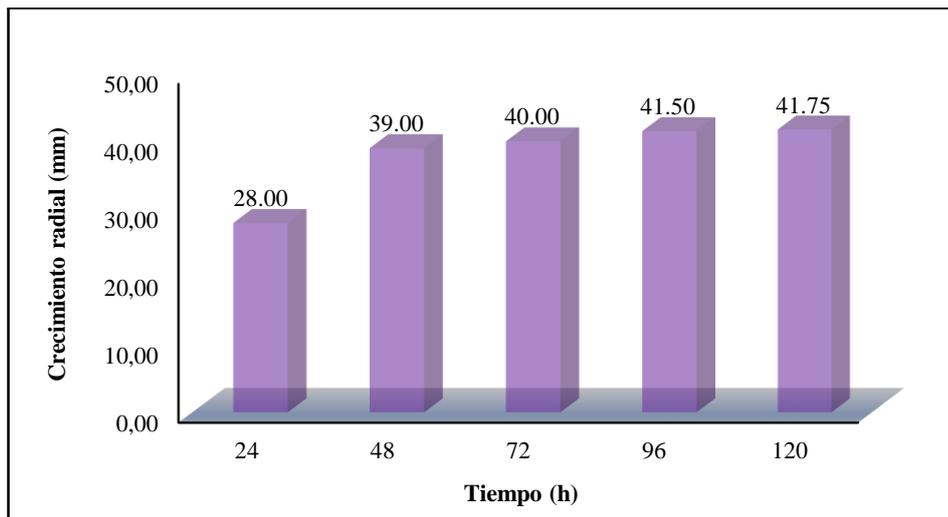


Gráfico 3-5: Ritmo de crecimiento *in vitro* de *Alternaria* sp. en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

En la (Gráfica 3-5) se observó que el hongo *Alternaria* sp. creció de manera constante, siendo que a las 0 horas se tiene un crecimiento de 3.5 mm de diámetro al haber incorporado un disco de micelio en la caja Petri con la ayuda de un sacabocados, por lo tanto, a las 24 horas se observó un crecimiento *in vitro* del patógeno de 28 mm, a las 48 horas crece 39 mm, y así hasta llegar a las 120 horas que tiene un crecimiento *in vitro* de 41.75 mm.

La cepa Alternaria sp. mostró un ritmo de crecimiento *in vitro* promedio de 3.44 mm por día en las condiciones experimentales ensayadas, a las 24 h y 48 h el hongo llegó a tener un gran crecimiento y después su crecimiento se volvió lento desde las 72 horas en adelante, se consideró de crecimiento rápido debido a que llega a cubrir la caja Petri a las 120 horas como se observó en

la (figura 3-10), estos resultados concuerdan con Rodríguez (2015) donde menciona que a los cinco días *Alternaria Alternata* llegó a cubrir toda la caja Petri en la mayoría de los 57 aislamientos realizados, de igual forma Vargas (2009) realizó un estudio para controlar *Alternaria Chrysanthemi* aplicando alternativas naturales, determinó que el hongo fitopatógeno es de rápido crecimiento, ya que tuvo un período de incubación de 96 horas, además indicó que la temperatura de incubación es importante ya que esto determina la velocidad de crecimiento siendo su temperatura óptima de incubación de 23 °C y también requirió de total oscuridad.

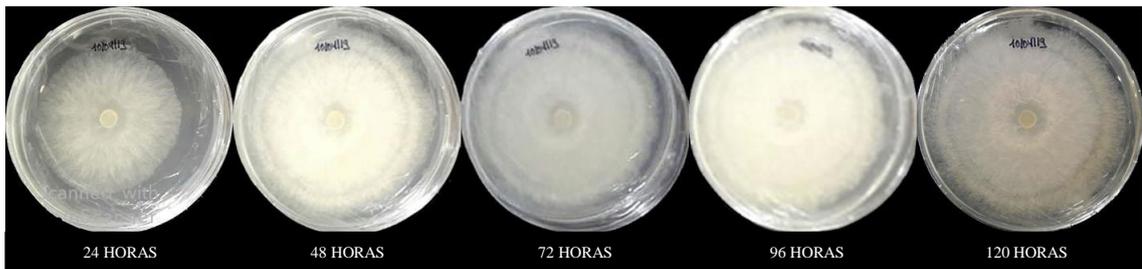


Figura 3-10: Colonias de *Alternaria* sp. crecidas en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

3.5.5. *Botrytis* sp.

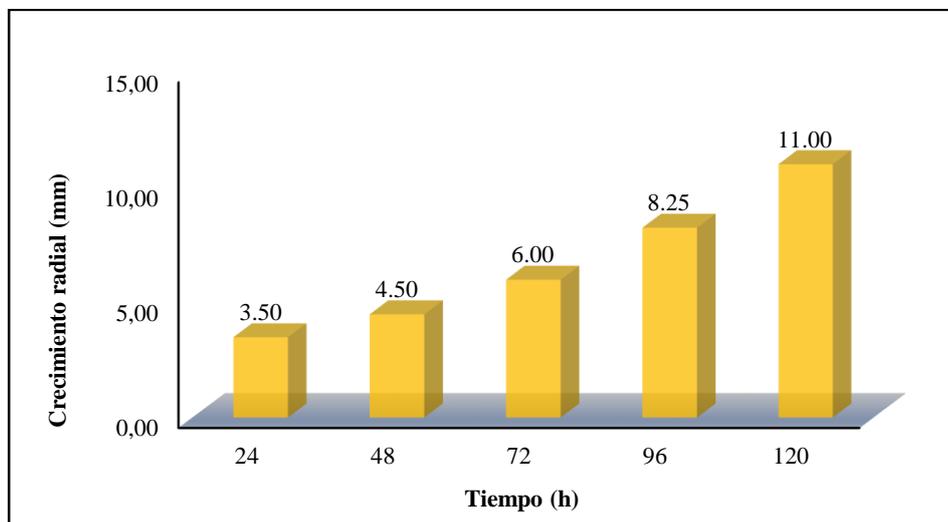


Gráfico 3-6: Ritmo de crecimiento *in vitro* de *Botrytis* sp. en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

En la (Gráfica 3-6) se observó que el hongo *Botrytis* sp. a las 0 horas asume un crecimiento de 3.5 mm de diámetro al haber incorporado un disco de micelio en la caja Petri con la ayuda de un sacabocados, a las 24 horas se observó que el hongo fitopatógeno no ha crecido y se mantiene

constante, a las 48 horas crece 4.5 mm, hasta llegar a las 120 horas que tiene un crecimiento *in vitro* de 11 mm.

La cepa *Botrytis* sp. mostró un crecimiento *in vitro* promedio de 1.88 mm por día en las condiciones experimentales ensayadas, por tal razón se consideró de crecimiento muy lento debido a que no llega a colmar la caja Petri (figura 3-11). Estos resultados no concuerdan con Sepúlveda (1988) quien realizó un estudio para identificar *Botrytis cinerea* en Chicharo de acuerdo a sus síntomas, características y pruebas de patogenicidad, determinó que el hongo en medio de cultivo PDA al cabo de siete días cubrió la caja Petri, pero que se necesitaba de 20 días para observar esclerocios de color negro y algodonosa, en cambio Flores (2015) determinó la actividad antagonista de *Clonostachys rosea* sobre *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxisporum* y *Alternaria solani*, donde determinó el crecimiento de *Botrytis* cada 72 horas, indicando que a las 96 y 168 horas tiene un crecimiento de 40 mm y 53 mm de diámetro respectivamente, teniendo el doble de crecimiento en comparación a los datos reportados a las 120 horas como se observó en la (gráfica 3-6). López *et al.* (2006) en su investigación reporta que *Botrytis cinerea* llegó a cubrir la caja al cabo de diez días.

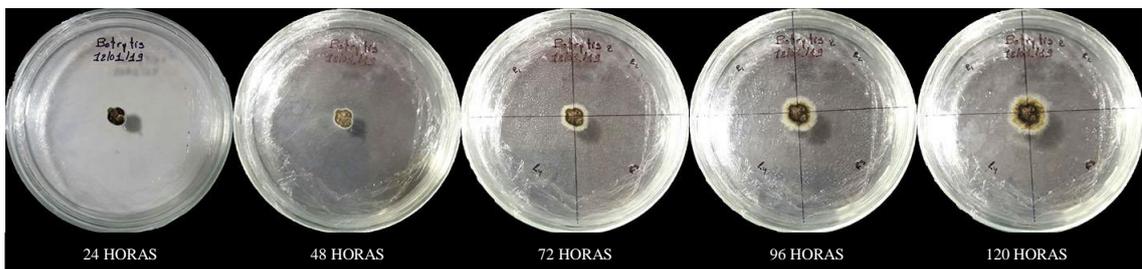


Figura 3-11: Colonias de *Botrytis* sp. crecidas en medio de cultivo PDA, incubado a 28 °C de 0 a 120 horas

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

3.6. Evaluación a nivel de laboratorio de la actividad antifúngica del extracto acuoso de saponinas de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*) frente a *Fusarium* sp.

Tabla 3-3: Porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo *Fusarium* sp. presente en las concentraciones de los extractos de saponinas frente al control.

% de concentración de saponinas	crecimiento	% de inhibición
100	31.33	26.42
87.5	34.33	19.37
75	35.08	17.61
50	39.50	7.24
37.5	37.17	12.72
CONTROL	42.58	

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

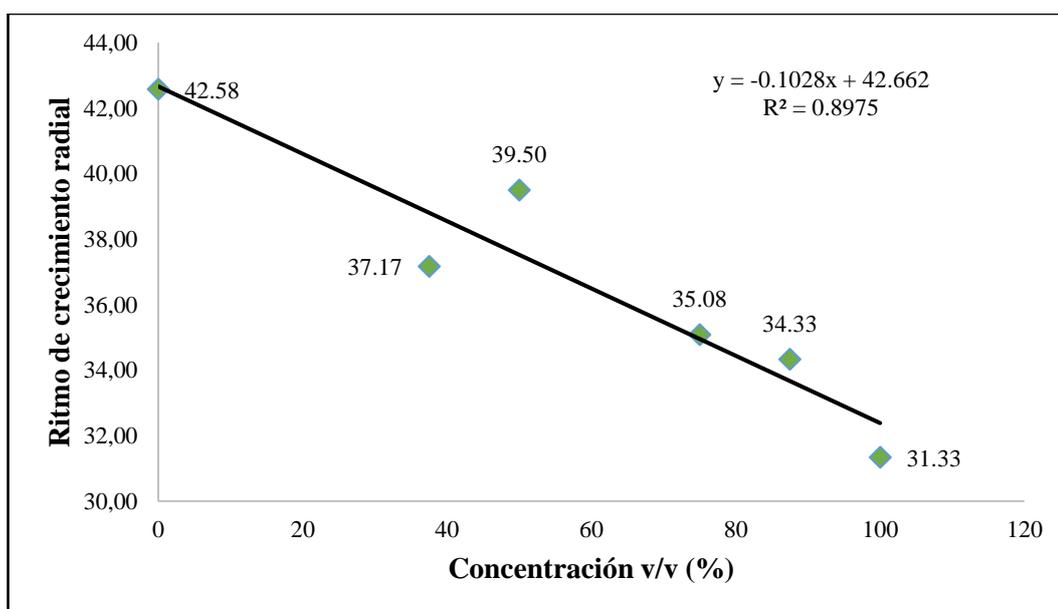


Gráfico 3-7: Curva de regresión lineal de *Fusarium* sp. frente al extracto acuoso de saponinas de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*), incubado a 28 °C a los 9 días.

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

En la (Gráfica 3-7) se observaron las concentraciones acuosas de saponinas en porcentaje V/V frente a *fusarium* sp., donde las concentraciones del 100%, 87.5%, 75%, 50%, 37.5%, inhibió el crecimiento del hongo, teniendo como resultado que la mejor concentración para inhibir el crecimiento está en la concentración 100% inhibiendo con un 26.42% del crecimiento del hongo, siguen las concentraciones 87.5% (19.37%), 75% (17.61%), 37.5% (12.72%), 50% (7.24%). Tiene un coeficiente de correlación de 0.8975 y corresponde a la ecuación $y = -0.1028x + 42.662$.

Estos datos no concuerdan con Arcos (2017) ya que menciona que, al haber aplicado un extracto acuoso de saponinas frente a *Fusarium* sp, este no inhibió su crecimiento, por lo contrario, creció mucho más que el control, también mencionó que tal vez esto se deba a que el extracto acuoso además de contener saponinas también contiene algún tipo de nutrientes, lo cual hace que esté se desarrolle aún más rápido, en la gráfica se puede observar un coeficiente de correlación de 0.2746 y una ecuación de la recta de $y = 0.0403 x + 21.538$.

En estudios realizados por Jiao *et al.* (2015) se determinó que el ginseng contiene saponinas triterpénicas que son conocidas como ginsenósidos y son de diferentes tipos; hongos como *Fusarium solani* crece mucho más cuando existe la presencia de ginsenósidos Rg1, Rc y Rd mientras que *Fusarium oxysporum* crece mucho más cuando existe la presencia de ginsenósidos Rg1 y Rd, estos hongos degradan las saponinas y lo utilizan como nutrientes.

Estos resultados pueden explicar por qué en la presente investigación se tuvo resultados positivos mientras que en estudios realizados por Arcos (2017) se obtuvo resultados negativos, esto se debe a que, dependiendo del tipo de hongo y tipo de saponinas, el hongo puede proliferar como puede detener su crecimiento.

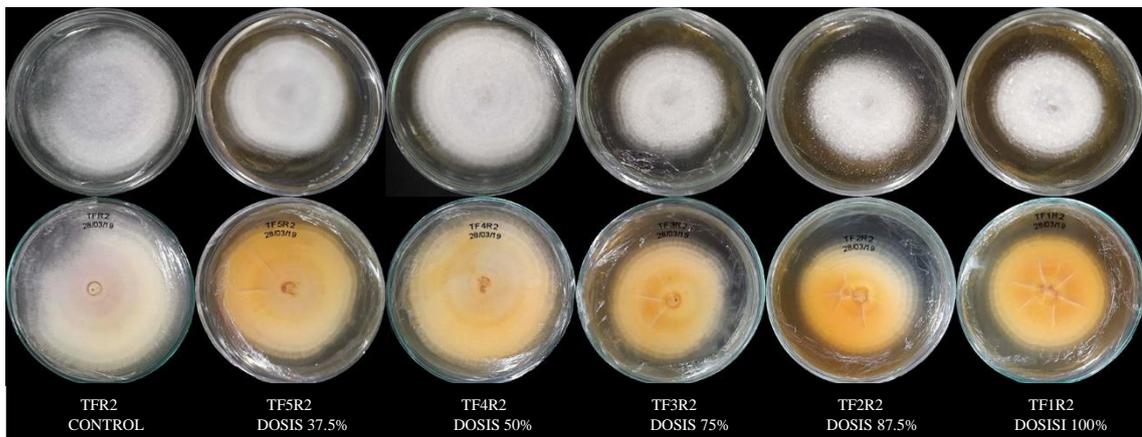


Figura 3-12: Crecimiento del hongo *Fusarium* sp. en el extracto acuoso de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd a los 9 días.

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

Como se observó en la (Figura 3-12) el control *Fusarium* sp. comparado con las cajas Petri que posee las concentraciones del extracto acuoso de saponinas al 37.5% (TF5R2), extracto acuoso de saponina 50% (TF4R2), extracto acuoso de saponinas 75% (TF3R2), extracto acuoso de saponinas 87.5% (TF2R2), y el extracto acuoso de saponinas al 100% (TF1R1), éste crece potencialmente más rápido obteniendo un mayor crecimiento de 42.58 mm. Se observó que la dosis del 100% (TF1R2) aplicada tuvo una mayor inhibición contra *Fusarium* sp. con un crecimiento de 31.33 mm.

3.7. Evaluación a nivel de laboratorio de la actividad antifúngica del extracto acuoso de saponinas de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*) frente a *Rhizoctonia* sp.

Tabla 3-4: Porcentaje de inhibición o estimulación del crecimiento del hongo *Rhizoctonia* sp. presente en las concentraciones de los extractos de saponinas frente al control.

% de concentración de saponinas	crecimiento	% de inhibición o estimulación	
100	38.75	-	8.14
87.5	34.67		3.26
75	34.50		3.72
50	38.92	-	8.60
37.5	39.58	-	10.47
CONTROL	35.83		

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

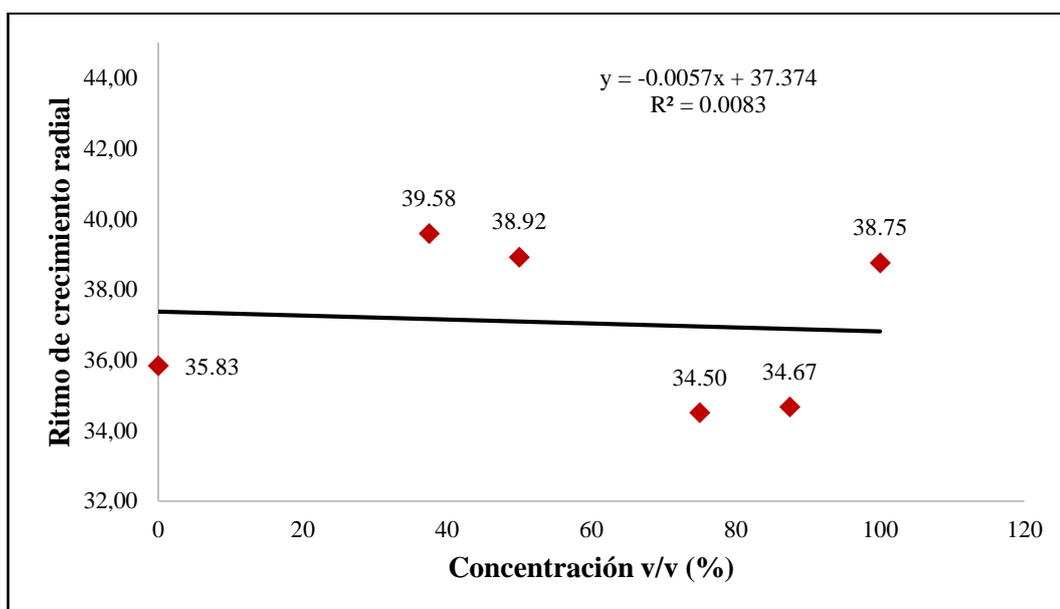


Gráfico 3-8: Curva de regresión lineal de *Rhizoctonia* sp. frente al extracto acuoso de saponinas de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*), incubado a 28 °C a los 9 días.

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

En la (Gráfica 3-8) se observaron las concentraciones acuosas de saponinas en porcentaje V/V frente a *Rhizoctonia* sp., donde las concentraciones del 87.5% y 75%, inhibe el crecimiento del hongo con relación al control, teniendo como resultado que la mejor concentración para inhibir el crecimiento es la del 75% inhibiendo con un 3.72% del crecimiento del hongo, siguiéndole la concentración 87.5% (3.26%), mientras que en la concentración del (100,50 y 37.5)% el extracto acuoso de saponinas estimuló el crecimiento del hongo más que el control, en la concentración del 100% estimuló el crecimiento con un porcentaje de 8.14%, en la concentración del 50%

estimuló el crecimiento con un 8.6% y la concentración del 37.5% estimuló el crecimiento con un 10.47% más que el control. La gráfica presentó un coeficiente de correlación de 0.0083 y corresponde a la ecuación $y = -0.0057x + 37.374$.

Arcos (2017) mencionó en su estudio que el crecimiento *in vitro* de *Rhizoctonia* sp. al estar en contacto con el extracto acuoso de saponinas de la *episperma* y grano de *Chenopodium quinoa* Willd no se ve afectado, por lo contrario, estimula el crecimiento del hongo fitopatógeno, se observó en la gráfica que tiene un coeficiente de correlación de 0.0273 y una ecuación de la recta de $y = 0.0422x + 34.801$.

Las investigaciones realizadas por Díaz (2009) determinó que las plantas poseen sistemas de defensas, entre las cuales una de ellas son las saponinas considerados como metabolitos químicos con actividad antimicrobiana, pero a su vez mencionó que los microorganismos tienen la capacidad de tolerar estos compuestos, como es el caso de hongos fitopatógenos, endófitos, hongos descomponedores y bacterias fitopatógenas, en el caso de *Fusarium oxysporum* produce una enzima conocida como tomatinasa las cuales son capaces de hidrolizar la saponina tomatina, de igual forma *Gaeumannomyces graminis* quien produce una enzima llamada avenacinasa e hidroliza la saponina avenacina, además dice que las tomatinasa tiene la función de bloquear las defensas de la planta. En su investigación también mencionó que *Botrytis cinerea* tiene la capacidad de degradar la saponina tomatina, digitonina, avenacosidos y avenacina-A1. Esto puede explicar el por qué hubo una mayor efectividad de inhibición en unos hongos (*Fusarium* sp., *Alternaria* sp., y *Botrytis* sp.) y en otros no (*Rhizoctonia* sp. y *Pythium* sp.).

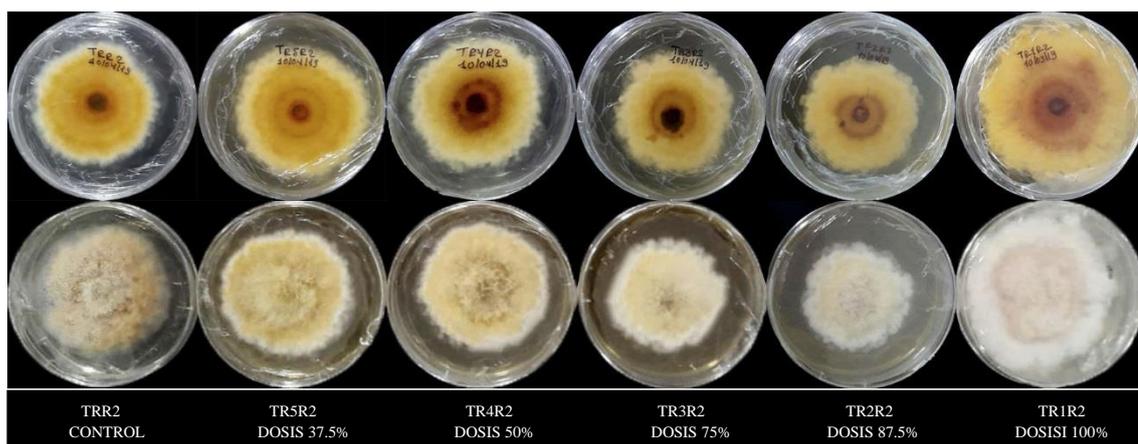


Figura 3-13: Crecimiento del hongo *Rhizoctonia* sp. en el extracto acuoso de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd a los 9 días.

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

En la (Figura 3-13) se observó que las concentraciones del extracto acuoso de saponinas al 75% (TF3R2) y extracto acuoso de saponinas al 87.5% (TF2R2) inhibe el crecimiento del hongo con

relación al control, por otra parte, el extracto acuoso de saponinas al 37.5% (TF5R2), extracto acuoso de saponina 50% (TF4R2), y el extracto acuoso de saponinas al 100% (TF1R1), creció potencialmente más rápido que el control. Se observó que todos los tratamientos tuvieron un crecimiento similar al control por lo que se consideró que el extracto acuoso de saponinas no afectó en gran magnitud al crecimiento del hongo.

3.8. Evaluación a nivel de laboratorio de la actividad antifúngica del extracto acuoso de saponinas de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*) frente a *Pythium* sp.

Tabla 3-5: Porcentaje de inhibición o estimulación del crecimiento del hongo *Pythium* sp. presente en las concentraciones de los extractos de saponinas frente al control.

% de concentración de saponinas	Crecimiento <i>in vitro</i>	% de inhibición o estimulación	
100	38.50	-	13.24
87.5	35.25	-	3.68
75	31.67		6.86
50	34.58	-	1.72
37.5	29.92		12.01
CONTROL	34.00		

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

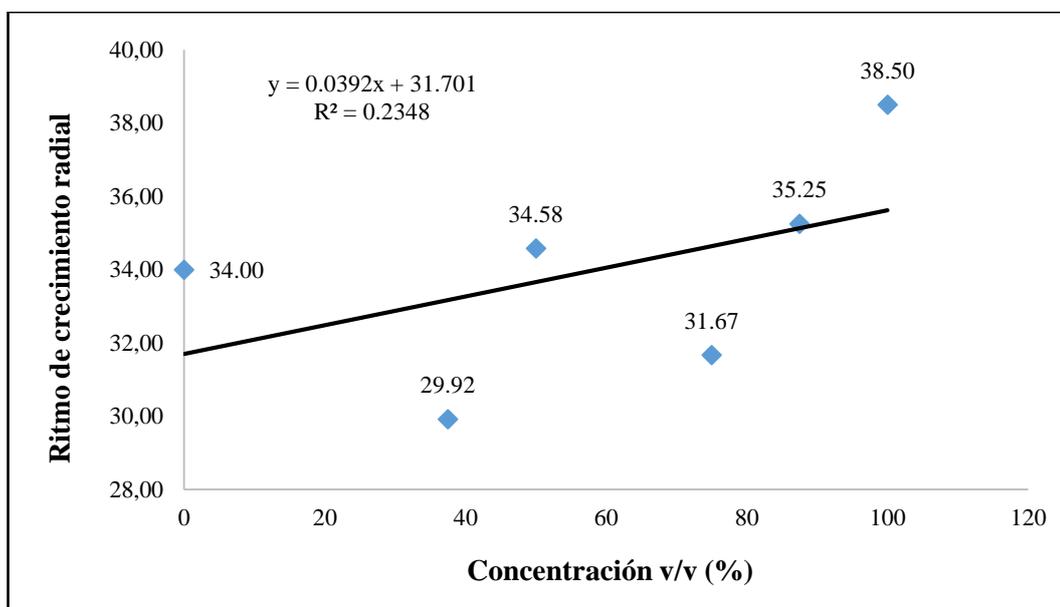


Gráfico 3-9: Curva de regresión lineal de *Pythium* sp. frente al extracto acuoso de saponinas de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*), incubado a 28 °C a los 6 días.

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

En la (Gráfica 3-9) se observaron las concentraciones acuosas de saponinas en porcentaje V/V, donde para la concentración del 100% se observó que estimula el crecimiento del hongo en un 13.24% más que el control, de igual forma en la concentración del 87.5 % el hongo tiende a crecer más que el control en un 3.68%, mientras que en la concentración del 75% inhibe con 6.86 % el crecimiento del hongo con relación del control, para la concentración del 50 % el extracto de saponinas estimuló el crecimiento en un 1.72% más que el control y en la concentración del 37.5 % se observó que inhibió en un 12% el crecimiento del hongo con relación al control. La gráfica presentó un coeficiente de correlación de 0.2348 y correspondió a la ecuación $y = 0.0392x + 31.701$.

Arcos (2017) mencionó que el extracto acuoso de saponinas de la *episperma* de *Chenopodium quinoa* Willd no era efectivo ya que permite el crecimiento de *Pythium* sp, se observó en la gráfica que tiene un coeficiente de correlación de 0.3712 y una ecuación de la recta de $y = 0.1094x + 18.505$.

En estudios realizados por Wang (2018) mencionó que el ginsenósidos Rb o saponinas Rb aumentó el crecimiento de las hifas de *Pythium irregulare* mientras que *Cylindrocarpon destructans* (Zinss) Scholten desarrolló tolerancia a los ginsenósidos. Tomando en cuenta lo mencionado se puede asumir que los resultados de la presente investigación están asociados a que *Fusarium* sp. en las concentraciones al (100, 87.5 y 50) % utilizan el extracto de saponinas como nutrientes para aumentar su crecimiento.

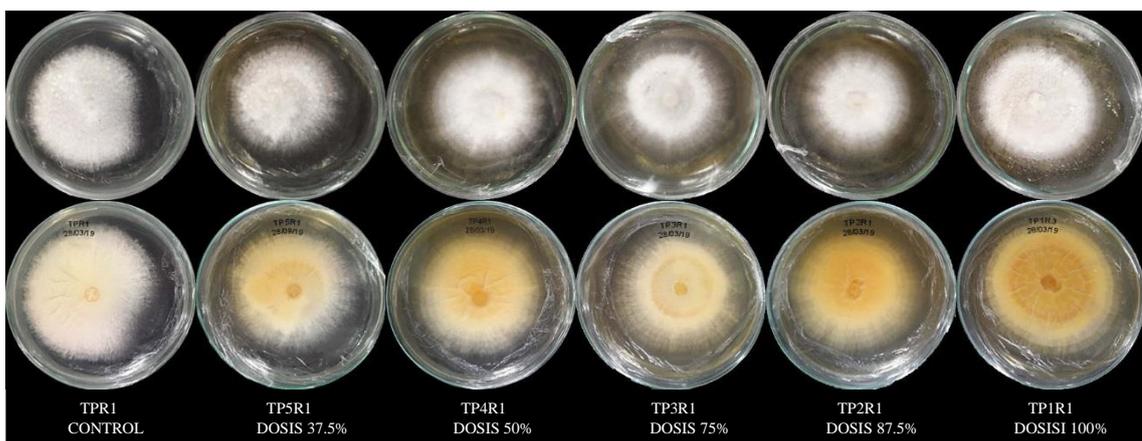


Figura 3-14: Crecimiento del hongo *Pythium* sp. en el extracto acuoso de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*) a los 9 días.

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

Como se observó en la (Figura 3-14) el control *Pythium* sp. comparado con las cajas Petri que posee las concentraciones del extracto acuoso de saponinas al 50% (TP4R2), extracto acuoso de saponinas al 87.5% (TP2R2), y el extracto acuoso de saponinas al 100% (TP1R1), este crece

potencialmente más rápido obteniendo un mayor crecimiento de 42.58 mm. Se observó que la dosis del 37.5% (TP5R2) y 75% (TP3R2) aplicada tuvo un mayor porcentaje de inhibición contra *Fusarium* sp. con un crecimiento de 31.33 mm.

3.9. Evaluación a nivel de laboratorio de la actividad antifúngica del extracto acuoso de saponinas de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*) frente a *Alternaria* sp.

Tabla 3-6: Porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo *Alternaria* sp. presente en las concentraciones de los extractos de saponinas frente al control.

% de concentración de saponinas	Crecimiento <i>in vitro</i>	% de inhibición
100	4.33	89.5
87.5	5.25	87.3
75	6.17	85.1
50	9.00	78.2
37.5	13.92	66.3
CONTROL	41.33	

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

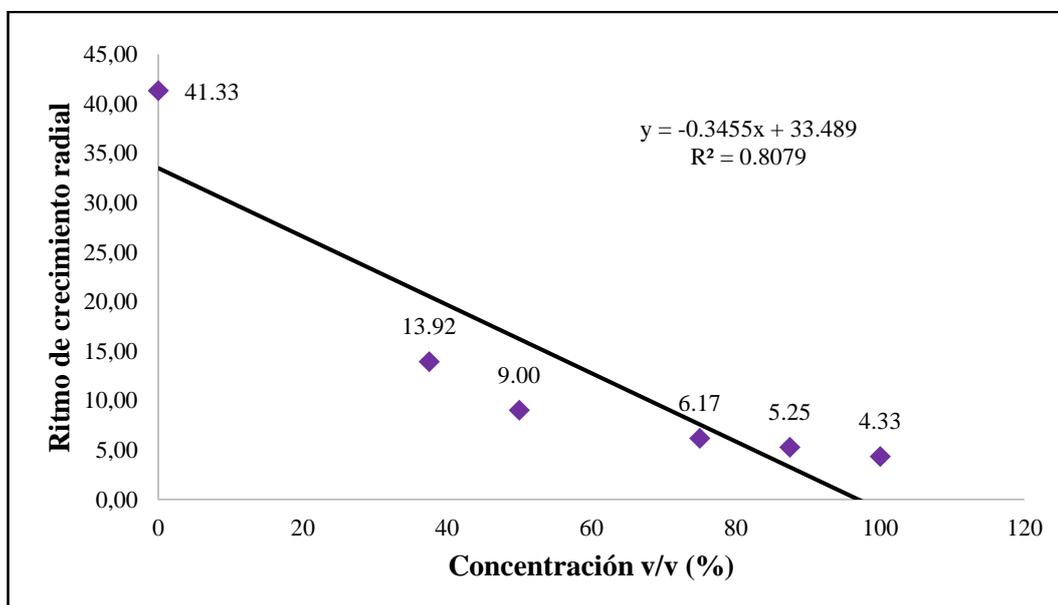


Gráfico 3-10: Curva de regresión lineal de *Alternaria* sp. frente al extracto acuoso de saponinas de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*), incubado a 28 °C a los 6 días.

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

En la (Gráfica 3-10) se observó las concentraciones acuosas de saponinas en porcentaje V/V frente a *Alternaria* sp., no fue posible analizar el crecimiento *in vitro* a los 9 días debido a que a

los 6 días TAR1 (control *Alternaria* sp.) alcanzó el borde de la placa, donde se observa que las concentraciones del 100%, 87.5%, 75%, 50% y 37.5% inhiben el crecimiento del hongo, teniendo como mejor resultado la concentración del 100% con un porcentaje de inhibición de 89.5% con relación al control, seguidamente de las concentraciones 87.5% (87.3%), 75% (885.07%), 50% (78.22%) y 37.5% (66.32%). Tiene un coeficiente de correlación de 0.8079 y correspondió a la ecuación $y = -0.3455x + 33.489$.

Estos resultados concuerdan con Pavik *et al.* (2000) quien mencionó que utilizó digitonina extraídas a partir de semillas de *digitalis purpurea*, determinó que estas saponinas son capaces de inhibir el crecimiento de varios hongos como (*Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium solani* y *Fusarium culmorum*). Resultados que son similares por Apaza *et al.* (2016) quien indicó que usó saponinas provenientes de los residuos de los procesos industriales para la obtención de *Chenopodium quinoa* Willd para controlar el hongo que afecta a cultivos de acelga (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) conocido como *Cercospora beticola sacc*, determinó que obtuvo un 95 % de inhibición del hongo al utilizar una concentración entre 5 mg/ml y 250 mg/ml de saponinas.

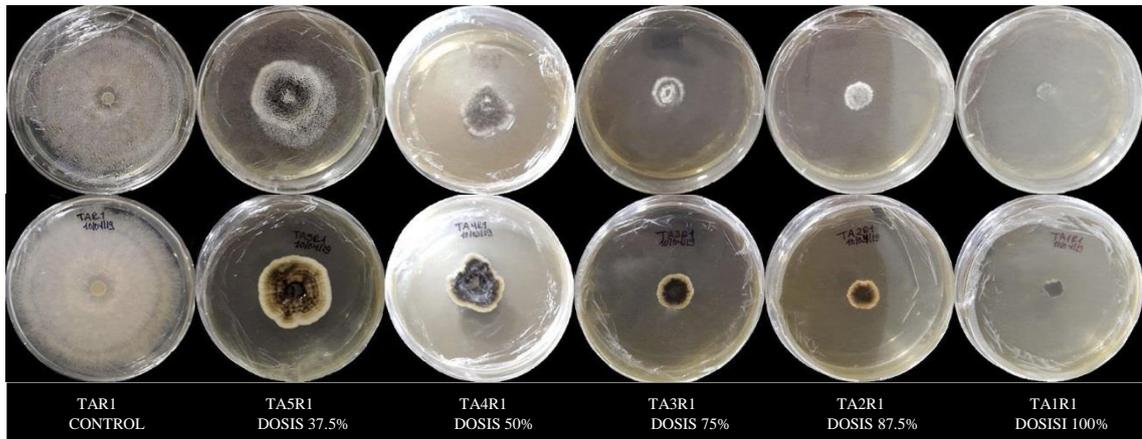


Figura 3-15: Crecimiento del hongo *Alternaria* sp. en el extracto acuoso de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*) a los 6 días.

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

Se observó en la (Figura 3-15) que el control de *Alternaria* sp. tiene un crecimiento *in vitro* de 41.33 mm, observándose una inhibición en todos los tratamientos con las dosis aplicadas, la concentración del extracto acuoso de saponinas al 100% (TP1R1) presentó una mayor actividad antifúngica, inhibiendo totalmente el crecimiento del hongo.

3.10. Evaluación a nivel de laboratorio de la actividad antifúngica del extracto acuoso de saponinas de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*) frente a *Botrytis* sp.

Tabla 3-7: Porcentaje de inhibición o estimulación del crecimiento del hongo *Botrytis* sp. presente en las concentraciones de los extractos de saponinas frente al control.

% de concentración de saponinas	crecimiento	% de inhibición o estimulación	
100	13.50		1.82
87.5	11.92		13.33
75	13.25		3.64
50	9.83		28.48
37.5	14.25	-	3.64
CONTROL	13.75		

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

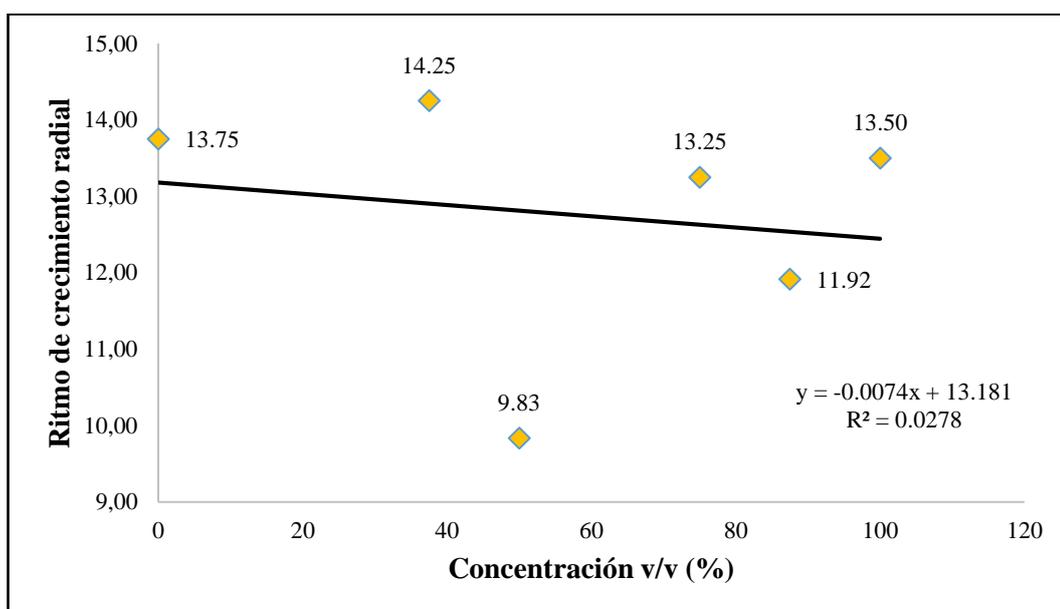


Gráfico 3-11: Curva de regresión lineal de *Botrytis* sp. frente al extracto acuoso de saponinas de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*), incubado a 28 °C a los 9 días.

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

En la (Gráfica 3-11) se observó las concentraciones acuosas de saponinas en porcentaje V/V frente a *Botrytis* sp., donde las concentraciones del 100%, 87.5%, 75%, 50%, inhiben el crecimiento del hongo con relación al control, teniendo como resultado que el mejor porcentaje de inhibición está en la concentración del 50% inhibiendo con un 28.48% del crecimiento del hongo, seguidamente de las concentraciones 87.5% (13.33%), 75% (3.64%), 100% (1.82%), mientras que en la concentración del 37.5% el extracto acuoso de saponinas estimuló el

crecimiento del hongo en un 3.64 % más que el control. La gráfica presentó un coeficiente de correlación de 0.0278 y corresponde a la ecuación $y = - 0.0074x + 13.181$.

López (2006) determinó la existencia de saponinas en extractos acuosos y etanólicos obtenidos de helecho marranero y pronto alivio, esto aplicó para controlar a *Colletotrichum musae* y *Botrytis cinerea* donde determinó que los extractos etanólicos controlan en un 68 % el desarrollo de los hongos, mientras que en los extractos acuosos los hongos presentaron crecimientos similares al control por lo que no existió inhibición alguna. Sin embargo, estos resultados negativos para los extractos acuosos no se observó en las pruebas realizadas en la presente investigación, pero si presentó un porcentaje de inhibición bajo de 28.48% del crecimiento de *Botrytis* sp., esto puede deberse a que las saponinas fueron extraídas de distintas fuentes.

Rodríguez (2017) realizó estudios sobre la *episperma* y semillas de *citrus limonia* y *citrus sinensis* donde determinó que la *episperma* y *C. limonia* tienen poder antimicrobiano frente a *Aspergillus niger*, *Phytophthora cinnamomi*, *Rhizopus oryzae* y *Botrytis cinerea* disminuyendo su crecimiento e inclusive la inhibición total del hongo, a su vez también observó daños micromorfológico en sus estructuras, estableció que al aplicar una concentración del 7.5 % del extracto metanólico de semillas se observó que los esporangios y zigospangios no se desarrollaron adecuadamente, indicando que se puede deber a que contienen metabolitos como flavonoides, pero también señala que estos extractos contienen saponinas, taninos y aminoácidos.

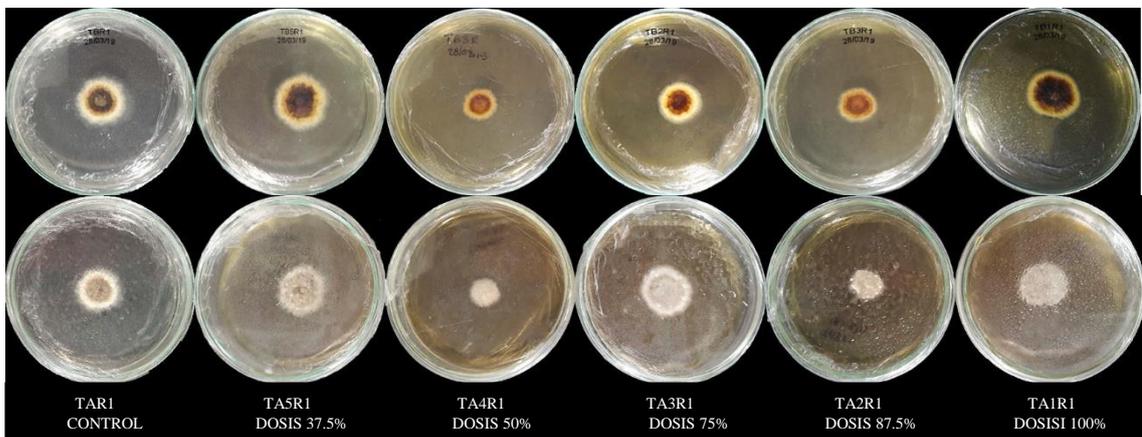


Figura 3-16: Crecimiento del hongo *Botrytis* sp. en el extracto acuoso de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*) a los 9 días

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

Como se observó en la (Figura 3-16) el control *Botrytis* sp. tuvo un crecimiento *in vitro* de 13.75 mm, se observó una inhibición en los tratamientos extracto acuoso de saponinas al 100% (TB1R1), 87.5 % (TB2R1), 75% (TB3R1) y 50% (TB4R1), mientras que en el extracto acuoso de saponinas al 37.5% (TB5R1) se observó que estimula el crecimiento del hongo en un 3.64%.

3.11. Actividad antifúngica del extracto acuoso de saponinas frente a *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp y *Botrytis* sp. a las 72 horas de incubación.

Tabla 3-8: Análisis de varianza para la variable actividad antifúngica de *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp. a las 72 horas de incubación

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F- calculado
Tratamientos	29	5080.978	175.206	57.145**
Error	60	183.958	3.066	
Total	89	5264.937		

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

Coefficiente de variación: 11.71%

Media general: 14.94 mm

**** Diferencias altamente significativas**

De acuerdo con el análisis de varianza para la variable actividad antifúngica del extracto acuoso de saponinas de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*) frente a *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp. a las 72 horas (tabla 3-8), se determinó que existieron diferencias altamente significativas entre los tratamientos, siendo su media general de 14.94 mm y con un coeficiente de variación de 11.71%, por lo que se realizó una prueba de separación de medias utilizando Tukey al 5%.

En la (tabla 3-9) se observó la existencia de 4 rangos, en donde las medias seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente, los tratamientos descritos con la letra (D) se caracterizaron como los mejores resultados colocándose en este rango TA1 (extracto acuoso de saponinas al 100%), TA2 (extracto acuoso de saponinas al 87.5%), TA3 (extracto acuoso de saponinas al 75%), TA4 (extracto acuoso de saponinas al 50%) y TA5 (extracto acuoso de saponinas al 37.5%), con una media de 3.67 mm, 3.92mm, 4.5mm, 6.17 mm respectivamente, presentaron mayor porcentaje de inhibición del crecimiento *in vitro* contra *Alternaria* sp.

Para *Fusarium* sp. todas las concentraciones aplicadas inhibieron el crecimiento *in vitro* del patógeno con respecto al testigo, pero la mejor dosis eficaz se presentó en TF1 (extracto acuoso de saponinas al 100%), este se encuentra en el rango (BC), presentando mayor actividad antifúngica.

Tabla 3-9: Prueba de Tukey al 5% para la actividad antifúngica de *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp. a las 72 horas de incubación.

Tratamiento	Media	Rango	
TA	39.5	A	
TR4	22.17	B	
TR3	22	B	
TR2	21.58	B	C
TF	20.75	B	C
TF4	19.58	B	C
TR1	19.42	B	C
TF5	19	B	C
TF3	18.92	B	C
TR5	18.58	B	C
TR	18.42	B	C
TF2	17.92	B	C
TP2	17.08	B	C
TF1	16.92	B	C
TP1	16.75	B	C
TP	16.67	B	C
TP4	16.67	B	C
TP3	16.5	B	C
TP5	16.17		C
TA5	9.33		D
TB3	8.25		D
TB1	8		D
TB4	7.92		D
TB2	7.67		D
TB	7.25		D
TB5	7.17		D
TA4	6.17		D
TA3	4.5		D
TA2	3.92		D
TA1	3.67		D

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

Para el caso de *Rhizoctonia* sp. TR llegó a tener un mayor crecimiento con respecto a las concentraciones propuestas TR2, TR1 y TR5 todos se encontraron en el rango (BC), mientras que TR4 y TR3 se encontraron en el rango (B), se consideró los tratamientos menos efectivos.

El tratamiento TB5 (extracto acuoso de saponinas al 37.5%) ubicado en el rango (D) con una media de 7.17 mm inhibió el crecimiento del hongo *Botrytis* sp.

Para el hongo *Pythium* sp. el tratamiento eficaz fue TP5 (extracto acuoso de saponinas al 37.5%) con una media de 16.17 mm, este se encuentra en el rango (C), inhiendo el crecimiento *in vitro* del patógeno, también se puede aplicar el tratamiento TP3 (extracto acuoso de saponinas al 75%) y TP4 (extracto acuoso de saponinas al 50%), estos se encuentran en el rango (BC).

Al comparar el control TA (*Alternaria* sp.), TF (*Fusarium* sp.), TR (*Rhizoctonia* sp.), TP (*Pythium* sp.) y TB (*Botrytis* sp.), se observó que TA tuvo un mayor crecimiento con 39.5 mm colocándose en el primer rango (A), mientras que para los siguientes tratamientos se encontraron en rangos intermedios (BC) con un ritmo de crecimiento *in vitro* para TF de 20.75 mm, para TR de 18.42 mm y para TP de 16.67 mm, por otro lado, TB se encontró en un rango inferior (D), con un crecimiento *in vitro* de 7.25 mm.

3.12. Actividad antifúngica del extracto acuoso de saponinas frente a *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp y *Botrytis* sp. a las 144 horas de incubación.

Tabla 3-10: Análisis de varianza para la variable actividad antifúngica de *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp. a las 144 horas de incubación.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F- calculado
Tratamientos	29	9479.806	326.890	41.598**
Error	60	471.500	7.858	
Total	89	9951.306		

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

Coefficiente de variación: 12.88%

Media general: 21.76 mm

**** Diferencias altamente significativas**

De acuerdo con el análisis de varianza para la variable actividad antifúngica del extracto acuoso de saponinas de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*) frente a *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp. a las 144 horas (tabla 3-10), se determinó que existieron diferencias altamente significativas entre los tratamientos, siendo su media general de 21.76 mm y con un coeficiente de variación de 12.88%, por lo que se realizó una prueba de separación de medias utilizando Tukey al 5%.

Tabla 3-11: Prueba de tukey al 5% para la actividad antifúngica de *Fusarium* sp, *Rhizoctonia* sp, *Pythium* sp, *Alternaria* sp y *Botrytis* sp, a las 144 horas de incubación.

Código	Media	Rango			
TA	41.33	A			
TF	33.67	A	B		
TR4	31.92		B	C	
TR5	31.5		B	C	
TF5	30.5		B	C	
TR1	30.42		B	C	
TF4	30		B	C	
TR	29.83		B	C	
TP1	29.17		B	C	
TR2	28.5		B	C	
TP2	27.83		B	C	
TR3	27.75		B	C	
TF2	27.58		B	C	
TF3	27.58		B	C	
TP4	26.33		B	C	
TP	26.17		B	C	
TF1	24.92		B	C	
TP3	24.5		B	C	
TP5	23.5			C	
TA5	13.92			D	
TB	12.17			D	E
TB1	10.33			D	E
TB5	10.08			D	E
TB3	9.75			D	E
TB2	9.75			D	E
TB4	9.08			D	E
TA4	9			D	E
TA3	6.17			D	E
TA2	5.25			D	E
TA1	4.33				E

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

En la (tabla 3-11) se observó la existencia de 5 rangos, los tratamientos descritos con la letra (E) se identificaron como los mejores resultados, colocándose en este rango el tratamiento TA1 (extracto acuoso de saponinas al 100% frente a *Alternaria* sp.) mostrando mayor porcentaje de inhibición del crecimiento *in vitro*, con una media de 4.33mm, los demás tratamientos propuestos se encontraron en el rango (ED) considerándose también como buenos resultados inhibiendo el crecimiento del hongo codificados como TA2 (extracto acuoso de saponinas al 87.5% frente a *Alternaria* sp.), TA3 (extracto acuoso de saponinas al 75% frente a *Alternaria* sp.) y TA4 (extracto acuoso de saponinas al 50% frente a *Alternaria* sp.) con una media de 5.25 mm, 6.17 mm y 9 mm respectivamente.

Para el patógeno *Botrytis* sp. se observó que a las 72 h sólo el tratamiento TB5 presentaba actividad antifúngica contra el patógeno, mientras que a las 144 h todas las concentraciones propuestas TB4, TB2, TB3, TB5 y TB1 inhibieron el crecimiento *in vitro* del patógeno, estos se encontraron en el rango (DE).

Para *Pythium* sp. el tratamiento TP5 (extracto acuoso de saponinas al 37.5%) se encontró en el rango (C) y TP3 (extracto acuoso de saponinas al 75%) se encontró en rangos intermedios (BC), inhibiendo el crecimiento del *in vitro* del patógeno.

Para *Fusarium* sp. tanto a las 72 h como a las 144 h todas las concentraciones inhibieron el crecimiento del hongo, pero la mejor dosis eficaz se presentó en TF1 (extracto acuoso de saponinas al 100%), este se encontró en el rango (BC), presentando mayor actividad antifúngica.

Para *Rhizoctonia* sp. a las 144 h la dosis eficaz fue el tratamiento TR3 (extracto acuoso de saponinas al 75%), este se encuentra en el rango (BC), presentando actividad anfúngica con respecto al control.

Al comparar los tratamientos control TA (*Alternaria* sp.), TF (*Fusarium* sp.), TR (*Rhizoctonia* sp.), TP (*Pythium* sp.) y TB (*Botrytis* sp.), se observó que TA tiene un mayor crecimiento con 41.33 mm, TF con un crecimiento de 33.67 mm colocándose en el primer rango (A), los siguientes se encontraron en rangos intermedios (BC) con un ritmo de crecimiento *in vitro* para TR de 29.83 mm y para TP de 26.17 mm, por otro lado, TB se encontró en un rango inferior (DE), con un crecimiento *in vitro* de 12.17 mm.

3.13. Actividad antifúngica del extracto acuoso de saponinas frente a *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp y *Botrytis* sp. a las 216 horas de incubación.

Tabla 3-12: Análisis de varianza para la variable actividad antifúngica de *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp. a las 216 horas de incubación.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F- calculado
Tratamientos	29	14880.747	513.129	27.837**
Error	60	1106.000	18.433	
Total	89	15986.747		

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

Coefficiente de variación: 16.05%

Media general: 26.76 mm

**** Diferencias altamente significativas**

De acuerdo con el análisis de varianza para la variable actividad antifúngica del extracto acuoso de saponinas de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*) frente a *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp. a las 216 horas (tabla 3-12), se determinó que existieron diferencias altamente significativas entre los tratamientos, siendo su media general de 26.76 mm y con un coeficiente de variación de 16.05%, por lo que se realizó una prueba de separación de medias utilizando Tukey al 5%.

Tabla 3-13: Prueba de tukey al 5% para la actividad antifúngica de *Fusarium* sp, *Rhizoctonia* sp, *Pythium* sp, *Alternaria* sp y *Botrytis* sp, a las 216 horas de incubación.

Código	Media	Rango
TF	42.58	A
TA	41.33	A
TR5	39.58	A
TF4	39.5	A
TR4	38.92	A
TR1	38.75	A
TP1	38.5	A
TF5	37.17	A
TR	35.83	A
TP2	35.25	A
TF3	35.08	A
TR2	34.67	A
TP4	34.58	A
TR3	34.5	A
TF2	34.33	A
TP	34	A
TP3	31.67	A
TF1	31.33	A
TP5	29.92	A
TB5	14.25	B
TA5	13.92	B
TB	13.75	B
TB1	13.5	B
TB3	13.25	B
TB2	11.92	B
TB4	9.83	B
TA4	9	B
TA3	6.17	B
TA2	5.25	B
TA1	4.33	B

Realizado por: Ivonne Carrillo, 2019

En la (tabla 3-13) se observó la existencia de 2 rangos, en donde las medias seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente, los tratamientos descritos con la letra (B) se identifican como los mejores resultados. Donde TA1 (extracto acuoso de saponinas al 100%), TA2 (extracto acuoso de saponinas al 87.5%), TA3 (extracto acuoso de saponinas al 75%), TA4 (extracto acuoso de saponinas al 50%) y TA5 (extracto acuoso de saponinas al 37.5%) mostraron que los tratamientos fueron efectivos contra *Alternaria sp.*, inhibiendo el crecimiento del hongo.

Para el patógeno *Botrytis sp.* a las 144 h todas las concentraciones presentaron actividad antifúngica, mientras que a las 216 h todas las concentraciones excepto TB5 inhibieron el crecimiento *in vitro* del patógeno, estos se encontraron en el rango (B).

Para *Pythium sp.* tanto a las 144 h y 216 h el tratamiento TP5 (extracto acuoso de saponinas al 37.5%) y TP3 (extracto acuoso de saponinas al 75%) aunque se encontraron en rangos superiores (A) inhibieron el crecimiento *in vitro* del patógeno con respecto al control.

Para *Fusarium sp.* todas las concentraciones aplicadas encontrándose en el rango (A) inhibieron el crecimiento *in vitro* del hongo fitopatógeno, se consideró que la mejor dosis aplicada fue la concentración TF1 (extracto acuoso de saponinas al 100%) presentando mayor actividad antifúngica.

Para *Rhizoctonia sp.* el tratamiento TR2 (extracto acuoso de saponinas al 87.5%) y TR3 (extracto acuoso de saponinas al 75%) se encontró en el rango (A), presentando actividad antifúngica con respecto al control.

Yábar y Reyes (2017) mencionaron en su investigación que utilizaron un extracto acuoso de saponinas como desinfectante para controlar *Escherichia coli*, y no obtuvieron resultados efectivos, indicó que no existe diferencias significativas en el tiempo de exposición, pero por otro lado, dos de los factores importantes fueron el porcentaje de carga microbiana y porcentaje de saponinas, determinó que si al utilizar una carga microbiana alta y concentraciones bajas de saponinas causa que los microorganismos generen resistencia, indica que tuvo resultados positivos con una baja y media carga microbiana con una concentración del 100% del extracto. Comparado con los resultados en la presente investigación el tratamiento de *Rhizoctonia sp* y *Pythium sp* al no presentar inhibición en algunas de sus concentraciones, se pudo deber a que éstos generaron una resistencia y adaptación a los extractos.

Gonzales *et al* (2018) en su investigación menciona que utilizó extractos de saponinas como nutriente para *Pseudomonas protegens* y a su vez aplicó esto para controlar *Gaeumannomyces graminis var. tritici* determinando que al aplicar concentraciones de 0.1840 y 9200 ppm de saponinas hubo un aumento de la cepa *P. protegens* a las 72 horas, causando una actividad antagonista o daño al hongo *G. graminis var. Tritici*. Esto explicaría por qué algunos de los hongos fitopatógenos mas bien estarían utilizando el extracto acuoso de saponinas como

nutrientes, como puede ser el caso de *Rhizoctonia* sp y *Pythium* sp el cual al aplicar una concentración del 100% de saponinas, éstos tienen un crecimiento mayor que el control.

En las investigaciones antes mencionadas varios autores determinaron que las saponinas tienen propiedades antifúngicas contra ciertos tipos de hongos, actualmente también están siendo estudiadas para tratamientos medicinales como Simo *et al* (2017) en su estudio realizaron el aislamiento de saponinas nuevas llamadas gummiferaosides D – E (1 y 2) y una ya conocida Julibroside J (3) en raíces de *Albizia Gummifera* las cuales fueron aplicados a células de cáncer, en la que determinó que la saponina 1 y 3 inducía apoptosis en las células cancerígenas del carcinoma epidermoide.

CONCLUSIONES

- Mediante el empleo del método Soxhlet se obtiene un extracto acuoso de residuos de quinua amarga (22% de saponinas en residuos según método afrosimétrico) con 425 ml por cada 200 g que alcanza una concentración de 0.610 mg/ml de saponinas.
- El extracto acuoso de saponinas de residuos de quinua presenta actividad antifúngica in vitro frente a cepas, obtenidas en el laboratorio, de *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp. y *Botrytis* sp. con valores de porcentaje de inhibición del crecimiento que varían con la cepa y que en el caso de *Alternaria* sp. alcanzó 89.5%.
- Los residuos de quinua tienen potencial de uso para el manejo de enfermedades fúngicas en plantas por su contenido de saponinas y actividad antifúngica in vitro.

RECOMENDACIONES

- Evaluar el extracto acuoso de saponinas en plantas infectadas con *Alternaria* sp. para verificar la capacidad de inhibición que presentó a nivel *in vitro*.
- Evaluar el extracto acuoso de saponinas frente a otros tipos de hongos fitopatógenos a nivel *in vitro* para comprobar si inhiben el crecimiento.
- Evaluar la interferencia de otras sustancias que puedan encontrarse en los extractos acuosos y puedan presentar color a la longitud de onda de 528 nm.
- Evaluar un bio-producto a base del extracto acuoso de saponinas con los mejores resultados presentados y verificar a nivel de campo.

BIBLIOGRAFÍA

ACUÑA, I. & ARAYA, M. *Ficha 48: "Enfermedades de la papa: Pudrición seca o fusariosis"* [en línea]. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS - INIA, 2017. [Consulta: 15 de Enero 2019]. Disponible en: <http://www.inia.cl/wp-content/uploads/FichasTécnicasSanidadVegetal/Ficha%2048%20Pudricion%20seca%20o%20fusariosis.pdf>

AGRIOS, G. N. *Fitopatología*. 2^{da} ed. México: Limusa, 2005, pp. 419–482.

AHUMADA, A., ORTEGA, A., CHITO, D., BENÍTEZ, R. “Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico”. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 2016, (Colombia) 45(3), pp. 438–469. [Consulta: 11 de Enero 2019]. Doi: 10.15446/rcciquifa.v45n3.62043. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v45n3/v45n3a06.pdf>

ALENCASTRO, L. Alternativas ecológicas para el control del moho gris (*Botrytis cinerea*) en mora de castilla (*Rubus glaucus Benth*) (Tesis) (Tercer nivel). [En línea] Escuela Politécnica Del Ejército. (Sangolquí-Colombia). 2011. 110-111 [Consulta: 20 de Febrero del 2019]. Disponible en: <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/4593/1/T-ESPE-IASA I-00457O.pdf>.

ALVAREZ, K. AND GALLEGOS, L. Efecto desinfectante de las saponinas extraídas de la cáscara de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en superficies de producción de una industria láctea (Tesis) (Tercer nivel). [En línea] Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Ciencias Farmacéutica y Bioquímica (Lima-Perú). 2018. 10-17 [Consulta: 9 de Marzo del 2019]. Disponible en: http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/1920/TESIS_GUERRERO_GUTIERREZ%20MELISSA_JAQUELINE.pdf?sequence=2&isAllowed=y.

APAZA, R, et al. “T Efecto de saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd contra el fitopatógeno *Cercospora beticola* Sacc”. *Revista Protección Vegetal*, [en línea], 2016, (Bolivia) 31 (1), pp. 63–

69. [Consulta: 10 de Febrero 2019]. Número ISSN 2224-4697. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v31n1/rpv09116.pdf>

ARANIBAR, G. Efecto inhibitorio de la saponina de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en la flora fúngica natural e inducida de *Penicillium digitatum* en naranjas (*Citrus sinensis*) (Tesis) (Tercer nivel). [En línea] Universidad Nacional del Altiplano, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial (Puno-Perú). 2017. 49-51 [Consulta: 15 de Enero del 2019]. Disponible en: http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/9408/Rosa_Enriquez_Yuca.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

ARBITO RIERA, M. P. Evaluación *in vitro* de la capacidad antagonista de *Trichoderma spp.* frente a *Fusarium spp.* (Tesis) (Tercer nivel). [En línea] Universidad Politécnica Salesiana (Cuenca-Ecuador). 2017. 24-25 [Consulta: 3 de Abril del 2019]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/14419/1/UPS-CT007088.pdf>.

ARCOS, J. Determinación de la actividad antifúngica de las saponinas de la quinua frente a los agentes causales del damping off (*Fusarium spp.*, *Rhizoctonia sp.*, *Pythium sp.*), 2016 (Tesis) (Tercer nivel). [En línea] Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Ciencias Químicas (Riobamba-Ecuador). 2017. 2-15 [Consulta: 13 de Abril del 2019]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/6676/1/236T0266.pdf>

ARIAS LUNA, P. A. Extracción de grasas por micro Soxhlet frente a la técnica convencional macro Soxhlet en productos alimenticios de mayor consumo en la ciudad de Quito (Tesis) (Tercer nivel). [En línea] Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Químicas (Quito-Ecuador). 2011. 27-31 [Consulta: 26 de Diciembre del 2018]. Disponible en: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/3290/T-PUCE-3309.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ARIAS ANGULO, A. J. Fomento a la producción de quinua y sus derivados para la diversificación de exportaciones no tradicionales en el período 2009-2015 (Tesis) (Tercer nivel). [En línea] Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Economía (Quito-Ecuador). 2017. 148-149 [Consulta: 31 de Mayo del 2019]. Disponible en:

[http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/13681/Disertación final Arias Andrea.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/13681/Disertación%20final%20Arias%20Andrea.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

ÁVALOS, A. & PÉREZ, E. “Metabolismo secundario de plantas”, *Revista Reduca (Biología)* [en línea], 2009, (Madrid) 2 (3), pp. 119–145. [Consultado: 20 de Febrero 2019]. Número ISSN: 1989-3620. Disponible en: <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/798>.

BACIGALUPO, A. & TAPIA, M. *Agroindustria de la quinua*. [en línea]. 2000. [Consulta: 5 de Marzo 2019]. Disponible en: http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP_FaoRlc/old/prior/segalim/prodalim/prodveg/cdro m/contenido/libro10/cap05.htm#top

BARNETT, H. L. & HUNTER, B. B. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 4^{ta} ed. 1998, pp. 148–149.

BHARGAVA, A., SHUKLA, S., & OHRI, D. “Karyotypic studies on some cultivated and wild species of *Chenopodium* (Chenopodiaceae)”, *Revista Genetic Resources and Crop Evolution*, 2006, (India) 53 (7), pp. 1309–1320. [Consulta: 16 de Marzo 2019]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/215713011_Karyotypic_Studies_on_Some_Cultivated_and_Wild_Species_of_Chenopodium_Chenopodiaceae

BOJANIC, A. “La Quinua: Cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial”. *Organización de las Naciones Unidas-FAO* [en línea], 2011, (Bolivia), pp. 66-67 Disponible en: <http://www.fao.org/3/aq287s/aq287s.pdf>

CALDAS, P. Optimización, escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción sólido líquido (Tesis) (Tercer nivel). [En línea] Universidad de Cuenca (Cuenca-Ecuador). 2012. 48-50 [Consulta: 31 de Mayo del 2019]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/2468>

CARRILLO, L. Los hongos de los alimentos y forrajes (Tesis) (Tercer nivel). [En línea] Universidad Nacional de Salta (Salta-Argentina). 2003. 99-118 [Consulta: 29 de Abril del 2019].

ISBN 987-9381-19-X. Disponible en:
https://www.academia.edu/6171319/L_eonor_Carrillo_LOS_HONGOS_DE_LOS_ALIMENTOS_Y_FORRAJES_1

CHEOK, C. Y., SALMAN, H. A., & SULAIMAN, R. “Extraction and quantification of saponins: A review”, *Revista Food Research International*, 2014, (Malasia), 59, pp. 16–40. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/260296732_Extraction_and_quantification_of_saponins_A_review.

CHEVARRIA, M, et al. "Altiplano Sur de Bolivia. Capítulo 5.1.b", *estado del arte de a quinua en el mundo en 2013-FAO*, 2013 (Santiago de Chile) pp. 432-446.

COELLO, I. R. A. *Evaluación del efecto de la saponina extraída de la quinua (Chenopodium quinoa) sobre el crecimiento in vitro de Cercospora fijiensis y Fusarium oxysporum en el cultivo de banano (Musa x paradisiaca)* (Tesis) (tercer nivel). [en línea] Universidad San Francisco de Quito (Quito-Ecuador). 2015. 51-71 [Consulta: 15 de Enero del 2019]. Disponible en: <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/5640/1/122873.pdf>

CUMES, M. S. Y. *Etiología, incidencia, severidad y distribución del tizon de crisantemo, en san juan sacatepéquez, guatemala* (Tesis) (tercer nivel). [en línea] Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía (Guatemala-México). 2008. 65-66 [Consulta: 10 de Marzo del 2019]. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_2395.pdf

CRUCES, L. M. “Quinua manejo integrado de plagas Estrategias en el cultivo de la quinua para fortalecer el sistema agroalimentario en la zona andina”. FAO [en línea]. 2016, (Lima-Perú), pp. 9-10 [Consulta: 20 de Enero 2019]. Número ISBN 978-92-5-309378-6. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i6038s.pdf>

DEL CASTILLO, C, et al. “Genetic structure of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) from the Bolivian altiplano as revealed by rapd markers”, *Revista Genetic Resources and Crop Evolution*, 2007, (Bolivia) 54 (4), pp. 897–905. ISSN: 0925-9864 [Consulta: 9 de Enero 2019]. 2007. Disponible en: <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/2895680>

DAFERERA, D. J., ZIOGAS, B. N. & POLISSIOU, M. G. “The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*”, *Crop Protection*, 22, 1 (2003), (Grecía) pp. 39–44.

DELPORTE V, C. “Guía de trabajos prácticos farmacognosia”. *Journal of Chemical Information and Modeling* [en línea], 2014, 53 (9), pp. 47-51. [Consulta: 23 abril 2019]. Disponible en: https://www.u-cursos.cl/usuario/c25b93f7ec03b9603ab499e3f1f7c8eb/mi_blog/r/GUIA_TRABAJOS_PRACTICOS_FARMACOGNOSIA_2014.pdf

DENIZ KÖSE, M. & BAYRAKTAR, O. “Extraction of Saponins from Soapnut (*Sapindus Mukorossi*) and Their Antimicrobial Properties”. *World Journal of Research and Review* [en línea], 2016, (Turquía) 2 (5), pp. 89–93. [Consulta: 23 abril 2019]. ISSN 2455-3956. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/304377875_Extraction_of_Saponins_from_Soapnut_Sapindus_Mukorossi_and_Their_Antimicrobial_Properties.

DÍAZ, M, et al. “Identificación de especies de *Pythium* aisladas de plantas ornamentales”. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* [en línea], 2011, (México) (3), pp. 431–443. [Consulta: 18 febrero 2019]. Número ISSN 0325-7541. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v2n3spe3/vspen3a3.pdf>

DÍAZ, L. “Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos. Una revisión”. *Revista de Estudios Transdisciplinarios* [en línea], 2009, (Venezuela) 1 (2), pp. 32–55. [Consulta: 3 mayo 2019]. ISSN 1856-9161. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179214945004>

ENRIQUEZ, C. “La quinua perdió protagonismo por baja en el mercado mundial”. *revista lideres*. [en línea], 2018, (Ecuador) Disponible en: <https://www.revistalideres.ec/lideres/quinua-menorprotagonismo-mercado-ecuador-produccion.html>

FAO. Año Internacional de la Quinua 2013 Orígenes e historia [en línea]. Santiago de Chile: Mujica, A.; Jacobsen, S.E.; Izquierdo, J.; y Marathee, J. P., 2013. [Consulta: 18 de Abril 2019]

Disponible en: http://www.fao.org/quinoa-2013/what-is-quinoa/origin-and-history/es/?no_mobile=1.

FAO. “Recetario Internacional de la Quinoa : Tradición y vanguardia”, [en línea], 2014, (Bolivia), pp. 20-26. [Consulta: 5 de Enero 2019]. Número ISBN 978-92-5-308057-1.

FAO. “La quinua cruza la frontera del espacio exterior”, [en línea], 2015, [Consulta: 9 de Enero 2019]. Disponible en: <http://www.fao.org/zhc/detail-events/es/c/283431/>

FHIA. “Deterioro Poscosecha de las frutas y hortalizas frescas por hongos y bacteria”. *fundación hondureña de investigación agrícola* [en línea], 2007, (Honduras) (4), pp. 6-8. [Consulta: 5 de Junio del 2019]. Disponible en: http://www.fhia.org.hn/downloads/fhia_informa/fhiainfdic2007.pdf

FLORES, F, et al. Identificación de agentes causales de enfermedades en frutales andinos (Tesis) (maestría). Universidad San Francisco de Quito. (Quito-Ecuador). 2017. pp 3-4. Número ISSN 2528-7753

FLORES, W., CHICO, J. & CERNA, L. “Actividad antagónica in vitro de *Clonostachys rosea* sobre *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani* y *Botrytis cinerea*”. *revista rebiol* [en línea], 2015, (Perú) 35 (1), pp. 34-42. [Consulta: 8 de Febrero del 2019]. Número ISSN 2313-3171. Disponible en: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/facccbiol/article/view/873>

FORERO, R, et al. “Análisis de la resistencia a *Fusarium oxysporum* en plantas de *Passiflora maliformis* L . Analysis of resistance to *Fusarium oxysporum* in *Passiflora maliformis* L . plants”. *Revista colombiana de ciencias hortícolas* [en línea], 2015, (país) 9 (2), pp. 197-208. [Consulta: 13 de Febrero del 2019]. Número ISSN 2011-2173. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2011-21732015000200002

FOURIE, A, et al. “Current status of the taxonomic position of *Fusarium oxysporum* formae specialis cubense within the *Fusarium oxysporum* complex”. *Revista Elsevier*, vol 11, n° 3 (2011), (South Africa) pp. 533-542.

FRANCIS, G, et al. “The biological action of saponins in animal systems: a review”, *British Journal of Nutrition*. *British Journal of Nutrition*, vol 88, n° 06 (2002), (Austria) pp. 587-605.

LUQUE-GARCÍA, L & LUQUE DE CASTRO, M. “Ultrasound-assisted Soxhlet extraction: An expeditive approach for solid sample treatment - Application to the extraction of total fat from oleaginous seeds”. *Journal of Chromatography*, vol 1034, (1-2) (2004), (España) pp. 237-242.

GALLOZZI, R. & DUARTE, O. "Cultivos de diversificación para pequeños productores de frijol y maíz en américa central". *Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura*, (2007), (Nicaragua) pp. 21-23.

GARCÍA, M, et al. “Descripción de las saponinas en quinua (*Chenopodium quinoa* willd) en relación con el suelo y el clima: Una revisión”. *Informador Técnico* [en línea], 2018, Colombia, 82 (2), pp. 241–249. ISSN 2256-5035. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/327947838_Descripcion_de_las_saponinas_en_quinoa_a_Chenopodium_quinoa_Willd_en_relacion_con_el_suelo_y_el_clima_Una_revision

GARCÍA, V. *Introducción a la microbiología*. segunda. Costa Rica: EUNED, 2004, pp. 103-107.

GIANNA, Vicente. Extracción, cuantificación y purificación de saponinas de semillas de *chenopodium quinoa* willd provenientes del noroeste Argentino (Tesis) (doctoral). [En línea] Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Lugar (Córdoba- Argentina). 2013. Disponible en: <https://rdu.unc.edu.ar/handle/11086/1413>

GIMENO, A. “*Principales factores condicionantes para el desarrollo de los hongos y la producción de micotoxinas (2-5)*” [en línea]. *engormix*. 2002 Disponible en: <https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/principales-factores-condicionantes-desarrollo-t26065.htm>.

GÓMEZ, A, et al. “Simultaneous determination of phenolic compounds and saponins in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) by a liquid chromatography-diode array detection-electrospray

ionization-time-of-flight mass spectrometry methodology". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, (España) 59 (20), pp. 10815–10825.

GÓMEZ, ANA, et al. "Influence of pearling process on phenolic and saponin content in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd)". *Food Chemistry*, 2014, (Spain) 157, pp. 174–178. Número ISSN 03088146.

GONZÁLEZ, J, et al "Effect of saponins of *Quillaja saponaria* extracts in combination with *Pseudomonas protegens* to control *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in wheat". *Chilean journal of agricultural research*, 2018, (Chile) 78(3), pp. 378–390. Número ISBN 1800030037.

GRIJALBA, P. E. & RIDAO, A. "Control químico de *Pythium* spp. en plántulas de soja". *Revista de investigaciones agropecuarias*, [en línea], 2017, (Argentina) 43 (1), pp 67-71. [Consulta: 11 de Abril del 2019]. Número ISSN 0325-8718. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/317602985_Control_quimico_de_Pythium_spp_en_plantulas_de_soja

GUZMÁN, B, et al. "Saponins from *Chenopodium quinoa* willd and *Chenopodium Pallidicaule* Aellen As Biocontrollers of Phytopathogen Fungi and Hemolysis Agents". *Revista Boliviana de Química* [en línea], 1015, (Bolivia) 32 (1), pp. página 8-14. [Consulta: 9 de]. Número ISSN. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602015000100002.

HOLT, J. & IUDICA, C. *Diversity Of Life* [en línea]. 2016, taxa de la vida. [Consulta: 21 de febrero del 2019]. Disponible en: <https://comenius.susqu.edu/biol/202/taxa.htm>

IT IS. *Catalogue of life: 2014 Annual Checklist*. [en línea]. 2014, detalle de la especie *Rizoctonia candida*. [Consulta: 13 de marzo del 2019]. Disponible en: <http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2014/details/species/id/14066280>.

JIAO, X, et al. " Effects of *fusarium solani* and *F. oxysporum* infection on the metabolism of ginsenosides in American ginseng roots ". *Molecules*, 20, 6 (2015), (Estados Unidos de America) pp. 10535-10552.

JUÁREZ, G., SOSA, M. & LÓPEZ, A. "Hongos fitopatógenos de alta importancia económica: descripción y métodos de control". *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 4, 2 (2010), (México) pp. 14-23.

KALAZICH, J. et al. "Quínoa : Un súper alimento", *Revista Tierra Adentro*, 108 (2015), (Chile) pp. 1–84.

KENSIL, C. R., XIAOYAN MO, A. & TRUNEH, A.. "Current vaccine adjuvants: an overview of a diverse class". *Frontiers in Bioscience*, 9, 1-3 (2004), (Estados Unidos) pp. 2972-2973.

KOZIOL, M. J. 'Afrosimetric estimation of threshold saponin concentration for bitterness in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd)', *Journal of the Science of Food and Agriculture*, (1991), 54 (2), pp. 211–219. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740540206>

LEIVA, L. 'Manejo fitosanitario del cultivo del mora (*Rubus glaucus* Benth) Medidas para la temporada invernal', *Instituto Colombiano Agropecuario (ICA)*, (2011), p. 32-33.

LÓPEZ, A, et al. "Evaluación de extractos vegetales para manejo de hongos patógenos en banano y fresa almacenados", *Acta Agronómica*, (2006), 55 (4), pp. 39–44. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169920333006>

LÓPEZ, T. "Saponósidos", *Ámbito Farmacéutico*, (2001), 20 (6), pp. 124–128. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-saponosidos-13015492>.

LOZANO, M. et al. "Cuantificación De Saponinas En Residuos De Quinoa Real *Chenopodium Quinoa willd*", *Revista boliviana de química*, (2012), 29 (2), pp. 128–135.

MARIDUEÑA, G., JIMÉNEZ, M. & PERALTA, E. "Actualización de la Micobiota Patogénica del Cacao “ arriba ” (*Theobroma cacao*) presente en la Costa Ecuatoriana", *Revista Tecnológica ESPOL - RTE*, (2010), 23(1), pp. 21–26.

MARTÍNEZ, S., BAO, L. & ESCALANTE, F. "Manual de identificación de enfermedades y plagas en el cultivo de arroz", *Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria-INIA* (2018), (116), p. 66. Número ISSN: 1510-7396. Disponible en: <http://www.aca.com.uy/Manualdeidentificaciondeenfermedadesyplagasenelcultivodearroz.pdf>.

MÉNDEZ, A. Identificación, aislamiento, caracterización y evaluación de la capacidad de infección en tubérculos de *Rhizoctonia solani* de suelos paperos de la provincia de Carchi (Tesis) (tercer nivel). [en línea] Universidad de las Fuerzas Armadas. (Sangolquí-Ecuador). 2015. 13-17 [Consulta: 6 de Enero del 2019]. Disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/handle/21000/11384>

MÉNDEZ, A. Obtención de saponinas de los frutos de la *Solanum marginatum* y análisis de sus propiedades como surfactante (Tesis) (tercer nivel). [en línea] Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ingeniería Química. (Quito-Ecuador). 2016. 21-25 [Consulta: 9 de Diciembre del 2019]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6859/1/T-UCE-0017-0016-2016.pdf>

MEYHUAY, M. "Quinoa Operaciones de Poscosecha". *Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación-FAO* [en línea], 2013, (INDDA), pp. página inicial-página final. [Consulta: 24 de Enero del 2019]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-ar364s.pdf>.

MINA, D. Evaluación agronómica de líneas f5 de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.), en dos localidades de la serranía. Ecuador. (Tesis) (Tercer nivel). [en línea] Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas (Quito-Ecuador). 2014. 4-20 [Consulta: 16 de Enero del 2019]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2560/1/T-UCE-0004-78.pdf>

MONJE C, Y. A. & RAFFAILLAC, J. P. "Determinación de saponina total en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) método espectrofotométrico". *IV Congreso Nacional de la Asociación Boliviana de Protección Vegetal (ABPV) Barrientos*, (2006), (Bolivia) pp. 1-8.

MONTEROS GUERRERO, A. "Rendimientos de quinua en el Ecuador 2016". *Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca* [en línea], 2016, (Ecuador), pp. 1-9. [Consulta: 2

de Marzo del 2019]. Disponible en:
http://sinagap.agricultura.gob.ec/pdf/estudios_agroeconomicos/rendimiento_quinoa.pdf.

NCUBE, B, et al. "A comparative study of the antimicrobial and phytochemical properties between outdoor grown and micropropagated *Tulbaghia violacea* Harv. plants", *Journal of Ethnopharmacology*. Elsevier Ireland Ltd, (2011), 134 (3), pp. 775–780.

NÚÑEZ, C. E. *Extracciones con equipo Soxhlet*. [en línea]. [Consulta: 12 de Diciembre del 2019]. Disponible en: <http://cenunez.com.ar/archivos/39-ExtraccinconequipoSoxhlet.pdf>

PASTOR, L. *Byrsonima crassifolia (L.) Kunth (Malpighiaceae): Actividad antimicrobiana y estudio de los metabolitos secundarios* (Tesis) (Tercer nivel). Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (Chiapas-México). 2014. Página 1-103

PEREIRA, C. A. P., GONZÁLEZ, R. A. O. & HERNÁNDEZ, A. I. M. "Semillas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willdenow): composición química y procesamiento. Aspectos relacionados con otras áreas" *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, (2014), 5 (2), pp 166-218 (2014) Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/274435593_Semillas_de_quinoa_Chenopodium_quinoa_Willdenow_composicion_quimica_y_procesamiento_Aspectos_relacionados_con_otras_areas

PROECUADOR. " *QUINUA 2015*". *Instituto de promoción de exportaciones e inversiones*, (2015), (Ecuador) pp. 5-8.

DEL PUERTO, A., SUÁREZ, S. & PALACIO, D. "Effects of pesticides on health and the environment", *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. Cuba, (2014), 52 (3), pp. 372–387. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/hie/v52n3/hig10314.pdf>.

PULVENTO, C, et al. "Yield and Quality Characteristics of Quinoa Grown in Open Field Under Different Saline and Non-Saline Irrigation Regimes", *Journal of Agronomy and Crop Science*,

Italia, (2012), 198 (4), pp. 254–263. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2012.00509.x>

RAMOS, S. Determinación de parámetros de secado por aspersion de extracto acuoso de saponinas y adaptación de un método de cuantificación en quinua por espectrofotometría uv-visible (Tesis) (tercer nivel). [en línea] Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Ciencias Puras y Naturales. (La Paz-Bolivia). 2016. 1-15 [Consulta: 11 de Enero del 2019]. Disponible en: <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/19036/M-298.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

RETANA, K, et al. "Caracterización morfológica y molecular de *Fusarium oxysporum* F. SP. *Apii* asociado a la marchitez del apio en Costa Rica" *Agronomía Costarricense*, Costa Rica (2018), 42 (1), pp. 115–126. Número ISSN: 0377-9424

RIVAS, L. M. "Alternaria spp.", *Rev Chilena Infectol.* (2014), Chile, 31 (5), pp. 605–606.

RODRÍGUEZ, A. M. I. Caracterización de aislamientos del hongo *Alternaria alternata*, causante de la mancha marrón de los cítricos en Uruguay (Tesis) (tercer nivel). [en línea] Universidad de la Republica Uruguay (Montevideo-Uruguay). 2015. 7-27 [Consulta: 16 de Diciembre del 2018]. Disponible en: <http://www.ainfo.inia.uy/consulta/busca?b=ad&id=53563&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22Russi,%20P.%22&qFacets=autoria:%22Russi,%20P.%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1>

RODRÍGUEZ, R. L. D, et al. "Actividad antimicrobiana de cáscaras y semillas de *Citrus limonia* y *Citrus sinensis*", *Actualidades Biológicas*, (2017), 39 (106), pp. 53–59.

ROJAS, W. "Ex-Situ Conservation of Quinoa: The Bolivian Experience". *PROINPA Foundation* (2013) pp. 1-6.

ROJAS, W. & PINTO, M. *Clasificación Taxonomica De Los Insectos: Clasificación Taxonomica De Los Insectos* [en línea]. 2018. [Consulta: 19 de Enero del 2019]. Disponible en:

<http://clasificacioninsecto.blogspot.com.co/2013/05/mosca-subreino-eumetazoa-rama-bilateria.html>.

ROMAN, A., MONA. C., & RODRÍGUEZ, E. " Fitopatógenos asociados a enfermedades foliares de maíz en la provincia de Bolívar". *fitopatógenos asociados a enfermedades foliares de maíz en la provincia de bolívar*, (2017), (Ecuador) pp. 544-553.

DE SANTIS, G, et al. "Characterisation of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.) accessions for the saponin content in Mediterranean environment". *Italian Journal of Agronomy* [en línea], 2016, (Italia) 11 (4), pp. 227-280. [Consulta: 29 de Marzo del 2019]. Disponible en: 10.4081/ija.2016.774.

SCHROERS, H. J, et al. "Taxonomy and phylogeny of the *Fusarium dimerum* species group". *The Mycological Society of America* [en línea], 2009, (Estados Unidos) 101 (1), pp. 44-70. [Consulta: 22 de Abril del 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.3852/08-002>

SEPÚLVEDA, R. P. "Identificación de *Botrytis cinerea* Pers., causando "atizonamiento" en chicharo (*Lathyrus sativus* L.)". *Revista Chilena de Investigaciones Agropecuarias* [en línea], 1988, (Chile) 48 (4), pp. 345-346. [Consulta: 28 de Abril del 2019]. Disponible en: <http://biblioteca.inia.cl/medios/biblioteca/agritec/NR06690.pdf>.

SÍLVA, R. M. "Memoria del seminario internacional "quinua: un aliado para la erradicación del hambre". *ALADI*, 2013, (Uruguay) pp. 35-42.

SIMO, L. M, et al. "New Cytotoxic Triterpenoid Saponins from the Roots of *Albizia gummifera* C.A. Smith". *International Journal of Laboratory Hematology*, [en línea], 2017, (Francia) 38 (1), pp. 42-49. [Consulta: 25 de Febrero de 2019]. Disponible en: 0.1002/cbdv.201700260

SOLÍZ, G. J. B, et al. " Quinoa Saponins: Concentration and Composition Analysis ". *Trends in new crops and new uses*, (2002), (país) pp. 110-114.

SUBIETA, C. S, et al. “Recuperación de residuos sólidos con alta concentración de saponinas del proceso de beneficiado en seco de granos de quinua amarga, mediante la aplicación de un lecho fluidizado de tipo surtidor (lfts)”. *Investigación y Desarrollo* [en línea], 2011, (Bolivia) volumen (número), pp. 20-36. [6 de Enero del 2019]. Número ISSN 1814-6333.

SZAKIEL, A., PĄCZKOWSKI, C. & HENRY, M.. “Influence of environmental biotic factors on the content of saponins in plants’, *Phytochemistry Review*”. *Phytochemistry Reviews* [en línea], 2011, (México), pp. 493-500. [Consulta: 9 de Enero del 2019]. Disponible en: [10.1007/s11101-010-9177-x](http://dx.doi.org/10.1007/s11101-010-9177-x)

TENORIO, R, et al. “Concentrados de saponina de chenopodium quinoa y de caiphora andina: alternativas como biocontroladores de hongos fitopatógenos”. *Revista Boliviana de Química* [en línea], 2010, (Bolivia) 27 (1), pp. 33-49. [Consulta: 3 de Mayo del 2019]. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S0250-54602010000100006&script=sci_arttext.

USIÑA, E. K. M. Análisis de las propiedades surfactantes de saponinas obtenidas de los frutos de *Sapindus saponaria* L (Tesis) (Tercer nivel). Universidad Central Del Ecuador, Facultad De Ciencias Químicas, Carrera De Química Farmacéutica. (Quito-Ecuador). 2017. 1-79 [9 de Marzo del 2019]. Disponible en: http://www.ces.gob.ec/images/Estatutos_Universidades/Resoluciones2016/Estatutos2016/ESTATUTO_UCE.pdf.

VALEIRO, A., TOMALINO, L. & EZCURDIA, E. E. “Quinoa”. *Ciencia Y Tecnologia De Los Cultivos Industriales* [en línea] , 2013 (Argentina) (5), pp. 97-98. [Consulta: 16 de Mayo del 2019] Disponible en: <http://inta.gob.ar/cultivos-industriales>.

VARGAS, D. A. A. Alternativas naturales para el control de *Alternaria chrysanthemi* Simmons y Crosier. (Tesis) (maestría). Centro de investigación científica de Yucatán, A.C. (Yucatán - México). 2009. pp. 42-43.

VERA, E. *Identificación Morfológica Y Molecular De Especies De Fusarium En Plantas De Nochebuena* (Tesis) (Tercer nivel). Instituto tecnológico de tehuacán. Lugar (tehuacán -México). 2013. 12-25 [Consulta:23 de Enero del 2019].

VERDEZOTO, V. Degradación de aceites y grasas mediante el uso de *Aspergillus spp* , *Penicillium spp* Y *Fusarium spp* , en aguas residuales de queseras artesanales de Quimiag. (Tesis) (Tercer nivel) [En línea]. Escuela Superior Politécnica De Chimborazo, Facultad de ciencias, Escuela de Ciencias Químicas. (Riobamba-Ecuador). 2017. 60-61. [Consulta: 19 de Marzo del 2019]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1653/1/236T0055.pdf>.

WANG, J, et al. “Ginsenosides and ginsenosidases in the pathobiology of ginseng-*Cylindrocarpum destructans* (Zinss) Scholten’, *Plant Physiology and Biochemistry*”. *Plant Physiology and Biochemistry*, 123 (2018), (China) pp. 406–412.

WANG, L. & WELLER, C. L. “Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants’, *Trends in Food Science and Technology*”. *Trends in Food Science and Technology*, 17, 6 (2006), (Estados Unidos) pp.300-310

WINA, E., MUETZEL, S. & BECKER, K. “The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant production - A review”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 21 (2005), (Indonesia) pp.1-9

YÁBAR, V. E. F. & REYES, D. V. J. “Eficacia de un desinfectante biodegradable a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) en el control de crecimiento de *Escherichia coli*”. *Prospectiva Universitaria* [en línea], 2017, (Perú), pp.1-6. Número ISSN 1990 - 7044.

ZHANG, D, et al. “Efficacy of the antagonist *Aureobasidium pullulans* PL5 against postharvest pathogens of peach, apple and plum and its modes of action”. *Revista Biological Control*. 53, 3 (2010), (Italia) pp.172-180

ZHU, N, et al. “Triterpene saponins from debittered quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4 (2002), (New Jersey) pp.865-867

ANEXOS

Anexo A. Crecimiento *in vitro* de los hongos patógenos en el extracto acuoso de las saponinas de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*).

Tratamiento <i>Fusarium</i> sp.									
	24h (D1)	48h (D2)	72 (D3)	96 (D4)	120 (D5)	144h (D6)	168h (D7)	192h (D8)	216h (D9)
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TP1R1	5,75	11,5	17	25	27,25	29,5	32	35,25	39,5
TP1R2	6,25	11,25	16,25	21,25	25	27	30	34,75	36,75
TP1R3	6,75	10,75	17	23	29,25	31	32,5	38,25	39,25
Promedio	6,25	11,17	16,75	23,08	27,17	29,17	31,50	36,08	38,50
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TP2R1	7	13	18,75	24,25	29	30,75	35	38	41
TP2R2	5,75	11	15,75	21	22,75	25,75	29,5	34,5	35,75
TP2R3	6	10,75	16,75	22,5	25,25	27	28,25	28,75	29
Promedio	6,25	11,58	17,08	22,58	25,67	27,83	30,92	33,75	35,25
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TP3R1	6,5	11	17	22,25	24	26,25	29,5	32,5	36
TP3R2	5,5	11,25	16,5	21,25	25,75	28,25	30	35	37,5
TP3R3	6,5	11,25	16	16,75	18,5	19	19,5	21	21,5
Promedio	6,17	11,17	16,50	20,08	22,75	24,50	26,33	29,50	31,67
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TP4R1	5,25	10	17	20	23	27	30,25	34,25	37,5
TP4R2	5,5	11,5	16,5	18,75	21	24,25	27,5	31,75	32,5
TP4R3	5,75	10,75	16,75	21	26,5	27,75	29,25	32,5	33,75
Promedio	5,50	10,75	16,75	19,92	23,50	26,33	29,00	32,83	34,58
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TP5R1	5,5	10	16,5	19	22,25	25	27,5	31,25	33,25
TP5R2	5,5	10,75	16	20,5	24	26,25	29	32,5	35
TP5R3	6,25	9,75	16	16,75	18,25	19,25	20	20,5	21,5
Promedio	5,75	10,17	16,17	18,75	21,50	23,50	25,50	28,08	29,92
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TPR1	4,5	9,75	16,75	21,5	26,25	30	31,5	34,75	37,25
TPR2	5	10	17,25	21	25,5	29,75	35	38,5	41,75
TPR3	5,5	12,5	16	16,75	18,25	18,75	19,75	22,5	23
Promedio	5,00	10,75	16,67	19,75	23,33	26,17	28,75	31,92	34,00
TP1	6,25	11,17	16,75	23,08	27,17	29,17	31,50	36,08	38,50
TP2	6,25	11,58	17,08	22,58	25,67	27,83	30,92	33,75	35,25
TP3	6,17	11,17	16,50	20,08	22,75	24,50	26,33	29,50	31,67
TP4	5,50	10,75	16,75	19,92	23,50	26,33	29,00	32,83	34,58
TP5	5,75	10,17	16,17	18,75	21,50	23,50	25,50	28,08	29,92
TP	5,00	10,75	16,67	19,75	23,33	26,17	28,75	31,92	34,00

Tratamiento <i>Fusarium</i> sp.									
	24h (D1)	48h (D2)	72 (D3)	96 (D4)	120 (D5)	144h (D6)	168h (D7)	192h (D8)	216h (D9)
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TF1R1	9,5	11,25	13,75	16	18,75	20	21,25	24,75	26
TF1R2	12,25	12,5	18,25	22	25	27,25	29,25	32,75	33,5
TF1R3	6,25	12,5	18,75	22,75	25,5	27,5	32,25	33,25	34,5
Promedio	9,33	12,08	16,92	20,25	23,08	24,92	27,58	30,25	31,33
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TF2R1	12,5	12,25	18	22,75	25,75	29	32	34,5	36,25
TF2R2	13,25	12,5	18	21,25	24,25	26,75	29,5	30,25	33
TF2R3	6	11,5	17,75	21	24	27	30,25	32,25	33,75
Promedio	10,58	12,08	17,92	21,67	24,67	27,58	30,58	32,33	34,33
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TF3R1	14,75	14,75	20,75	26,5	30,5	30,75	33,5	35,25	39,5
TF3R2	12,25	12,5	19	22	25,75	27	29,75	32,5	34,75
TF3R3	7,25	11,75	17	20	22,25	24,75	27	30	31
Promedio	11,42	13,00	18,92	22,83	26,17	27,50	30,08	32,58	35,08
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TF4R1	13	13,25	19,5	23	26	27,5	31,5	34,5	36
TF4R2	13,5	13	19,5	25,25	30,25	31,75	38	41	43,5
TF4R3	6,25	13,25	19,75	25	28	30,75	35	37,25	39
Promedio	10,92	13,17	19,58	24,42	28,08	30,00	34,83	37,58	39,50
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TF5R1	13,25	12,75	19,75	25,75	31,25	35	38,5	42,5	44,25
TF5R2	14,25	13,75	19,75	25,75	28,75	31,25	33,75	37,25	37,75
TF5R3	7,75	10,75	17,5	21,25	23,75	25,25	28	28,75	29,5
Promedio	11,75	12,42	19,00	24,25	27,92	30,50	33,42	36,17	37,17
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TFR1	13,5	13,5	22,75	24,75	28,75	31,75	35,5	39,25	41
TFR2	13,25	13,25	19,25	26	30,5	34,25	39,5	43,75	44,75
TFR3	6,75	13,75	20,25	25,75	31,25	35	36	40,25	42
Promedio	11,17	13,50	20,75	25,50	30,17	33,67	37,00	41,08	42,58
TP1	9,33	12,08	16,92	20,25	23,08	24,92	27,58	30,25	31,33
TP2	10,58	12,08	17,92	21,67	24,67	27,58	30,58	32,33	34,33
TP3	11,42	13,00	18,92	22,83	26,17	27,50	30,08	32,58	35,08
TP4	10,92	13,17	19,58	24,42	28,08	30,00	34,83	37,58	39,50
TP5	11,75	12,42	19,00	24,25	27,92	30,50	33,42	36,17	37,17
TP	11,17	13,50	20,75	25,50	30,17	33,67	37,00	41,08	42,58

Testigo Botrytis sp.									
	24h (D1)	48h (D2)	72 (D3)	96 (D4)	120 (D5)	144h (D6)	168h (D7)	192h (D8)	216h (D9)
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TF1R1	3,5	6,75	8,5	9,5	10,25	11,5	12,5	14	16
TF1R2	3,5	6,75	8	9,75	10	11	12,75	14,5	15,5
TF1R3	3,5	6	7,5	8,25	8,5	8,5	8,75	8,75	9
Promedio	3,50	6,50	8,00	9,17	9,58	10,33	11,33	12,42	13,50
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TF2R1	3,5	5,5	7,25	7,75	7,75	7,75	8,25	8,25	9
TF2R2	3,5	7	8,75	11,25	12	13,75	16	17	18,25
TF2R3	3,5	6	7	7	7,5	7,75	8	8,25	8,5
Promedio	3,50	6,17	7,67	8,67	9,08	9,75	10,75	11,17	11,92
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TF3R1	3,5	6,75	9,25	9,5	10,25	12,5	13,5	15,5	17,5
TF3R2	3,5	5	7,5	9	9,5	9,5	13,5	14,5	14,75
TF3R3	3,5	6,75	8	7	7	7,25	7,25	7,25	7,5
Promedio	3,50	6,17	8,25	8,50	8,92	9,75	11,42	12,42	13,25
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TF4R1	3,5	5,5	8	8	8	8,25	8,5	8,5	8,75
TF4R2	3,5	5,75	8	9,25	9,25	9,5	9,75	10,25	10,5
TF4R3	3,5	6,5	7,75	9,5	9,5	9,5	9,75	10,25	10,25
Promedio	3,50	5,92	7,92	8,92	8,92	9,08	9,33	9,67	9,83
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TF5R1	3,5	6	6,75	8,5	10	10,25	12	13,25	15
TF5R2	3,5	7	8,25	9	9,5	10	14,5	16	16,75
TF5R3	3,5	5,5	6,5	8,75	9,25	10	10,5	10,5	11
Promedio	3,50	6,17	7,17	8,75	9,58	10,08	12,33	13,25	14,25
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TFR1	3,5	5	7,75	10	11	12	12,5	12,5	15,25
TFR2	3,5	4,75	7,5	11,75	12,25	14,5	14,5	14,5	14,75
TFR3	3,5	5	6,5	8,5	9,75	10	10,25	10,25	11,25
Promedio	3,50	4,92	7,25	10,08	11,00	12,17	12,42	12,42	13,75
TP1	3,50	6,50	8,00	9,17	9,58	10,33	11,33	12,42	13,50
TP2	3,50	6,17	7,67	8,67	9,08	9,75	10,75	11,17	11,92
TP3	3,50	6,17	8,25	8,50	8,92	9,75	11,42	12,42	13,25
TP4	3,50	5,92	7,92	8,92	8,92	9,08	9,33	9,67	9,83
TP5	3,50	6,17	7,17	8,75	9,58	10,08	12,33	13,25	14,25
TP	3,50	4,92	7,25	10,08	11,00	12,17	12,42	12,42	13,75

Testigo Rhizoctonia sp.									
	24h (D1)	48h (D2)	72 (D3)	96 (D4)	120 (D5)	144h (D6)	168h (D7)	192h (D8)	216h (D9)
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TF1R1	8,5	14,75	17,5	20,5	23,25	25,5	28,25	30,25	32,25
TF1R2	8	16,5	21,75	24	27	31	38	40,5	42
TF1R3	8,5	15,25	19	24,75	31,75	34,75	39	42	42
Promedio	8,33	15,50	19,42	23,08	27,33	30,42	35,08	37,58	38,75
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TF2R1	9	16,75	23	25,5	27	30	33	35	37
TF2R2	8,25	17	23,5	25,5	27	29,5	31,75	34,25	36,75
TF2R3	8,5	15,25	18,25	20	23,75	26	27,75	29	30,25
Promedio	8,58	16,33	21,58	23,67	25,92	28,50	30,83	32,75	34,67
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TF3R1	8,5	14,75	19,25	21,75	24,75	27	28,25	31,25	34,25
TF3R2	8,5	16,5	22,5	24,5	26	28,5	29,75	32,5	35,25
TF3R3	7,5	15,75	24,25	25,5	27	27,75	29	31,5	34
Promedio	8,17	15,67	22,00	23,92	25,92	27,75	29,00	31,75	34,50
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TF4R1	9,25	17,75	19,5	24,75	27	30	33,5	35,5	37,5
TF4R2	8,5	17,25	24,75	29,5	32	35,25	37	40	43
TF4R3	8	16	22,25	23,25	26	30,5	31,75	34	36,25
Promedio	8,58	17,00	22,17	25,83	28,33	31,92	34,08	36,50	38,92
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TF5R1	8,5	16,25	21,5	26,25	28,25	31,25	33,75	36	38,25
TF5R2	8	16,25	22,5	26	28,25	31	33	35,75	38,5
TF5R3	7,5	9	11,75	19,25	26,25	32,25	38	41,5	42
Promedio	8,00	13,83	18,58	23,83	27,58	31,50	34,92	37,75	39,58
	r	r	r	r	r	r	r	r	r
TFR1	7,25	13	18	26	29,25	32,75	32,75	33,75	34,75
TFR2	7,5	14	20,75	25,25	27,5	30	31,75	35	38,25
TFR3	6,5	11,75	16,5	22,25	24,5	26,75	27,5	31	34,5
Promedio	7,08	12,92	18,42	24,50	27,08	29,83	30,67	33,25	35,83
TP1	8,33	15,50	19,42	23,08	27,33	30,42	35,08	37,58	38,75
TP2	8,58	16,33	21,58	23,67	25,92	28,50	30,83	32,75	34,67
TP3	8,17	15,67	22,00	23,92	25,92	27,75	29,00	31,75	34,50
TP4	8,58	17,00	22,17	25,83	28,33	31,92	34,08	36,50	38,92
TP5	8,00	13,83	18,58	23,83	27,58	31,50	34,92	37,75	39,58
TP	7,08	12,92	18,42	24,50	27,08	29,83	30,67	33,25	35,83

Testigo Alternaria sp.						
	24h (D1)	48h (D2)	72 (D3)	96 (D4)	120 (D5)	144h (D6)
	r	r	r	r	r	r
TF1R1	3,5	3,5	3,5	3,5	4	4
TF1R2	3,5	3,5	3,5	3,75	4,5	4,5
TF1R3	3,5	3,5	4	4	4,25	4,5
Promedio	3,50	3,50	3,67	3,75	4,25	4,33
	r	r	r	r	r	r
TF2R1	3,5	4	4,5	5,5	6,25	7
TF2R2	3,5	3,5	3,75	4,25	4,5	4
TF2R3	3,5	3,5	3,5	3,5	4,5	4,75
Promedio	3,50	3,67	3,92	4,42	5,08	5,25
	r	r	r	r	r	r
TF3R1	3,5	4	4,75	5	5,75	6,5
TF3R2	3,5	3,5	4	4,5	5	5,25
TF3R3	3,5	4	4,75	4,25	6,25	6,75
Promedio	3,50	3,83	4,50	4,58	5,67	6,17
	r	r	r	r	r	r
TF4R1	4	5	5,75	6,5	7,25	8,25
TF4R2	4	4,25	5	5,75	6,75	7,25
TF4R3	5,75	5,75	7,75	8,5	10,25	11,5
Promedio	4,58	5,00	6,17	6,92	8,08	9,00
	r	r	r	r	r	r
TF5R1	5	7	9,75	11,25	13	14,25
TF5R2	5,25	7	9,5	10,75	13,25	14,25
TF5R3	5,5	7,5	8,75	10	11,5	13,25
Promedio	5,25	7,17	9,33	10,67	12,58	13,92
	r	r	r	r	r	r
TFR1	28,25	38,75	39,5	41	41	42
TFR2	29,25	39	39,75	41,5	41,5	42
TFR3	28,5	39	39,25	39,5	39,5	40
Promedio	28,67	38,92	39,50	40,67	40,67	41,33
TP1	3,50	3,50	3,67	3,75	4,25	4,33
TP2	3,50	3,67	3,92	4,42	5,08	5,25
TP3	3,50	3,83	4,50	4,58	5,67	6,17
TP4	4,58	5,00	6,17	6,92	8,08	9,00
TP5	5,25	7,17	9,33	10,67	12,58	13,92
TP	28,67	38,92	39,50	40,67	40,67	41,33

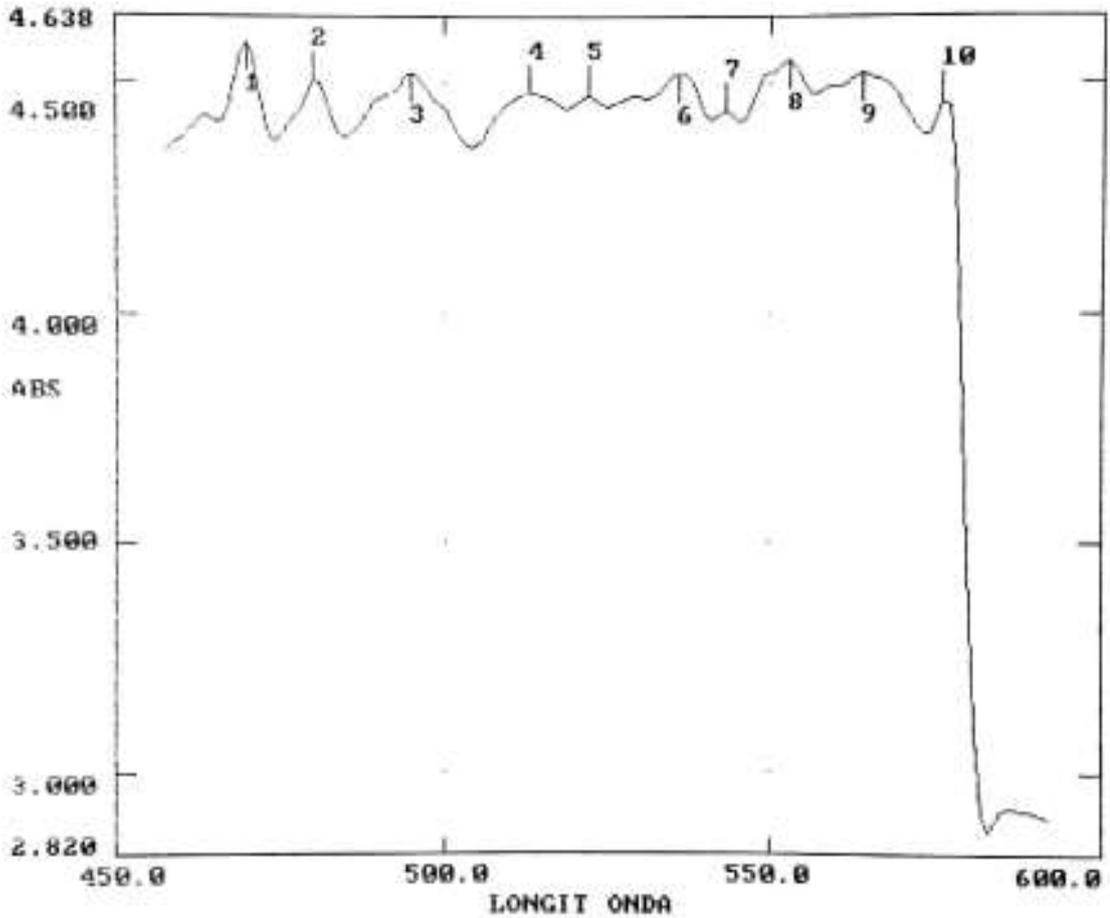
Anexo B. Absorbancia del extracto acuoso de saponina de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (100%) más el reactivo de Liebermann-Burchard.

HEXIOP ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE v4.60 PAGI. 1

FECHA: 29/01/19 SERIE No: 140113 ID :
HORA : 13:29:48 OPERARIO :

TIPO BARR: INTELIGEN VELOC: NORMAL INT DATO: 1.0nm
LIN BASE: DEFECTO ANCHOBANDA: 2.0nm CAMBIAR LAMP: 315nm
SUAVIZANDO: MEDIO

PICOS										
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
nm	470.0	480.0	495.0	513.0	522.0	536.0	543.0	553.0	564.0	576.0
ABS	4.587	4.502	4.522	4.477	4.474	4.523	4.436	4.547	4.520	4.458



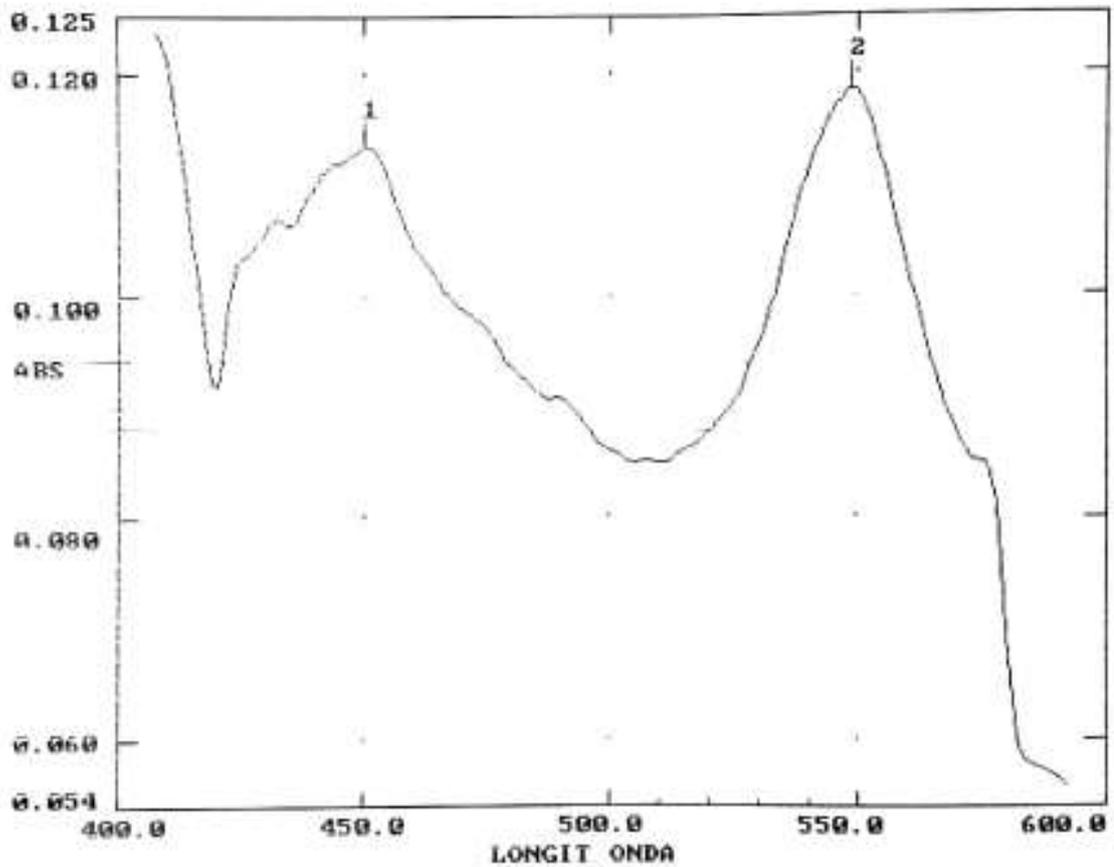
Anexo C. Absorbancia del extracto acuoso de saponina de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (87.5%) más el reactivo de Liebermann-Burchard.

GENIOSP ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE v4.60 PAGI. 1

FECHA:29/01/19 SERIE No:140113 ID :
HORA :12:30:20 OPERARIO :

TIPO BARR:INTELIGEN VELOC:NORMAL INT DATO:1.0nm
LIN BASE:DEFECTO ANCHOBANDA:2.0nm CAMBIAR LAMP:315nm
SUAVIZANDO: MEDIO

PICOS									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
nm	450.0	549.0							
abs	0.114	0.119							



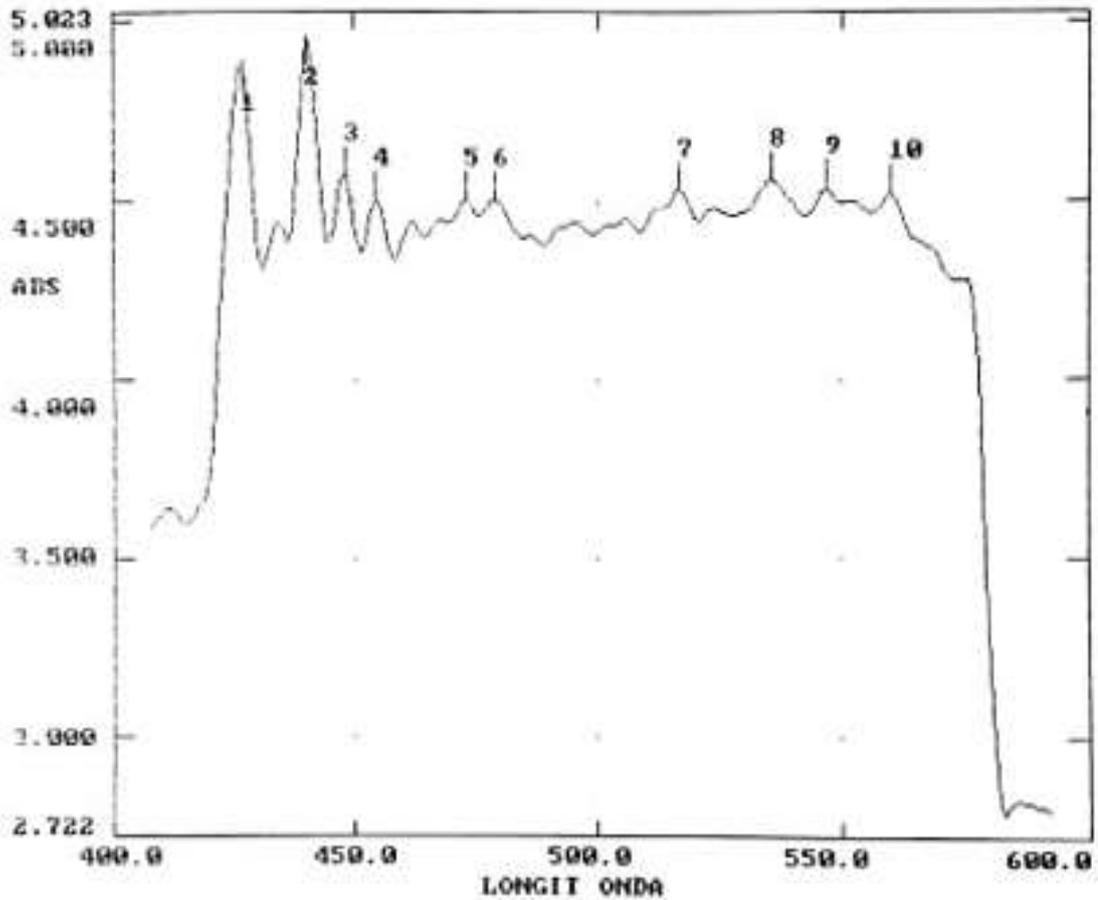
Anexo D. Absorbancia del extracto acuoso de saponina de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (75%) más el reactivo de Liebermann-Burchard.

HEMIOSF ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE v4.60 PAGI. 1

FECHA:29/01/19 SERIE No:140113 ID :
 HORA 11:20:22 OPERARIO :

TIPO BARR:INTELIGEN VELOC:NORMAL INT DATO:1.0nm
 LIN BASE:DEFECTO ANCHOBANDA:2.0nm CAMBIAR LAMP:315nm
 SUAVIZANDO: MEDIO

PICOS										
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
nm	427.0	440.0	448.0	454.0	473.0	479.0	517.0	536.0	547.0	560.0
abs	4.888	4.759	4.578	4.508	4.504	4.507	4.536	4.563	4.538	4.524



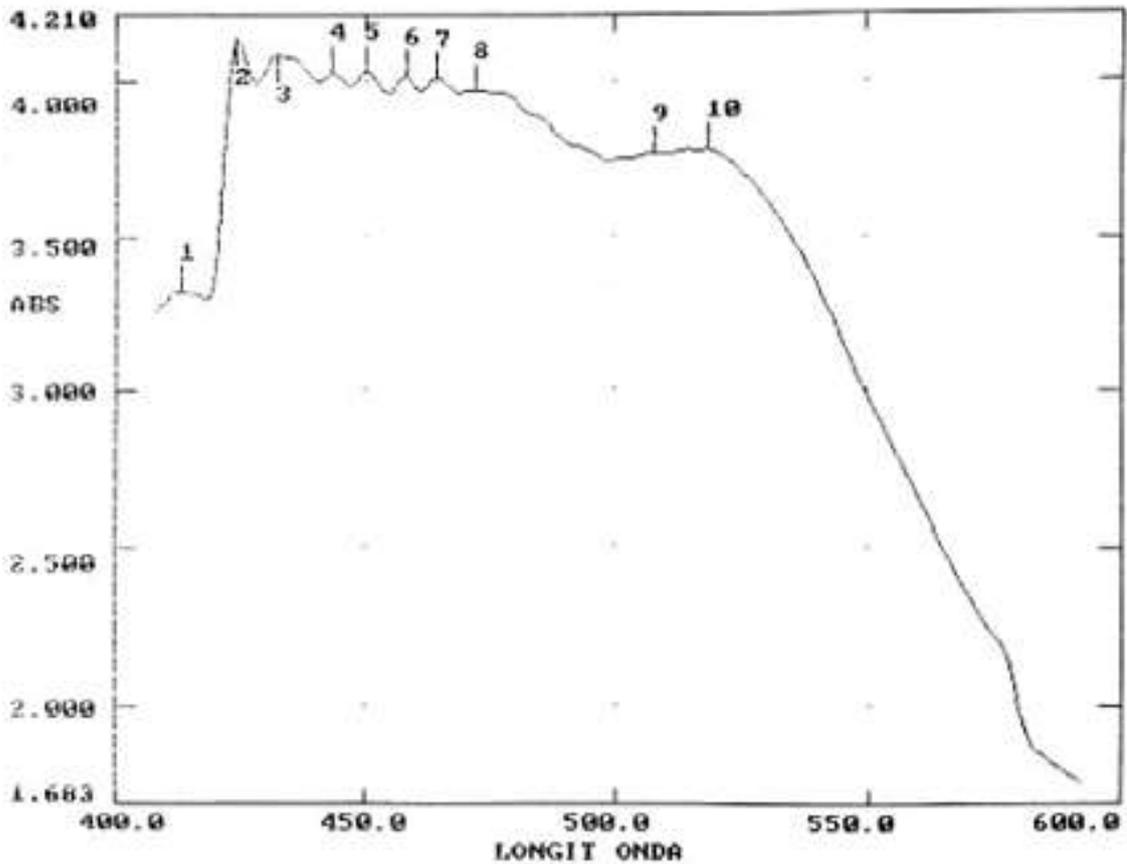
Anexo E. Absorbancia del extracto acuoso de saponina de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (50%) más el reactivo de Liebermann-Burchard.

HEXIOSP ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE v4.60 PAGI. 1

FECHA:29/01/19 SERIE No:140113 ID :
HORA :12:49:54 OPERARIO :

TIPO BARR:INTELIGEN VELOC:NORMAL INT DATO:1.0nm
LIN BASE:DEFECTO ANCHOBANDA:2.0nm CAMBIAR LAMP:315nm
SUAVIZANDO: MEDIO

		PICOS									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
λnm		413.0	424.0	432.0	443.0	450.0	458.0	464.0	472.0	508.0	519.0
ABS		3.326	4.139	4.085	4.028	4.031	4.014	4.000	3.972	3.767	3.777



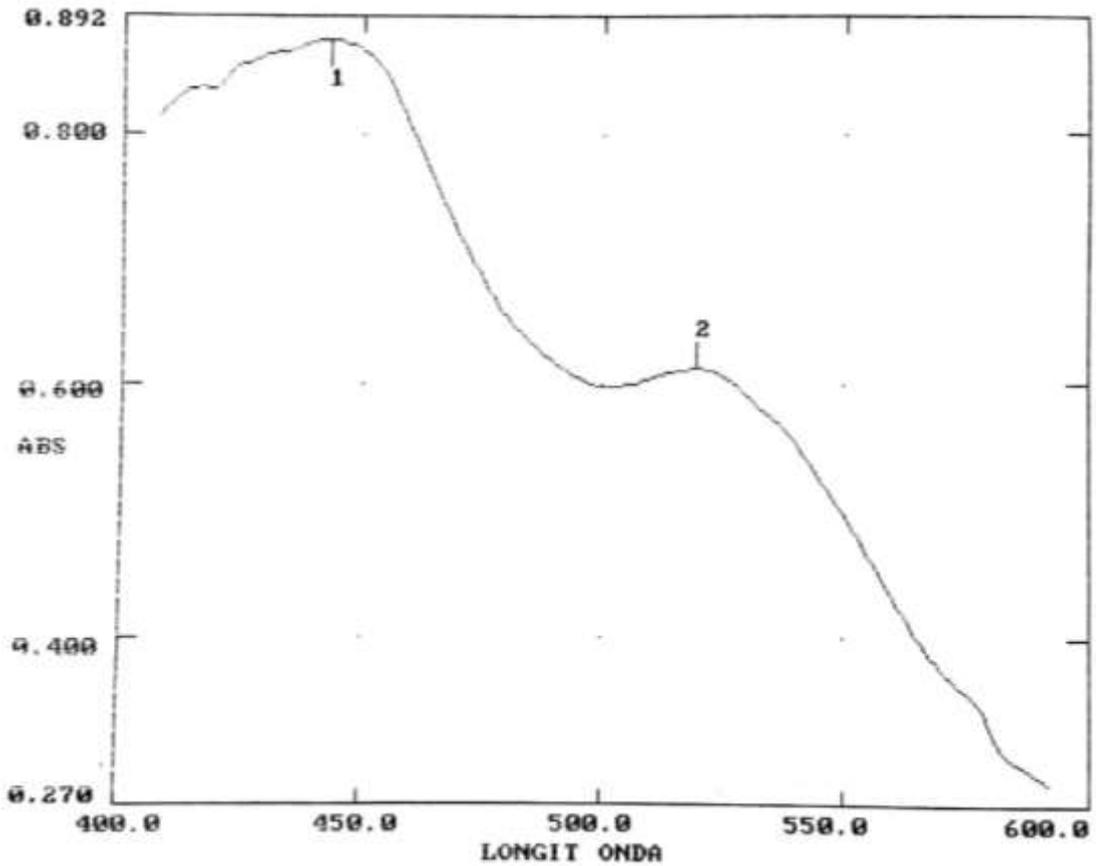
Anexo F. Absorbancia del extracto acuoso de saponina de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (37.5%) más el reactivo de Liebermann-Burchard.

HEMIOSF ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE v4.60 PAGI. 1

FECHA: 29/01/19 SERIE No: 140113 ID :
HORA : 13:14:12 OPERARIO :

TIPO BARR: INTELIGEN VELOC: NORMAL INT DATO: 1.0nm
LIN BASE: DEFECTO ANCHOBANDA: 2.0nm CAMBIAR LAMP: 315nm
SUAVIZANDO: MEDIO

PICOS									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ann 443.0	520.0								
ABS 0.875	0.613								



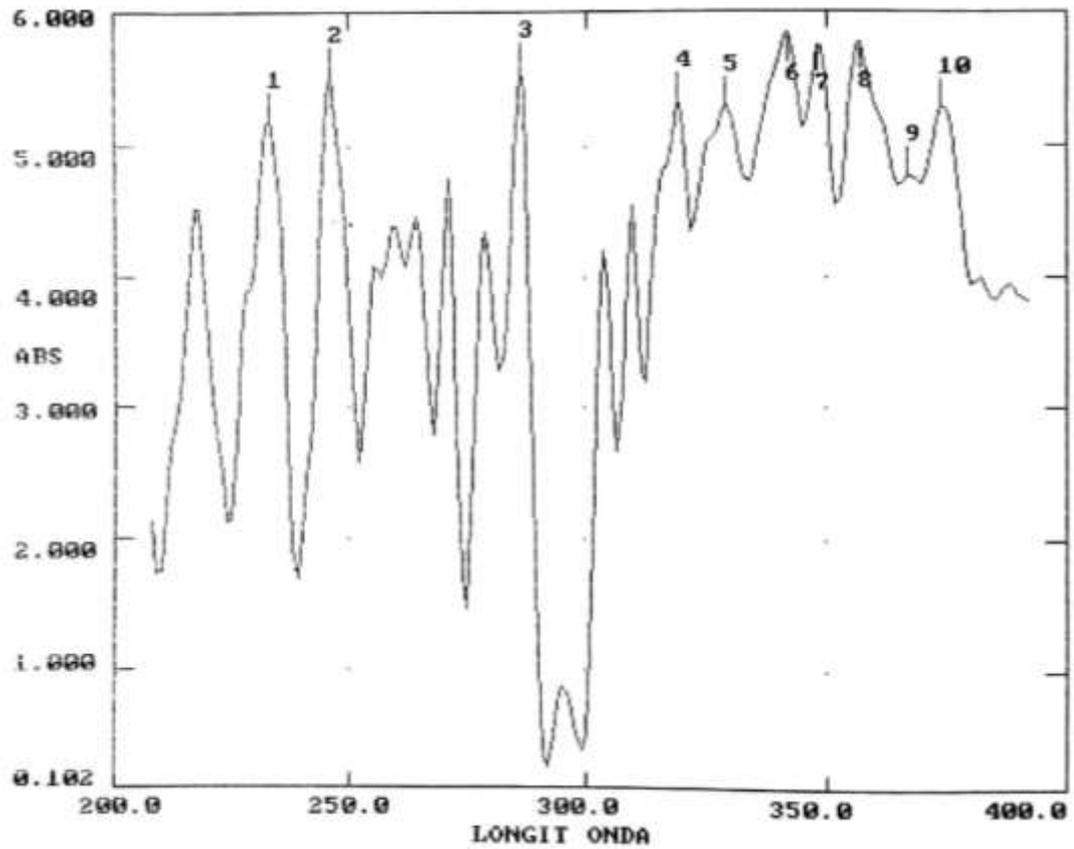
Anexo G. Absorbancia del extracto acuoso de saponina de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (blanco)

HENIOSP ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE v4.60 PAGI. 1

FECHA: 29/01/19 SERIE No: 140113 ID :
HORA : 13:38:46 OPERARIO :

TIPO BARR: INTELIGEN VELOC: NORMAL INT DATO: 1.0nm
LIN BASE: DEFECTO ANCHOBANDA: 2.0nm CAMBIAR LAMP: 315nm
SMOOTHIZANDO: MEDIO

PICOS										
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
λnm	233.0	246.0	286.0	319.0	329.0	342.0	348.0	357.0	367.0	374.0
ABS	5.215	5.555	5.584	5.346	5.312	5.841	5.766	5.787	4.774	5.299



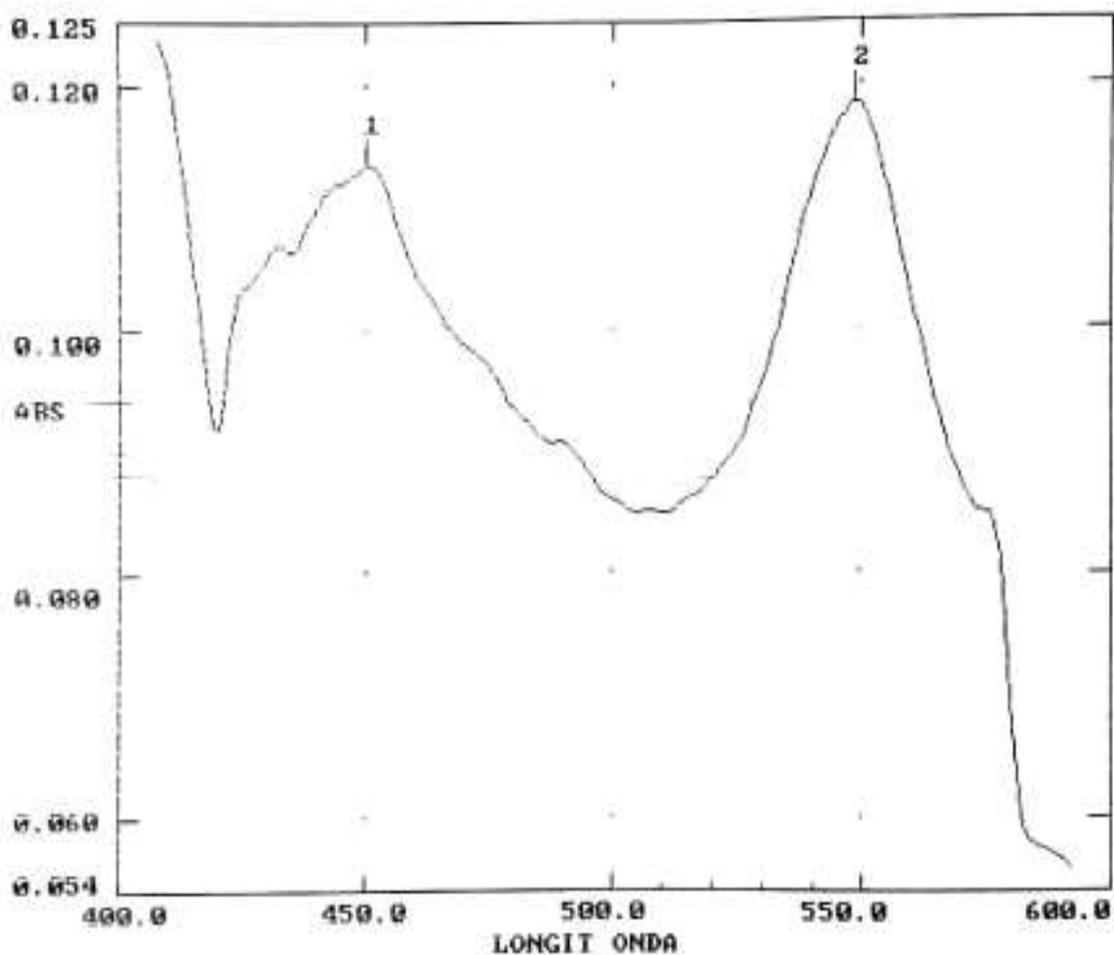
Anexo H. Absorbancia del reactivo de Liebermann-Burchard.

GENIOSP ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE v4.60 PAGI. 1

FECHA:29/01/19 SERIE No:140113 ID :
HORA :12:38:20 OPERARIO :

TIPO BARR:INTELIGEN VELOC:NORMAL INT DATO:1.0nm
LIN BASE:DEFECTO ANCHOBANDA:2.0nm CAMBIAR LAMP:315nm
SUBVIZANDO: MEDIO

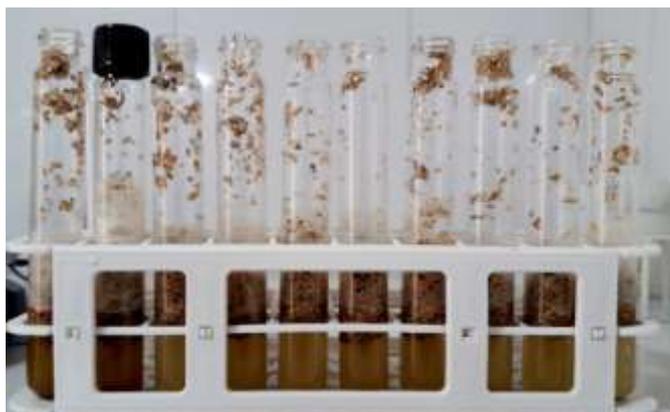
		PICOS									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
λnm		450.0	549.0								
ABS		0.114	0.119								



Anexo I. Evidencias Fotográficas



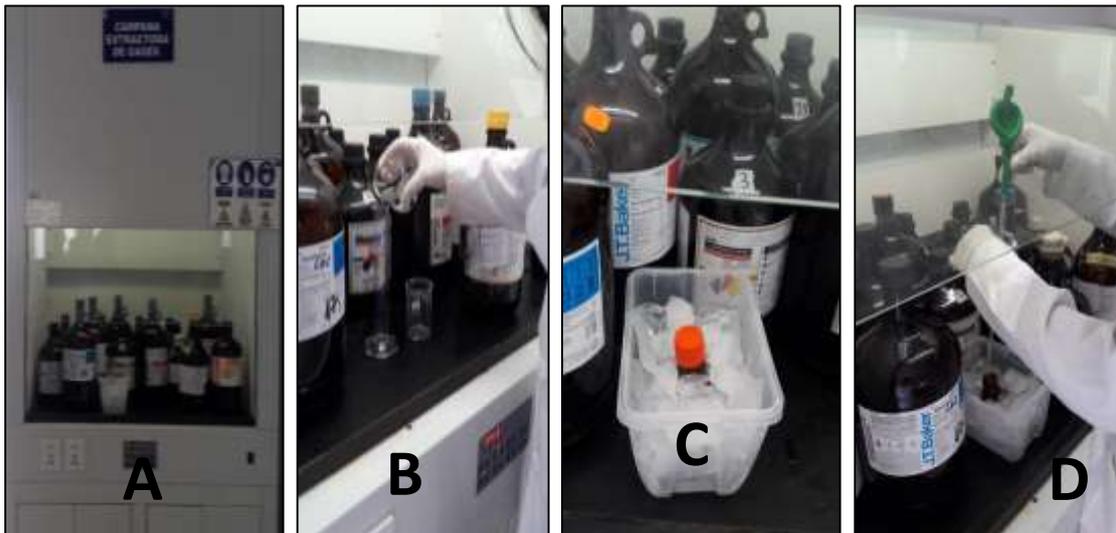
Fotografía 1: Recolección de la muestra residuos de *Chenopodium quinoa* Willd (*episperma*) en el cantón Colta.



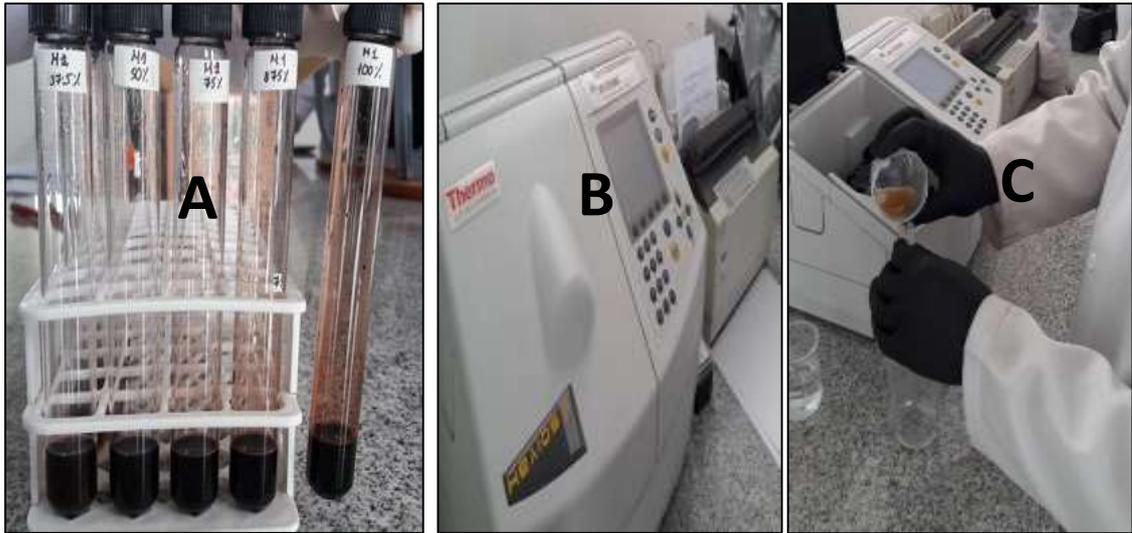
Fotografía 2: Cuantificación de saponinas de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd por el método afrosimétrico.



Fotografía 3: Extracción de saponinas de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd por el método Soxhlet.



Fotografía 4: Realización del reactivo de Liebermann-Burchard. **A:** Campana extractora de gases, **B:** H_2SO_4 , **C:** reposo del H_2SO_4 en hielo, **D:** colocación del $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$.



Fotografía 5: Cuantificación de saponinas de los residuos de *Chenopodium quinoa* Willd por el método espectrofotométrico UV-vis. **A:** concentraciones del extracto+ reactivo de Liebermann-Burchard, **B:** equipo espectrofotométrico uv-vis marca Thermo electron corporation Helios B, **C:** medición de la absorbancia de las muestras.



Fotografía 6: Aislamiento e identificación de los hongos fitopatógenos



Fotografía 7: Concentración V/V del extracto acuoso.



Fotografía 8: Inoculación de los hongos fitopatógenos en los extractos acuosos de saponinas



Fotografía 9: Medición del crecimiento *in vitro* de los hongos fitopatógenos en los extractos acuosos de saponinas