



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

“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”

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:
INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTORA: JESSICA PAOLA ARCOS LOGROÑO

TUTORA: DR. C. ROSA DEL PILAR CASTRO GOMEZ

Riobamba - Ecuador

2017

@2017, Jessica Paola Arcos Logroño

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 de Trabajo de titulación certifica que: El trabajo de investigación: **“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”** de responsabilidad de la señorita Jessica Paola Arcos Logroño, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal, quedando autorizada su presentación.

Dr. C Rosa Castro G.
**DIRECTORA TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Dra. Ana Albuja
**MIEMBRO DEL
TRIBUNAL**

Yo, Jessica Paola Arcos Logroño, 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 auto, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 02 de mayo del 2017

Jessica Paola Arcos Logroño
C.I. 060388190-5

Yo, Jessica Paola Arcos Logroño, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este Trabajo de Titulación; y el patrimonio intelectual del trabajo de Titulación, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO.

Jessica Paola Arcos Logroño

DEDICATORIA

A Dios y la Madre Dolorosa por guiarme en este largo camino, a mis padres Franklin y Martha por su esfuerzo, confianza y apoyo incondicional; a mi hermano Jorge por ser mi ejemplo, a mis abuelitos Margarita (+), Francisca (+) y Jorge quienes han sido como mis segundos padres, a mi enamorado Jimmy Danilo por llegar en el momento exacto de mi vida, a mis amigos y amigas que siempre han estado ahí.

Jessica Paola

AGRADECIMIENTO

Primero a Dios y a la Madre Dolorosa por todo lo que tengo a mi alrededor, ya que me ha servido para seguir creciendo cada día y no darme por vencida.

A mis padres Franklin y Martha por el amor, la confianza y el esfuerzo que realizan para ver cumplir nuestros sueños; a mi hermano Jorge Francisco quien me empuja a seguir mejorando con sus consejos y su apoyo incondicional, a mi abuelitos Margarita (+) Francisca (+) y Jorge que con su apoyo hemos salido adelante.

A mi enamorado Jimmy Danilo por todo el amor y el tiempo que hemos caminado de la mano.

A la Dr. C Rosa del Pilar Castro Gómez Asesora del Proyecto de Titulación y Dra. Marcia Azucena Pesantez M. quienes estuvieron junto a mí apoyándome con sus conocimientos y consejos en esta etapa de mi vida. Al Laboratorio de Fitopatología y a todo el personal quienes fueron una parte importante para la realización de este proyecto.

A mis amigas y amigos que me brindaron su amistad y me ayudaron en los momentos cuando los necesite con un consejo o un abrazo, haciendo de la vida estudiantil una aventura.

A todos quienes me vieron crecer gracias por ser parte.

Jessica

TABLA DE CONTENIDO

	Páginas
RESUMEN	xviii
SUMMARY	xix
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	4
CAPÍTULO I	
1. MARCO TEÓRICO	5
1.1. Marco filosófico o epistemológico de la investigación	5
1.2. Antecedentes de la Investigación.....	6
1.3. Bases Teóricas	6
1.3.1. Quinoa	6
1.3.2. Taxonomía de la Quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd)	7
1.3.3. Valor Nutricional	9
1.3.4. Usos de la Quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd).....	9
1.3.5. Producción de Quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd).....	10
1.3.6. Saponinas	10
1.3.6.1. Química de las saponinas.....	11
1.3.6.2. Eliminación de saponinas.....	13
1.3.6.3. Usos de las saponinas.....	13
1.3.7. Saponinas de la Quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd)	13
1.3.7.1. Bioactividad de las saponinas de quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd).....	14
1.3.2. <i>Pythium</i> sp.....	15
1.3.2.1. Características morfológicas.....	15
1.3.2.2. Reproducción sexual.....	16
1.3.2.3. Taxonomía.....	17
1.3.2.4. Patogénesis y síntomas	17
1.3.3. <i>Fusarium</i> spp.	18
1.3.3.1. Características morfológicas.....	18
1.3.3.2. Taxonomía.....	19

1.3.3.3.	Patogénesis y síntomas	20
1.3.4.	<i>Rhizoctonia</i> sp.....	20
1.3.4.1.	Características morfológicas.....	20
1.3.4.2.	Taxonomía	21
1.3.4.3.	Patogénesis y Síntomas.....	21
1.3.5.	Pudrición de plántulas, damping – off, <i>Pythium</i> sp., <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Fusarium</i> spp. (Complejo de hongos)	22
1.3.6.	Método de extracción de saponinas.....	23
3.3.6.1.	Descripción del equipo de extracción	23

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	25
2.1.	Metodología.....	25
2.1.1.	Tipo y diseño de investigación	25
2.1.2.	Localización de la experimentación	25
2.1.3.	Diseño Experimental	25
2.1.4.	Unidad de análisis	27
2.1.5.	Población de estudio.....	27
2.1.6.	Tamaño de muestra.....	27
2.1.7.	Selección de muestra	27
2.1.7.1.	Material Biológico.....	27
2.2.	Técnica de Recolección de datos	28
2.2.1.	Fase de Laboratorio	28
2.2.2.	Tratamiento estadístico de datos	28
2.2.2.	Mecanismos.....	28
2.2.2.1.	Aislamiento y purificación de <i>Fusarium</i> spp. y <i>Pythium</i> sp.	28
2.2.2.2.	Aislamiento y purificación de <i>Rhizoctonia</i> sp.....	29
2.2.2.3.	Determinación del Ritmo de Crecimiento	29
2.2.2.4.	Extracción mediante el método de Soxhlet	30
2.2.2.5.	Extracto etanólico de la cáscara de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd)	30
2.2.2.6.	Extracto etanólico del grano de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd)	30

2.2.2.7.	Extracto acuoso de la cáscara de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd).....	30
2.2.2.8.	Extracto acuosos del grano de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd).....	31
2.2.2.9.	Evaluación de la Actividad Antifúngica.....	31
2.2.2.10.	Preparación del Medio de Cultivo	31
2.2.2.11.	Determinación de la Actividad Antifúngica.....	32
2.2.2.12.	Determinación de la DE ₅₀ de los extractos de la cáscara y del grano de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd).....	32

CAPÍTULO III

3.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	33
3.1.	Análisis y discusión de resultados.....	33
3.1.1.	Extractos	33
3.1.1.1	Análisis Organoléptico	33
3.1.2.	Pruebas Cualitativas	33
3.1.2.1	Ensayo de la espuma	33
3.1.3.	Pruebas de Crecimiento Radial.....	33
3.1.3.1	<i>Fusarium</i> spp.	34
3.1.3.2.	<i>Pythium</i> sp.....	35
3.1.3.3.	<i>Rhizoctonia</i> sp.....	36
3.1.4.	Actividad antifúngica de las saponinas presentes en el extracto etanólico y extracto acuoso de la cáscara y del grano de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd) frente a <i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> sp. y <i>Rhizoctonia</i> sp.....	38
3.1.5.	Evaluación de las saponinas de la cáscara de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd) presente en el extracto etanólico frente a <i>Fusarium</i> spp.	41
3.1.6.	Evaluación de las saponinas de la cáscara de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd) presente en el extracto etanólico frente a <i>Pythium</i> sp.....	42
3.1.7.	Evaluación de las saponinas de la cáscara de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd) presente en el extracto etanólico frente a <i>Rhizoctonia</i> sp.....	42
3.1.8.	Evaluación de las saponinas del grano de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd) presente en el extracto etanólico frente a <i>Fusarium</i> spp.....	43
3.1.9.	Evaluación de las saponinas del grano de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd) presente en el extracto etanólico frente a <i>Pythium</i> sp.....	43
3.1.10.	Evaluación de las saponinas del grano de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd) presente en el extracto etanólico frente a <i>Rhizoctonia</i> sp.	43

3.1.11.	Evaluación de las saponinas de cáscara de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd) presente en el extracto acuoso frente a <i>Fusarium</i> spp.....	44
3.1.12.	Evaluación de las saponinas de cáscara de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd) presente en el extracto acuoso frente a <i>Pythium</i> sp.....	44
3.1.13.	Evaluación de las saponinas de cáscara de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd) presente en el extracto acuoso frente a <i>Rhizoctonia</i> sp.....	45
3.1.14.	Evaluación de las saponinas del grano de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd) presente en el extracto acuoso frente a <i>Fusarium</i> spp.....	45
3.1.15.	Evaluación de las saponinas del grano de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd) presente en el extracto acuoso frente a <i>Pythium</i> sp.....	46
3.1.16.	Evaluación de las saponinas del grano de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd) presente en el extracto acuoso frente a <i>Rhizoctonia</i> sp.....	47
3.1.17.	Determinación de la Dosis Eficaz 50 (DE ₅₀).....	47
3.1.17.1.	Dosis Eficaz para <i>Fusarium</i> spp. en el extracto etanólico de la cáscara de quinua	47
3.1.17.2.	Dosis Eficaz para <i>Pythium</i> sp. en el extracto etanólico de las cáscara de quinua	48
3.1.17.3.	Dosis Eficaz para <i>Rhizoctonia</i> sp. en el extracto etanólico de las cáscara de quinua	49
3.1.17.4.	Dosis Eficaz para <i>Fusarium</i> spp. en el extracto etanólico del grano de quinua	49
3.1.17.5.	Dosis Eficaz para <i>Pythium</i> sp. en el extracto etanólico del grano de quinua ...	50
3.1.17.6.	Dosis Eficaz para <i>Rhizoctonia</i> sp. en el extracto etanólico del grano de quinua	50
3.1.17.7.	Dosis Eficaz para <i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> sp. y <i>Rhizoctonia</i> sp. en el extracto acuoso de cáscara de quinua y del grano de quinua	51
3.1.18.	Determinación de la actividad antifúngica de las saponinas de la quinua frente a los agentes causales del damping off (<i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> sp., <i>Rhizoctonia</i> sp).....	53
	CONCLUSIONES	56
	RECOMENDACIONES.....	57
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXO	

ABREVIATURAS

m	metro
mm	milímetros
cm	centímetros
%	porcentaje
CDR	Cantidad Diaria Recomendada
°C	grados centígrados
ERPE	Escuelas Radiofónicas Populares del Ecuador
MAGAP	Ministerio de Agricultura Ganadería Acuicultura y Pesca
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura
C	carbono
DCA	Diseño completo al azar
PDA	Papa dextrosa agar
DE₅₀	Dosis eficaz 50
g	gramos
mL	mililitros
h	horas

INDICE DE TABLAS

Tabla 1-1 Valor Nutricional de la quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd).....	9
Tabla 1-2 Número de Tratamientos para la determinación de la actividad antifúngica de las saponinas frente a los agentes causales del damping off (<i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> sp., <i>Rhizoctonia</i> sp.)	267
Tabla 2-2 Concentración porcentual del extracto para cada dosis ensayada.....	31
Tabla 1-3 Análisis Organoléptico de los extractos etanólicos y acuosos de la cáscara de la quinua y quinua	33
Tabla 2-3 Análisis de varianza de la actividad antifúngica de las saponinas para <i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> sp. y <i>Rhizoctonia</i> sp. a las 144 horas	39
Tabla 3-3 Orden de los rangos de la actividad antifúngica para <i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> sp. y <i>Rhizoctonia</i> sp. a las 144 horas	40

INDICE DE FIGURAS

Figura 1-1	Plantas de quinoa mostrando diferentes colores y formas de inflorescencia.....	8
Figura 2-1	Vista del fruto de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd al microscopio electrónico de barrido.....	8
Figura 3-1	Estructuras de las saponinas.....	12
Figura 4-1	Agliconas de Saponinas triterpénicas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.....	14
Figura 5-1	Aspecto microscópico de <i>Pythium</i> sp.....	15
Figura 6-1	Caja de cultivo puro de <i>Pythium</i> sp.....	15
Figura 7-1	Caja de cultivo puro de <i>Fusarium</i> spp.....	18
Figura 8-1	Aspecto microscópico de <i>Fusarium</i> spp.....	18
Figura 9-1	Micelio de <i>Rhizoctonia</i> sp.	21
Figura 10-1	Caja de cultivo puro de <i>Rhizoctonia</i> sp.....	21
Figura 11-1	Daño por complejo de Hongos.....	22
Figura 12-1	Extracción por el método de Soxhlet.....	24
Figura 1-3	Ritmo de crecimiento radial de <i>Fusarium</i> spp. en medio PDA a temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$	35
Figura 2-3	Ritmo de crecimiento radial de <i>Pythium</i> sp. en medio PDA a temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$	36
Figura 3-3	Ritmo de crecimiento radial de <i>Rhizoctonia</i> sp. en medio PDA a temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$	37
Figura 4-3	Crecimiento del hongo <i>Fusarium</i> spp. en el extracto etanólico de cáscara de quinua a los 9 días.....	41
Figura 5-3	Crecimiento del hongo <i>Pythium</i> sp. en el extracto etanólico de cáscara de quinua a los 9 días.	42
Figura 6-3	Crecimiento del hongo <i>Rhizoctonia</i> sp. en el extracto etanólico de cáscara de quinua a los 9 días.....	42
Figura 7-3	Crecimiento del hongo <i>Fusarium</i> spp. en el extracto etanólico del grano de quinua a los 9 días.....	43
Figura 8-3	Crecimiento del hongo <i>Pythium</i> sp. en el extracto etanólico del grano de quinua a los 9 días.....	43

Figura 9-3	Crecimiento del hongo <i>Rhizoctonia</i> sp. en el extracto etanólico del grano de quinua a los 9 días.....	44
Figura 10-3	Crecimiento del hongo <i>Fusarium</i> spp. en el extracto acuoso de cáscara de quinua a los 9 días.....	44
Figura 11-3	Crecimiento del hongo <i>Pythium</i> sp. en el extracto acuoso de cáscara de quinua a los 9 días	45
Figura 12-3	Crecimiento del hongo <i>Rhizoctonia</i> sp. en el extracto acuoso de cáscara de quinua a los 9 días.....	45
Figura 13-3	Crecimiento del hongo <i>Fusarium</i> spp. en el extracto acuoso del grano de quinua a los 9 días.....	46
Figura 14-3	Crecimiento del hongo <i>Pythium</i> sp. en el extracto acuoso del grano de quinua a los 9 días.....	46
Figura 15-3	Crecimiento del hongo <i>Rhizoctonia</i> sp. en el extracto acuoso del grano de quinua a los 9 días.....	47

INDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1-3	Crecimiento radial de <i>Fusarium</i> spp. en medio PDA a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ de 0 a 120 h.....	34
Gráfica 2-3	Crecimiento radial de <i>Pythium</i> sp. en medio PDA a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ de 0 a 120 h.....	35
Gráfica 3-3	Crecimiento radial de <i>Rhizoctonia</i> sp. en medio PDA a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ de 0 a 120 h.....	36
Gráfica 4-3	Comparación del ritmo de crecimiento radial de <i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> sp. y <i>Rhizoctonia</i> sp.....	37
Gráfica 1-3	Ritmo de crecimiento radial de los hongos patógenos desde las 0 h a 120 h.....	38
Gráfica 6-3	Curva de regresión ajustada para el crecimiento de <i>Fusarium</i> spp. a las 144 horas frente al extracto etanólico de la cáscara de quinua.	47
Gráfica 7-3	Curva de regresión ajustada para el crecimiento de <i>Pythium</i> sp. A las 144 horas frente al extracto etanólico de la cáscara de quinua.	48
Gráfica 8-3	Curva de regresión ajustada para el crecimiento de <i>Rhizoctonia</i> sp. A las 144 horas frente al extracto etanólico de la cáscara de quinua.	49
Gráfica 9-3	Curva de regresión ajustada para el crecimiento de <i>Fusarium</i> spp. a las 144 horas frente al extracto etanólico de quinua.	49
Gráfica 10-3	Curva de regresión ajustada para el crecimiento de <i>Pythium</i> sp. a las 144 horas frente al extracto etanólico de quinua.	50
Gráfica 11-3	Curva de regresión ajustada para el crecimiento de <i>Rhizoctonia</i> sp. a las 144 horas frente al extracto etanólico de quinua	50
Gráfica 12-3	Actividad Antifúngica de las saponinas presentes en el extracto acuoso de la cáscara de quinua frente a <i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> sp., y <i>Rhizoctonia</i> sp.....	51
Gráfica 13-3	Actividad Antifúngica de las saponinas presentes en el extracto acuoso del grano de quinua frente a <i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> sp., y <i>Rhizoctonia</i> sp.....	52

INDICE DE ANEXO

Anexo A: Ritmo de crecimiento radial de *Fusarium* spp. en medio PDA a temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$

Anexo B: Ritmo de crecimiento radial de *Pythium* sp. en medio PDA a temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$

Anexo C: Ritmo de crecimiento radial de *Rhizoctonia* spp. en medio PDA a temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$

Anexo D: Crecimiento radial de los hongos patógenos en el extracto etanólico de las cáscara de quinua.

Anexo E: Crecimiento radial de los hongos patógenos en el extracto etanólico del grano de quinua.

Anexo F: Crecimiento radial de los hongos patógenos en el extracto acuoso de la cáscara de quinua.

Anexo G: Crecimiento radial de los hongos patógenos en el extracto acuoso del grano de quinua.

Anexo H: Evidencias fotográficas

RESUMEN

El objetivo fue determinar la actividad antifúngica de las saponinas de la quinua frente a los agentes causales del damping off (*Fusarium* sp., *Pythium* sp. y *Rhizoctonia* sp.) para lo cual se aislaron los hongos patógenos en muestras de suelos y tubérculos de papa en medio de cultivo Papa dextrosa agar. Para obtener la saponinas de la cáscara y del grano de quinua en extracto acuoso y etanólico se utilizó el método de soxhlet y se extrajo en concentraciones de 100, 50, 25 y 12.5 % V/V respectivamente. Los extractos etanólicos y acuosos de la cáscara y del grano de quinua fueron colocados en medios de cultivo para observar su efecto sobre el crecimiento de los hongos en estudio. El análisis estadístico se fundamentó en un diseño experimental completamente aleatorizado (DCA) con 4 tratamientos y tres repeticiones, mediante la prueba de Tukey al 5% se determinó el mejor tratamiento. Los resultados obtenidos demuestran que el crecimiento de los hongos en las saponinas provenientes del extracto etanólico de la cáscara de quinua presenta mayor actividad antifúngica con el 60 al 75% frente a *Fusarium* spp., para *Pythium* sp. y su efecto inhibitorio del 51 al 92%; mientras que para *Rhizoctonia* sp. su inhibición alcanza el 94%. Los extractos acuosos de la cáscara y del grano de quinua estimularon el crecimiento de los patógenos por sus características químicas. Se recomienda ensayar a diferentes concentraciones el porcentaje de etanol utilizado para la extracción de las saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) con el propósito de verificar si la actividad inhibidora se debe al alcohol o a las saponinas.

Palabras Claves <BIOTECNOLOGÍA> <MICROBIOLOGÍA> <DAMPING OFF (*Fusarium* spp., *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp.)> <MÉTODO SOXHLET> <EXTRACTOS ETANÓLICOS> <EXTRACTOS ACUOSOS> <ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA>

SUMMARY

The objective was to determine the antifungal activity of quinoa saponins against damping off causal agents (*Fusarium* sp., *Pythium* sp. and *Rhizoctonia* sp.) for which pathogenic fungi were isolated in soil samples and potato tubers in growth medium, dextrose agar potato. The soxhlet method was used to obtain saponins from the hulls and the quinoa grain in aqueous and ethanolic extracts, they were extracted at concentrations of 100, 50, 25 and 12.5% V/V, respectively. The ethanolic and aqueous extract of the hulls and the quinoa grain were placed in growth media to observe its effect on the growth of fungi under study. The statistical analysis was based on a completely randomized experimental design (CRD) with 4 treatments and three repetitions, by means of the Tukey test at 5%, the best treatment was determined. The results obtained demonstrate that the growth of fungi in the saponins from the ethanolic extract of the quinoa hulls presents a higher antifungal activity with 60 to 75% compared to *Fusarium* spp., for *Pythium* sp. and its inhibitory effects from 51 to 92%; while for *Rhizoctonia* sp. its inhibition reaches 94%. Aqueous extracts of the hulls and the quinoa grain stimulated the growth of the pathogens because of their chemical characteristics. It is recommended to test a different concentrations the percentage of ethanol used for the extraction of quinoa saponins (*Chenopodium quinoa* Will) in order to verify if the inhibitory activity is due to alcohol or saponins.

Keywords: <BIOTECHNOLOGY> <MICROBIOLOGY> <DAMPING OFF (*Fusarium* spp., *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp.) > <SOXHLET METHOD> <ETHANOLIC EXTRACTS> <AQUATIC EXTRACTS> <ANTIFUNGAL ACTIVITY>

INTRODUCCIÓN

Situación problemática

Los agroquímicos que se emplean en la actualidad son en su mayoría de origen sintético y suelen ser moléculas sencillas, de poca especificidad, es decir, no discriminan entre la especie patógena que se desea eliminar u otra beneficiosa, y por lo tanto presentan considerable toxicidad y/o conllevan riesgos ambientales.

En la actualidad no existe ningún alimento que proporcione todos los nutrientes esenciales para la vida, más sin embargo la quinua es considerada como el único alimento del reino vegetal que contiene todos los aminoácidos, proteínas y nutrientes, lo que le permite cumplir con los estándares de nutrición establecidos por la FAO.

Se han realizado estudios de la actividad biológica *in vitro* e *in vivo* asociados a las saponinas con diversos beneficios para la salud, incluyen efectos antiinflamatorios, anticancerígenos, antibacteriales, antifúngicos, y antivirales. Tradicionalmente, las semillas de quinua son desgastadas mecánicamente para retirar el salvado, donde se sitúan predominantemente las saponinas, o son lavadas con agua para quitar amargura antes de su uso.

Durante los últimos años el abuso de productos químicos como fungicidas, utilizados en la industria agrícola ocasiona el deterioro de los suelos y el ambiente. Los cultivos son atacados por diferentes enfermedades y plagas en sus fases tempranas, siendo los hongos uno de los agentes principales que se benefician de las plantas para compensar sus demandas nutricionales. El simple hecho de que la enfermedad en la planta no se presente en forma agresiva o afecte en grandes cantidades ocasiona que no se dé la importancia que este merece.

Los patógenos más importantes que causan elevadas pérdidas en las plantas son normalmente las bacterias y los hongos, sin embargo, con mayor frecuencia son especies de hongos los causantes del deterioro patológico (raíces, tubérculos, cormos, etc). Algunas fuentes estiman que dichas pérdidas son del orden de 5-25% en países desarrollados y 20-50% en países en desarrollo (FHIA, 2007)

El hombre depende del consumo directo de diversos vegetales como leguminosas y cereales. Anualmente, una tercera parte de la producción de alimentos se ve destruida por plagas y enfermedades de cultivos y productos almacenados, por lo cual se hace imprescindible el estudio de nuevas vías de control de enfermedades, pudiendo ser una de ellas el uso de metabolitos secundarios presentes en las plantas como las saponinas de la quinua que son desechadas en los residuos de la agroindustria de este producto.

Formulación del problema

Problema general:

¿De qué manera las saponinas de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) poseen actividad antifúngica frente a los agentes causales del damping off (*Fusarium* spp., *Pythium* sp. y *Rhizoctonia* sp.)?

Problemas específicos

1. ¿Cómo se establece un método de extracción de las saponinas presentes en la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd)?
2. ¿De qué manera se realiza el aislamiento y purificación de los hongos causales del Damping off (*Fusarium* spp., *Rhizoctonia* sp. y *Pythium* sp.)?
3. En qué medida se evalúa la actividad antifúngica de las saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Will) frente a *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* sp. y *Pythium* sp. Justificación Teórica

Justificación Teórica

El Departamento de Fitopatología de la Facultad de Recursos Naturales, junto con la Unidad de Producción de Microorganismos Antagonistas y Entomo-patógenos "MIKROBEN" (Microorganismos Benéficos), mediante la investigación busca determinar la actividad fúngica a partir del aprovechamiento de productos secundarios de la producción de quinua (*Chenopodium quinoa* Will) causando menor impacto ambiental y obteniendo producciones más limpias, siendo un medio ecológico para preservar suelos agrícolas y contribuir al mejoramiento del ambiente y la preservación de los recursos naturales.

Los factores técnicos, económicos y ambientales están forzando a adoptar nuevos métodos más sustentables que permitan eficazmente controlar plagas y enfermedades en el sector agrícola. Estos métodos incluyen la aplicación de nuevas alternativas de control de origen natural.

“MIKROBEN” interesado en la búsqueda y la obtención de nuevos productos fungicidas amigables con el ambiente viene incentivando al desarrollo de proyectos de investigación para determinar la actividad antifúngica de ciertas sustancias presentes en la quinua (*Chenopodium quinoa Will*) como son las saponinas, la quinua (*Chenopodium quinoa Will*) viene siendo utilizada desde la antigüedad por sus propiedades alimenticias pero no por sus propiedades fúngicas, constituyéndose en el objeto de estudio para la presente investigación.

Justificación Práctica

Los agentes causales del Damping off (*Fusarium ssp.*, *Pythium sp.* y *Rhizoctonia sp.*) son los responsables del marchitamiento de las plantas ocasionando una reducción en su producción, por lo que es necesario implementar alternativas ecológicas y económicamente sustentables para el control de los mismos con el uso de productos de baja toxicidad y de origen orgánico dándole una utilidad la cáscara de la quinua (*Chenopodium quinoa Will*) y grano de quinua que a su vez permite reducir la incidencia de esta enfermedad.

La utilización de productos amigables con el ambiente para la prevención y el control de enfermedades por hongos, a más de mejorar el entorno y la economía de los agricultores cooperarán a la mejora del cultivo en beneficio de la naturaleza y el hombre.

OBJETIVOS

Objetivo General

1. Determinar la actividad antifúngica de las saponinas de la quinua (*Chenopodium quinoa Will*) frente a los agentes causales del Damping off (*Fusarium* spp., *Pythium* sp. y *Rhizoctonia* sp.)

Objetivo Específicos

1. Establecer un método de extracción de las saponinas presentes en la quinua (*Chenopodium quinoa Will*).
2. Realizar el aislamiento y purificación de los hongos causales del Damping off (*Fusarium* spp., *Pythium* sp. y *Rhizoctonia* sp.).
3. Determinar la Dosis Eficaz 50 (DE₅₀) para los extractos ensayados frente a *Fusarium* spp., *Pythium* sp. y *Rhizoctonia* sp.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Marco filosófico o epistemológico de la investigación

La Constitución Política del Ecuador vigente, prevé en su preámbulo: Una nueva forma de convivencia ciudadana, en diversidad y armonía con la naturaleza, para alcanzar el *buen vivir*, el *sumak kawsay* (Flores, 2015). Por lo que se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad.

También se declara de interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados (Flores, 2015)

Se intenta obtener producciones más limpias, siendo un medio más ecológico para salvaguardar suelos agrícolas, contribuir al mejoramiento del ambiente y la preservación de los recursos naturales. La protección del ambiente y el desarrollo sustentable van de la mano por cuanto es imprescindible ampliar investigaciones de nuevos métodos de control biológico para la protección de la agricultura, ya que se ha visto atacada por diferentes plagas que afectan a la producción.

Según Flores (2015), el uso de fungicidas amigables con el ambiente constituye una necesidad ecológica, porque se convierten en insumos económicamente atractivos para los productores del campo, mediante la utilización de productos secundarios obtenidos de la cáscara de la quinua (*Chenopodium quinoa* Will) y del grano en sí, que no significa algún daño para el ambiente y el ser humano.

El presente trabajo de investigación pretende poner en práctica los citados del *buen vivir*, el *sumak kawsay*, aplicado a los problemas por contaminación fitosanitaria que atacan a los cultivos. *Fusarium* spp., *Phytium* sp. y *Rhizoctonia* sp. son los agentes causales del damping off o marchitamiento de la planta provocando pérdidas en los cultivos, por lo que se debe aplicar alternativas ecológicas para el control, proponiendo el uso de productos de baja toxicidad y de origen orgánico a base de productos secundarios obtenidos de la quinua (*Chenopodium quinoa*

Will) (Flores, 2015).

1.2. Antecedentes de la Investigación

Como métodos de extracción de las saponinas se han realizado investigaciones en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Facultad de Ciencias sobre ELABORACIÓN DE UN EMULSIONANTE COSMÉTICO A BASE DE LAS SAPONINAS DEL AGUA DE LAVADO DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*). EN ERPE, donde utilizan metodologías de extracción del material que difieren poco entre sí desde el lavado de la quinoa (*Chenopodium quinoa* Will) (saponinas) artesanal hasta la obtención de las saponinas por métodos cromatográficos, partiendo del material vegetal seco.

Por otro lado también en la Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales han investigado la “EXTRACCIÓN, CUANTIFICACIÓN Y PURIFICACIÓN DE SAPONINAS DE SEMILLAS DE *Chenopodium quinoa* Willd PROVENIENTES DEL NOROESTE ARGENTINO”, donde se pudo determinar las condiciones óptimas de extracción de las saponinas de los frutos de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), por dos métodos originales: la extracción asistida con microondas y la extracción de esta sustancia a alta presión, que permiten una extracción eficiente en un tiempo breve comparado con los métodos tradicionales, como el método de Soxhlet y de reflujo.

Se han realizado proyectos de investigación relacionado a la actividad antifúngica que presentan las saponinas de diferentes productos para contrarrestar el marchitamiento de las plantas (damping off) para reducir el consumo excesivo de fungicidas químicos, tal es el caso de la investigación que se realizó en la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH), Facultad de Ciencias Agrotecnológicas (FACIATEC) sobre la SITUACIÓN ACTUAL EN EL CONTROL DE *Fusarium* spp. Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS VEGETALES, donde presentan algunos de los muchos estudios realizados alrededor del mundo con las evidencias pertinentes sobre la efectividad biológica de diversas especies vegetales para el control de *Fusarium* spp., ya que ha sido uno de los géneros de hongos fitopatógenos más incidentes y devastadores de cultivos en el planeta en los últimos años.

1.3. Bases Teóricas

1.3.1. Quinoa

Quinoa comúnmente llamada “quinua”, nombre científico *Chenopodium quinoa* Willd. (Hunziker,

1943). *Chenopodioideae* es una subfamilia de las *Amaranthaceae*, el género *Chenopodium* incluye alrededor de 250 especies (Bhargava, 2003). La quinoa se va popularizando e incluso la FAO ha designado al 2013 como el año internacional de la quinoa. La quinua es una planta anual que se encuentra en la región andina de América del Sur, existen variedades de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) para todas las zonas agroecológicas, desde el nivel del mar hasta los 4000 m (altura del Altiplano boliviano) (Tapia y Fries, 2007).

Constituyó la base de la alimentación de los indígenas de la América Meridional, según testimonios de los descubridores y cuyo gusto alimenticio aún se conserva en nuestros días entre los campesinos de los países mencionados (Portilla, 1955).

1.3.2. Taxonomía de la Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*)

Es ginomonoica, anual, de 0.5 a 1.6 m de altura, con ramificaciones desde la base, de color verde o con pigmentos betacianicos, las hojas son gruesas, 3-nervadas, con ápice redondeado o agudo, recubiertas sobre todo en la cara inferior y cuando jóvenes de pelos vesiculosos blanquecinos (Hunziker, 1952).

Según Hunziker, las formas de las hojas son variables, de colores verdes, rojas o moradas; inflorescencias cimosas en compactos racimos piramidales las flores son pequeñas y no poseen pétalos; pueden ser hermafroditas o pistiladas.

El fruto se encuentra cubierto en parte por el perigonio acrescente con el pericarpio blanquesino, blanco-ocráceo o rojo ladrillo. La semilla es pequeña (2 a 3 mm de diámetro y 1 mm de espesor). El color puede ser amarillo, café, crema, blanco o translucido. El período vegetativo es entre 90 y 220 días, dependiendo de las variedades (Hunziker, 1952).



Figura 1-1 Plantas de quinoa mostrando diferentes colores y formas de inflorescencia

Fuente: (Mujica *et al.*, 2001)

El tallo presenta una forma cilíndrica, en el cuello de la planta y anguloso a partir de las ramificaciones. El diámetro varía de 1 a 8 cm, siendo mayor en la base que en el ápice. Posee corteza firme, compacta con membranas celulósicas, en su interior contiene una médula que en la madurez desaparece, quedando seca, esponjosa y vacía. (Gallardo, 1997).

El fruto es un aquenio que tiene forma cilíndrico-lenticular, levemente ensanchado hacia el centro, en la zona ventral se observa una cicatriz que es la inserción del fruto en el receptáculo floral. Está constituido por el perigonio que envuelve al fruto por completo y contiene una sola semilla, de coloración variable, con un diámetro de 1,5 a 3 mm la cual se desprende con facilidad a la madurez y en algunos casos puede permanecer adherido al grano incluso después de la trilla dificultando la selección. El contenido de humedad del fruto a la cosecha es de 14,5% (Gallardo, 1997).



Figura 2-1 Vista del fruto de *Chenopodium quinoa* Willd al microscopio

Fuente: (Gallardo, 1997)

1.3.3. Valor Nutricional

Tabla 1-1: Valor nutricional de la quinua
(*Chenopodium quinoa* Willd)

Contenido en cada grano de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd)		
Elemento	Unidad	Valor
Proteína	g	8
Fibra	g	5
Manganeso	%	58
Fósforo	%	28
Folato	%	19
Cobre	%	18
Hierro	%	15
Zinc	%	13
Potasio	%	9
Vitaminas B1, B2 y B6	%	>10

Fuente: www.eltelegrafo.com.ec

Realizado por Jessica Arcos, 2017

Además se considera pequeñas cantidades de calcio, vitamina B3 (niacina) y vitamina E (www.eltelegrafo.com.ec).

Las proteínas de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) tienen un alto grado de aminoácidos, Lisina, metionina y cistina. La semilla contiene entre 58 y 68% de almidón y 5% de azúcares, a pesar que los granos de almidón son bastante pequeños, éstos contienen cerca de 20% de amilosa, y forman gelatinas entre los 55 a 65 °C.

La grasa contiene ácido linoleico, esencial para la dieta humana. Contiene un alto nivel de calcio y fósforo. Los nutrientes concentrados de las hojas tienen un bajo índice de nitrato y oxalato, los cuales son considerados elementos perjudiciales en la nutrición. (www.eltelegrafo.com.ec)

1.3.4. Usos de la Quinua (*Chenopodium quinoa* Willd)

Tradicionalmente los granos de quinua se tuestan y con ellos se produce harina. Pueden ser cocidos, añadidos a las sopas, usados como cereales, pastas e inclusive se les fermenta para obtener cerveza o “chicha” la cual es considerada la bebida de los Incas. Cuando se cuece toma un sabor similar a la nuez. La harina de quinua es producida y se comercializa en Perú y Bolivia, sustituyendo muchas veces a la harina de trigo, enriqueciendo así sus derivados de pan, tortas y galletas. La planta algunas veces se utiliza como vegetal, y sus hojas se comen frescas o cocidas.

Se utiliza para la alimentación de animales como las alpacas, llamas, ganado vacuno, asno, ovejas y cuyes. Los granos y raíces son excelentes alimentos para aves de corral y cerdos (www.minagri.gob.pe)

1.3.5. Producción de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd)

En Chimborazo la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) es un motor de la economía local y cada vez se cuentan más personas que participan en la siembra y cosecha de este cereal, codiciado en el extranjero.

Hasta el 2012 se contabilizaban en esta provincia de la Sierra Centro 1484 productores de quinoa; actualmente existen 2366 productores, mientras que a escala nacional se cuentan cerca de 6000, según las fundaciones Coprobich, Escuelas Radiofónicas Populares del Ecuador (ERPE) y Maquita Cushunchic (MCCH). Además, cada quintal de quinoa pelada se vende a USD 225 en el extranjero, mientras que para el mercado local cuesta USD 180, pero sin procesar (ElComercio.com).

Según los productores, en el extranjero la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) ecuatoriana es muy apetecida y el pago es mejor que el ofrecido por las empresas locales. Por eso, el 75% de la producción de los 1632 afiliados a la Corporación de Productores y Comercializadores Orgánicos Bio Taita Chimborazo, se envía a Francia y a Estados Unidos. La libra de quinoa se comercializa en USD 2,25 y van con destino a las empresas Ethiquable e Inca Organics (ElComercio.com).

Entre tanto, tan solo el 25% de la producción se expende en el mercado nacional. Esto se debe también, según datos del Ministerio de Agricultura Ganadería Acuacultura y Pesca (MAGAP), a que el consumo de quinoa per cápita de una familia ecuatoriana es de menos de una libra a la semana (ElComercio.com).

1.3.6. Saponinas

Las saponinas constituyen un amplio grupo de heterósidos muy frecuentes en los vegetales. Se caracterizan por sus propiedades tenso-activas; se disuelven en agua formando disoluciones espumosas (Bruneton, 2001).

Las saponinas son detergentes naturales encontrados en una variedad de plantas, tienen

propiedades tensas activas y detergentes ya que contienen compuestos liposolubles como acuosolubles. Las saponinas tienen un núcleo lipofílico ya sea esférico o triterpénico y una o más cadenas laterales hidrofílicas compuestas de carbohidratos (Cheeke P,2006).

Desde el punto de vista químico, las saponinas al ser hidrolizadas rinden de 2 a 6 residuos de monosacáridos y una porción carbonada policíclica que es la aglicona del glicósido, a la cual se le denomina genéricamente sapogenina (Bruneton, 2001).

Pueden tener un esqueleto tipo esterooidal o de tipo triterpenoide (derivados del escualeno); la diferencia radica en que las saponinas esterooidales han eliminado 3 de sus radicales metilos mientras que las triterpénicas los mantienen intactos. Además, algunos triterpenos no presentan el sistema policíclico característico del esterano (Hernández, 1997).

Las saponinas presentan un grupo de características generales que sirven de base para su identificación rápida: 1) producción de espuma al ser agitadas sus soluciones acuosas, lo cual es la base de la reacción de selivoflo empleada en el tamizaje fitoquímico; 2) producción de hemólisis de los glóbulos rojos por la mayoría de ellas, propiedad que se aprovecha en las técnicas en que se cuantifica la potencia de estas sustancias; 3) toxicidad en animales poiquilotérmicos, en especial los peces (sapotoxinas), a los cuales provocan parálisis de las agallas; 4) producción de una reacción positiva en la prueba de Liebermann-Burchard. Por lo general, las sustancias esterooidales en esta prueba manifiestan colores que van desde el azul hasta el verde y las triterpénicas, rosado, rojo o violeta. Además, la mayoría de las saponinas son solubles en diferente grado en soluciones de etanol al 80 %, propiedad que se emplea en diversas técnicas para su extracción y purificación (Hernández, 1997).

1.3.6.1. Química de las saponinas.

Las saponinas son compuestos que se encuentran en muchas plantas (Sparg *et al.* 2004). Deben su nombre a la característica distintiva de formar espuma. Su nombre probablemente proviene de la planta *Saponaria*, cuyas raíces se han usado históricamente para formar jabón (del latín *sapo* =jabón) (Augustin *et al.* 2011). Químicamente, son glucósidos con una aglicona (porción libre de glucósido) policíclica que puede ocurrir en la forma de un esteroide o colina triterpenoide ligada a través del carbono C3 por medio de un enlace etéreo a una cadena lateral de azúcares. Comúnmente también se refiere a la aglicona como sapogenina, mientras que también se refiere comúnmente al subconjunto de saponinas esterooides como sarapogenina. Las saponinas son anfipáticas debido a su función aglicona liposoluble y su cadena de sacáridos que, a su vez, es

hidrosoluble. Esta característica es la base de su capacidad para formar espuma. Las saponinas son percibidas como amargas, y esto reduce las características organolépticas y palatabilidad de los productos ricos en ellas. Sólo algunas (generalmente aquellas con aglicona triterpenoica) tienen un buen sabor, que recuerda a la raíz de regaliz.

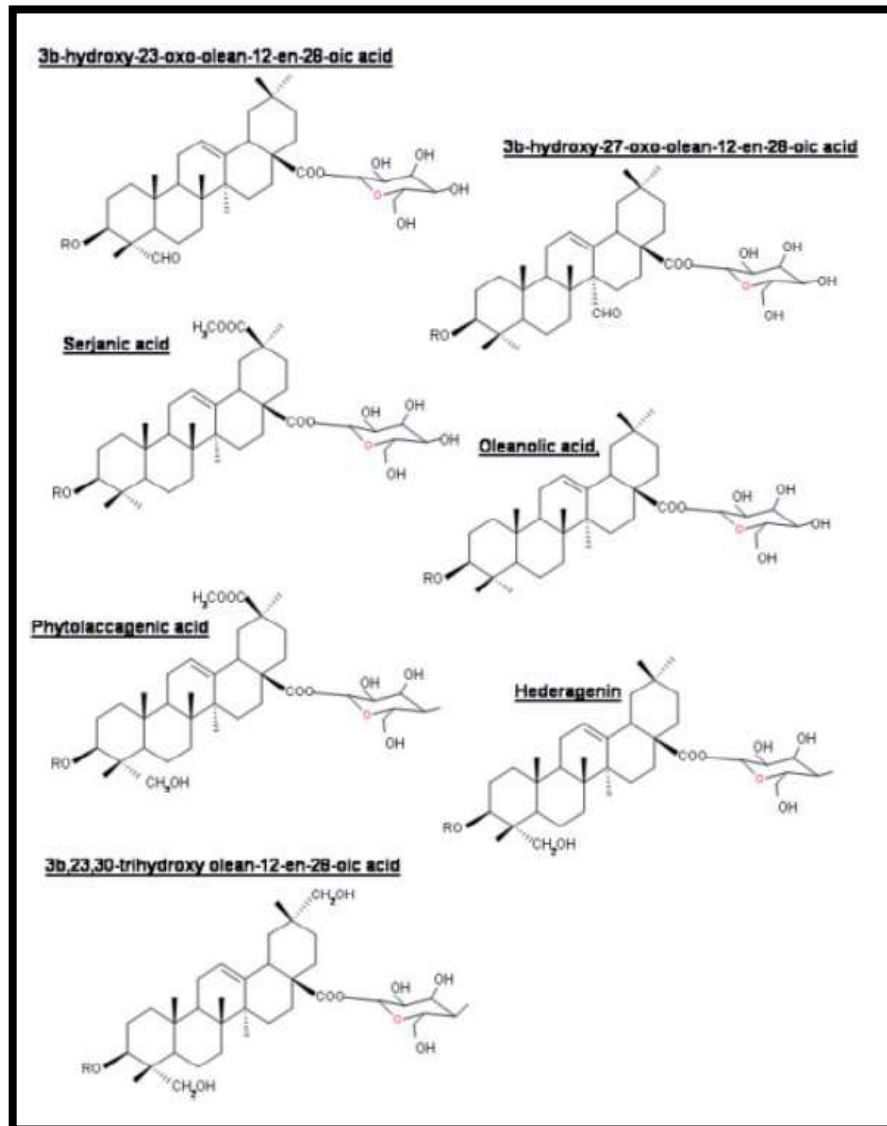


Figura 3-1 Estructuras de las saponinas

Fuente: (Bazile D. *et al.* 2014)

La figura 3-1 resume las 7 agliconas identificadas hasta el momento en distintas partes de la quinua *Chenopodium quinoa Willd* (flores, frutos, cubierta de las semillas, y semillas) (Kuljanabhagavad *et al.* 2008). Estas estructuras se han obtenido por medio de extensas caracterizaciones espectrometría de masas. La mayor parte de la variabilidad es generada por las cadenas laterales de sacáridos.

1.3.6.2. Eliminación de saponinas.

Las saponinas suelen ser amargas, así que deben ser eliminadas de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) antes de su consumo. Tradicionalmente, las semillas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) son desgastadas mecánicamente para retirar el salvado, donde se sitúan predominantemente las saponinas, y/o son lavadas con agua para quitar amargura antes de su uso. Durante los procesos de lavado para eliminar las saponinas amargas, (Wright *et al.* 2002) informan que también se pierden valiosos nutrientes y se puede cambiar la composición química y el perfil de los aminoácidos de las semillas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd). El nivel final del contenido de saponinas en semillas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) para consumo sigue siendo una gran preocupación en términos de su amargura y posibles efectos biológicos negativos.

1.3.6.3. Usos de las saponinas.

Las saponinas son explotadas por la industria como aditivos para alimentos y cosméticos. Potencialmente, pueden ser utilizadas para otras aplicaciones industriales (Yang *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2010; Price *et al.*, 1987; Hostettmann y Marston, 1995) como, por ejemplo, conservantes, modificadores del sabor, detergentes (debido a sus propiedades químicas y su capacidad como agentes espumantes) y agentes para eliminar el colesterol de productos lácteos.

Notablemente, las saponinas también pueden activar el sistema inmune mamífero, lo que ha conllevado a un importante interés en su potencial como adyuvantes de vacunas. Su capacidad única para estimular tanto la respuesta inmune Th1 y la producción de linfocitos T citotóxicos (LTCs) frente a antígenos exógenos las hace ideales para su uso en vacunas de subunidades y vacunas dirigidas contra patógenos intracelulares, además de para vacunas terapéuticas contra el cáncer (Bazile *et al.* 2014)

1.3.7. Saponinas de la Quinua (*Chenopodium quinoa* Willd)

Las saponinas de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) son de agliconas triterpénicas: Las cuatro estructuras principales de agliconas que se han identificado en las son: ácido oleanólico, hederagenina, ácido fitolacagénico, y ácido serjánico (30-O methylspergulagenato) (Zhu, 2002).

En lo que respecta carbohidratos principales estos son glucosa, arabinosa y galactosa. Además, 20 saponinas triterpénicas se han aislado de diferentes partes de *Chenopodium quinoa* (flores, frutos, cubiertas de las semillas y las semillas) (Kuljanabhagavad, 2008; Zhu, 2002).

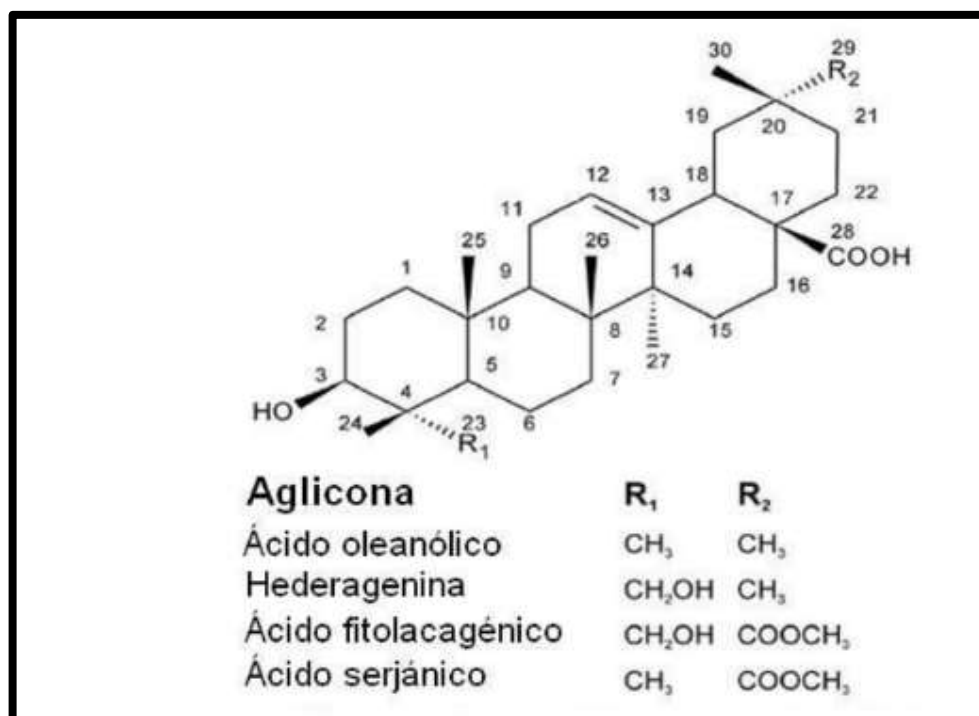


Figura 4-1 Agliconas de Saponinas triterpénicas de *Chenopodium quinoa* Willd

Fuente: (Madl, 2006)

1.3.7.1. Bioactividad de las saponinas de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd)

Una importante propiedad de las saponinas es su actividad antifúngica. Se ha comprobado que las saponinas inhiben el crecimiento de *Candida albicans* (Woldemichael y Wink, 2001), las saponinas tratadas con álcali también tienen una significativa actividad antifúngica sobre *Botrytis cinérea* (Stuardo y San Martín, 2008).

Muestran además propiedades insecticidas (se estudió la actividad insecticida de las saponinas de quinoa sobre *Drosophila melanogaster*.) molusquicida, y antibióticas, (Reilly *et al.*, 2004) y que las saponinas disminuyen la tensión superficial, es decir son sustancias tensoactivas y además poseen propiedades emulsificantes.

Algunas tienen efecto hemolizante en los glóbulos rojos, esta propiedad la presentan las saponinas monodesmosídicas (Woldemichael y Wink, 2001).

La hemólisis se puede producir debido a interacciones de las saponinas con las membranas, que producen poros que llevan a la rotura de la misma (Seeman, 1973).

1.3.2. *Pythium* sp.

1.3.2.1. Características morfológicas

Pythium sp. se encuentra distribuido en los suelos y en aguas en todo el mundo. Es un organismo saprófito y vive sobre los restos de animales y plantas muertas, o bien se pueden desarrollar como parásito atacando las raíces fibrosas de las plántulas jóvenes de una gran variedad de espermatofitas susceptibles. Cuando un suelo húmedo se encuentra densamente infestado por *Pythium* este hongo ataca todo tipo de semillas o plántulas que emerjan de aquellas (Carone, 1986).

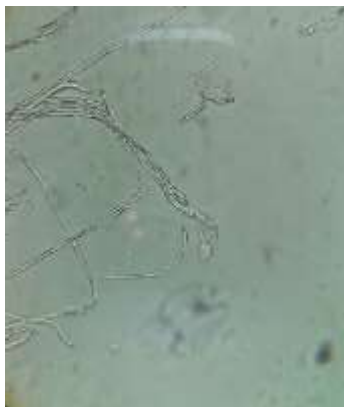


Figura 5-1 Aspecto microscópico de *Pythium* sp.

Fuente: Jessica Arcos



Figura 6-1 Caja de cultivo puro de *Pythium* sp

Fuente: Jessica Arcos

- **Micelio**

Según Saralosa (1975), el micelio es hialino, bien desarrollado, continuo cuando es joven, al envejecer vierte el contenido citoplasmático y se tabica (falsos tabiques). Gilman (1985), manifiesta que las hifas son muy finas, no más de 8 μ m. de diámetro, con frecuencia aún de menor diámetro; profusamente ramificado en panículas, al principio unicelulares, creciendo intra o intercelularmente, sin austerios especializados.

- **Esporangios**

Según Walker (1965), los esporangios pueden ser filamentosos y apenas diferenciables del micelio, no se forman sobre esporangioforos como el resto de los peronosporales, sino en las terminaciones de las hifas, o se encuentran intercaladas dentro o sobre el sustrato, no más gruesos que las ramas miceliales. Gilman (1985), manifiesta, que los esporangios, son esféricos o en forma de limón, en muchas especies los esporangios permanecen sobre el micelio, y en otras solamente en el agua sobre el micelio sumergido.

Gilman (1985), indican, que en los esporangios se da la reproducción asexual que se lleva a cabo, cuando estos alcanzan la madurez, el contenido aún no dividido se vierte en una vesícula lateral o terminal de paredes delgadas en la que tiene lugar la formación de zoosporas, que cuando están recién formadas se presenta en número de 125 por esporangio. Las zoosporas son biciliadas y llegan a germinar después de un periodo de enquistamiento, por medio de un tubo germinativo; el mismo que en algunas especies pueden dar lugar a una pequeña vesícula en las que se puede formar varias zoosporas secundarias, pudiéndose repetir este proceso varias veces, luego se rompen y liberan las zoosporas; característica principal de este grupo dice Saralosa (1975), es la no formación de zoosporas en el interior del zoosporangio.

- **Zoosporangios**

Saralosa (1975), manifiesta que los zoosporangios pueden ser terminales o intercalares, esféricos, subesféricos o elípticos, filamentosos, lobulados, más o menos hinchados.

- **Zoosporas**

Gilman (1985), dice que las zoosporas son uniformes con dos flagelos laterales, monoplanéticos, incoloras de movimiento uniforme.

- **Clamidósporas.**

Roberts (1978), señala que las clamidósporas son esporas vegetativas formadas directamente en el micelio, la punta de algunas ramas se hincha y se separa por un tabique, formando una estructura esférica cuyas paredes se engrosan, se endurecen y luego se separan del micelio, las mismas que quedan en latencia

1.3.2.2. Reproducción sexual

La reproducción sexual es heterogámica según Saralosa (1975). Se produce en hifas simples, de ramas cortas, esta se hincha en la punta formando una célula pequeña esférica, de acuerdo a Roberts (1978), hialina de superficie lisa, o con una mancha verrugosa, con un solo huevo y escaso periplasma denominado oogonio como lo manifiesta Gilman (1985). En el interior del oogonio

se forma gametos u oosferas; Fernández (1979), Saralosa (1975), indican que el anteridio u órgano masculino se produce en el talo oogonial; este se alarga y alcanza al oogonio en un número de uno o varios por cada oogonio, al cual le rodea parcialmente fijándose a la pared engrosada del oogonio por una secreción gelatinosa, y aquí luego desarrolla una pequeña rama de penetración que crece a través de la pared del oogonio, se pone en contacto con la oosfera a la cual fertiliza. La oosfera fecundada se transforma en huevo u oospora rodeándose de una membrana gruesa y verrugosa.

1.3.2.3. Taxonomía

Bold (1980), clasifica al género *Pythium sp.* de la siguiente manera:

Reino	Mycetae
División	Mastigomycotina
Subdivisión	Diplomastigomycotina
Clase	Oomycetes
Orden	Peronosporales
Familia	Pythiaceae
Género	<i>Pythium</i>
Especie	spp.

1.3.2.4. Patogénesis y síntomas

El tubo germinal de las esporas o el micelio saprofitico de *Pythium* entra en contacto con los tejidos de las plantas hospedantes ya sea al azar, o debido a que los exudados de éstas le sirvan al hongo como nutrientes y estimulantes para sus zoosporas y micelio, los cuales se mueven o crecen en dirección de las plantas. La infección inicial se produce a nivel de la superficie del suelo o por debajo de ella dependiendo del grado de humedad y la profundidad del cultivo; el micelio del hongo entra directamente en las células epidérmicas y corticales del tallo, nutriéndose así de la mayoría de los contenidos celulares, por lo tanto degradan las paredes celulares, desintegrando células y tejidos. (Agrios, 1997).

Según Agrios, lo anterior ocurre por la secreción de enzimas pectinolíticas por parte del hongo, las cuales degradan la lámina media que mantiene unida a las células dando como resultado la maceración de los tejidos.

En el momento en que las lesiones llegan al tejido vascular se observa decoloración, indicando la cercana muerte de la planta; mientras que cuando la invasión del hongo se da en la corteza del tallo subterráneo de la planta, esta puede durar y crecer durante un breve periodo de tiempo hasta que la lesión se extiende por arriba de la superficie del suelo; en tal caso, los tejidos invadidos y colapsados no tienen la capacidad de sostener la planta, por lo tanto, cae en el terreno y muere (Agrios, 1997).

1.3.3. *Fusarium* spp.

1.3.3.1. Características morfológicas

Fusarium oxysporum es un hongo fitopatógeno de la familia de los Deuteromycetes, se encuentra en forma natural en suelos cálidos, y convive junto con otros hongos considerados fitopatógenos, como es el caso de *Rhizoctonia*, *Rosellinia necatrix*, *Botrytis*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Sclerotium*, *Verticillium*, etc., entre los cuales existen factores de mortalidad biótico y abiótico, que en términos ecológicos es conocido como "resistencia al medio" y la "reposición del equilibrio" (www.bolpress.com).

Cuando se altera este equilibrio, por la mayor concentración poblacional de uno de los fitopatógenos; en este caso por la introducción de una cepa de *Fusarium oxysporum*; éste puede afectar desmesuradamente los tejidos vegetales o animales vivos o muertos, nuevos o parcialmente descompuestos, sobre o en el suelo, el número de sustratos o microhabitats presentes en diferentes suelos, bajo diferentes vegetaciones y en diferentes zonas climáticas. (www.bolpress.com).

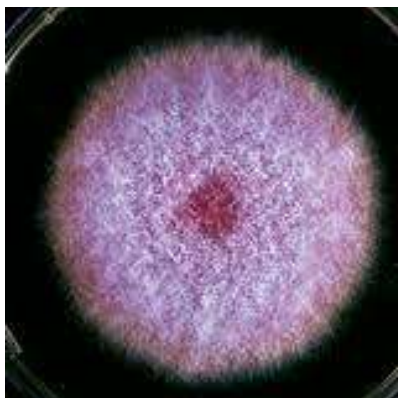


Figura 7-1 Caja de cultivo puro de *Fusarium* spp.

Fuente: Jessica Arcos

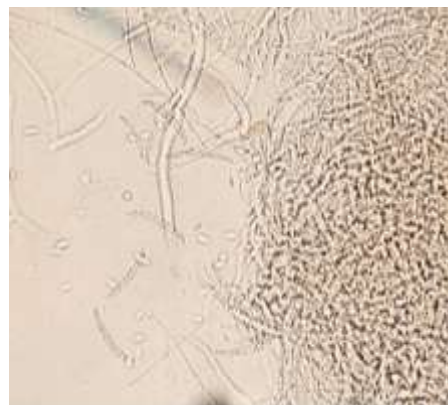


Figura 8-1 Aspecto microscópico de *Fusarium* sp.

Fuente: (Castro, 2005)

- **Conidioforos**

Según Fernández (1979), los conidioforos poseen una ramificación variable de simple fiálide lateral a células conidio genas poliblasticas en capas semigelatinosas. Walker (1965), añade que forma el cuerpo fructífero conocido como esporodoquio.

- **Conidias**

Las conidias según Saralosa (1975), se caracterizan por ser acrógenos y de dos tipos:

- **Macroconidios**

Son de forma muy variada, grandes, fusiformes, falcados, comúnmente pedicelados hialinos, tabicados de uno a siete tabiques según Saralosa (1975); con el extremo apical más o menos agudos, y en la base levemente escotado en el lugar de inserción con el conidioforo, manifiesta Fernández (1979).

- **Microconidios:**

Pequeños, hialinos, continuos o en glomérulos de uno a dos tabiques, de forma oval, oblonga, elípticos indicas Saralosa (1975); Fernández (1979), añade que las microconidias se encuentran sin tabiques.

1.3.3.2. Taxonomía

Bold (1980), clasifica al género *Fusarium* de la siguiente manera:

Reino	Mycetae
División	Amastigomycota
Subdivisión	Deuteromycotina
Clase	Deuteromycete
Subclase	Hyphomycetidae
Orden	Moniliales
Familia	Moniliaceae
Género	<i>Fusarium</i>
Especie	spp.

Walker (1965) indica que el género *Fusarium* comprende muchas especies y numerosas variedades dentro de cada especie que son saprofiticos o patógenos.

1.3.3.3. Patogénesis y síntomas

Fusarium sp. penetra la epidermis de las raíces, la corteza y endodermos, finalmente entra a los vasos del xilema, colonizando el sistema vascular, en el cual el fitopatógeno produce compuestos complejos que interfieren con la capacidad de la planta al traslocar la toma de agua y nutrientes; ocasionando la degradación de tejidos y la muerte (Ochoa, 1996).

Las hifas del hongo penetran directamente o a través de heridas hechas en forma mecánica o por nemátodos, insectos o miriápodos, la epidermis de las raíces, pasa a la corteza y a los endodermos y entran a los vasos del xilema invadiéndolos cuando están maduros. El patógeno coloniza el xilema de las plantas por crecimiento del micelio o por medio del transporte pasivo de las microconidias lo cual contribuye a la colonización no uniforme, generalmente un lado de la planta; el hongo deteriora los tejidos por medio de enzimas que degradan la pared celular como xilanasas entre otras y se comienzan a formar cavidades en las hojas y paredes lignificadas del tallo (Ochoa, 1996).

Los síntomas de la enfermedad aparecen de forma unilateral; se acompaña de un amarillamiento parcial de las hojas, a veces se observa una mitad clorótica y la otra verde normal y el doblamiento de los brotes hacia el lado de la planta enferma; a su vez se observa enanismo de éstos y disminución en el crecimiento de la planta, los síntomas avanzan lentamente por la planta hacia arriba hasta causar un marchitamiento generalizado y la muerte (Arbelaez, 2000).

1.3.4. *Rhizoctonia sp.*

1.3.4.1. Características morfológicas

Se caracterizan por presentar colonias blancas, algodonosas, planas, sin embargo, dependiendo de la especie, puede presentarse tonalidades cremas amarillentas. Por el envés de La caja se observa un crecimiento con una pigmentación amarilla más oscura (Castro, 2005)

Hifas relativamente anchas y tiene un modelo de la bifurcación característico. Se orientan las ramas de hifas perpendicularmente a su punto de origen y se estrechan a su base muestran una constitución de hifas entrelazadas, de diámetro variable, cortas, elípticas, semejantes a diminutos barriles dispuestos en cadena. (Castro, 2005)



Figura 9-1 Micelio de *Rhizoctonia* sp. al microscopio
Fuente: (Castro, 2005)

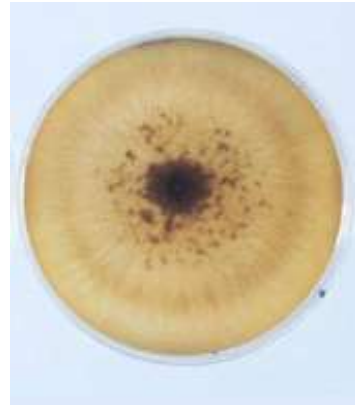


Figura 10-1 Caja de cultivo puro de *Rhizoctonia* sp.
Fuente: Jessica Arcos

1.3.4.2. Taxonomía

Reino:	Fungi
División:	Eumycota
Sub. División:	Deuteromycota
Sub. Clase:	Hyphomycetidae
Clase:	Hyphomycete
Orden:	Moliniales
Familia:	Agronomycetaceae
Genero:	<i>Rhizoctonia</i>

1.3.4.3. Patogénesis y Síntomas

Ataca principalmente en los primeros días de la plantación, se agrava si los esquejes se siembran muy enterrados. El hongo se favorece con altas temperaturas y vive a nivel del suelo. También ataca a plantaciones adultas con problemas de mal drenaje y altas temperaturas.

La planta se pone de color verde grisáceo y toma un aspecto de flacidez hasta que se marchitan completamente. Generalmente al arrancar la planta se separa fácilmente el sistema radicular del cuello, donde se nota una pudrición (Arias y Jerez 2008)

1.3.5. Pudrición de plántulas, damping – off, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium* (Complejo de hongos)

Las pudriciones de plántulas por estos patógenos son favorecidas por temperaturas entre 18° y 24° C, semilleros con altas densidades de siembra mantenidos en condiciones de poca luminosidad, y excesiva humedad del suelo. Los suelos de textura pesada y drenaje deficiente también favorecen el ataque de hongos causantes de esta pudrición.

Algunos de los hongos causantes de pudriciones (*Pythium sp.*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora infestans*) se diseminan en forma de clamidosporas en las semillas de tomate en suelo contaminado, a través del agua de riego a partir de los focos de infección en los semilleros, por la distribución de semilleros enfermos, y por herramientas usadas en suelo contaminado (FAO, 2010)

Según la FAO, cuando los patógenos atacan las semillas causan germinación desigual y su pudrición. Si los ataques se presentan después de la germinación, debilitan las plántulas al afectar las raíces. En esta etapa, el hongo *P. infestans* ocasiona estrangulamiento del cuello, necrosis del tallo y muerte de las plántulas de tomate. El hongo *Pythium sp.* causa desintegración de los tejidos cercanos a la base del tallo (figura 11-1). En ambos casos se observa un estrangulamiento en la base de la planta, necrosis de raíces, amarillamiento, marchitamiento y muerte prematura.



Figura 11-1 Daño por complejo de Hongos

Fuente: Laboratorio de diagnóstico de Plagas y Enfermedades Vegetales

Para el manejo cultural de esta enfermedad, se debe evitar el uso de suelos pesados para los semilleros, exceso de humedad y altas densidades de siembra. El suelo que se vaya a usar en los semilleros debe proceder de lotes donde no se haya cultivado antes, o de campos que hayan sido rotados con cultivos de maíz, que es tolerante a estos patógenos; debe ser, además, sometido a un tratamiento de solarización húmeda; y también puede ser inoculado con hongos biocontroladores. (FAO, 2010)

Si la pudrición de las plántulas se presenta en el semillero, se deben retirar y eliminar inmediatamente las plantas enfermas. Al momento del trasplante se debe ser cuidadoso en seleccionar plantas sanas para llevar al campo. Cuando las infecciones se presenten en el campo,

las plantas enfermas se deben retirar y eliminar inmediatamente para disminuir los focos de infección. Los lotes severamente afectados por estos patógenos del suelo deben ser sometidos a rotación con plantas menos susceptibles (FAO, 2010).

Es importante desinfectar con productos a base de hipoclorito de sodio o yodo agrícola, las bandejas para semillero y las canastillas en las cuales se transportan y comercializan las hortalizas.

1.3.6. Método de extracción de saponinas

Según Caldas (2012), la extracción es la técnica más empleada para separar un producto orgánico de una mezcla de reacción o para aislarlo desde sus fuentes naturales. Puede definirse también como la separación de un componente de una mezcla en medio de un disolvente. Los métodos de extracción pueden ser de 2 tipos:

- Extracción líquido-líquido.
- Extracción sólido-líquido.

3.3.6.1. Descripción del equipo de extracción

El equipo Soxhlet tiene como función recircular los vapores condensados con ayuda de un sifón a la fuente de disolvente que se encuentra en evaporación continua, arrastrando consigo los principios activos de la materia prima contenido en los cartuchos desechables. La capacidad aproximada en un equipo de laboratorio es de 500 ml de volumen primario con una recirculación de 100 ml cada cinco minutos aproximadamente en estado estable. La velocidad de reflujo depende directamente de la eficiencia y el tamaño del condensador. La sustancia sólida se introduce en un cartucho poroso (generalmente hecho con papel de filtro, que permite al solvente entrar y salir reteniendo al sólido) que se coloca dentro del recipiente (B). Se adosa un balón (C) a dicho recipiente donde se coloca el volumen de solvente que se utilizará en la extracción. Por el extremo superior del recipiente (B), se coloca un condensador (D). El solvente se calienta, los vapores ascienden por el tubo (E), condensan en el refrigerante (D) y caen dentro del recipiente (B) impregnando al sólido que se encuentra en el cartucho (A). EL recipiente (B) se va llenando lentamente de líquido hasta que llega al tope del tubo (F) y se descarga dentro del balón (C) repite automáticamente hasta que la extracción se completa. El solvente de extracción se evapora, recuperando así a la sustancia deseada (Caldas 2012).

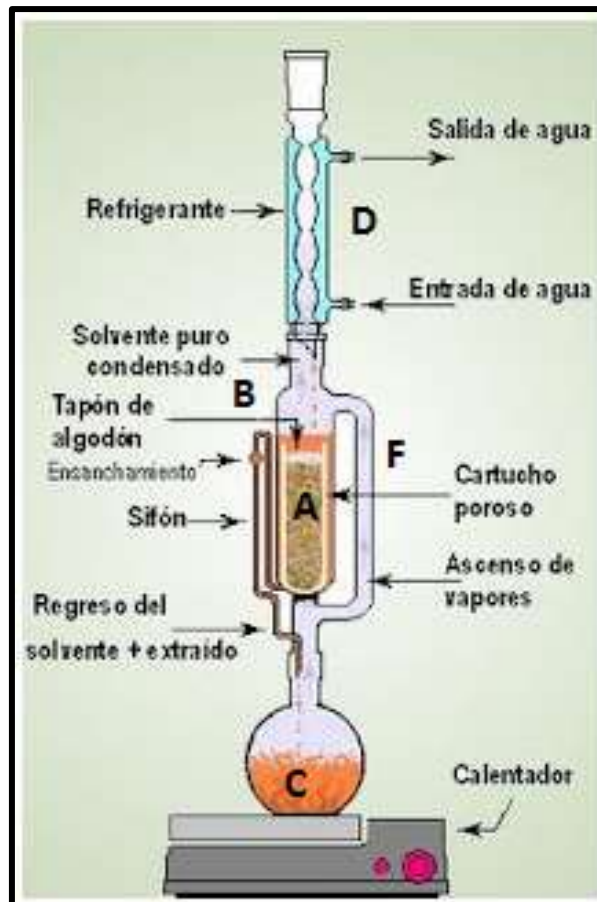


Figura 12-1 Extracción por el método de Soxhlet

Fuente <http://procesosbio.wikispaces.com/Extracci%C3%B3n+s%C3%B3lido-l%C3%ADquido>

3.3.6.1 Ventajas del método de Soxhlet

Según Caldas (2012) manifiesta que el método Soxhlet es eficiente por:

- Gran capacidad de recuperación e instrumentación simple.
- No se requiere filtración posterior. El disolvente orgánico se evapora quedando sólo analito.
- El disolvente y la muestra están en contacto íntimo y repetido. De manera que se mejora muchísimo la extracción porque siempre se emplea un disolvente limpio.
- El disolvente proviene de una condensación luego es líquido y está caliente.
- Favorece la solubilidad del analito.

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Metodología

2.1.1. Tipo y diseño de investigación

Por el tipo de investigación: Aplicada porque tiene como fin directo determinar la actividad antifúngica de las saponinas de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) frente a los agentes causales del Damping off (*Fusarium* spp., *Rhizoctonia* sp., *Phyitium* sp.) para su mejor aprovechamiento como fungicida de carácter orgánico y amigable con el medio ambiente

Por la temporalidad: Longitudinal, porque se recolectó datos a través del tiempo en periodos especificados para hacer inferencias en cuanto la concentración de las saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) para verificar su efectividad.

Por el tipo de enfoque: Cualitativo por la determinación de las características físicas de los extractos de la cáscara de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) y del grano su determinación de la actividad antifúngica; Cuantitativo al registrar los datos de crecimiento radial de cada uno de los patógenos en las diferentes concentraciones en función del tiempo, y por la determinación de la dosis eficaz.

Por el diseño de la Investigación: Experimental.

2.1.2. Localización de la experimentación

La investigación del presente trabajo de titulación se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

2.1.3. Diseño Experimental

Se utilizó un Diseño Completo al azar (DCA) porque las condiciones en las que se efectúa el experimento son homogéneas con 51 tratamientos de 4 extractos de las saponinas de la cáscara

de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) y del grano a concentraciones del 100%, 50%, 25 % y 12,5%, todas con 3 repeticiones y los testigos absolutos de los 3 patógenos (*Fusarium spp.*, *Pythium sp.*, *Rhizoctonia sp.*). Diseño Experimental

Tabla 1-2 Número de Tratamientos para la determinación de la actividad antifúngica de las saponinas frente a los agentes causales del damping off (*Fusarium spp.*, *Pythium sp.*, *Rhizoctonia sp.*)

T	CODIGO	DESCRIPCION
1	ECD1F	Extracto etanólico de cáscara de quinua al 100% frente a <i>Fusarium spp</i>
2	ECD2F	Extracto etanólico de cáscara de quinua al 50% frente a <i>Fusarium spp</i>
3	ECD3F	Extracto etanólico de cáscara de quinua al 25% frente a <i>Fusarium spp</i>
4	ECD4F	Extracto etanólico de cáscara de quinua al 12.5% frente a <i>Fusarium spp</i>
5	EQD1F	Extracto etanólico del grano quinua al 100% frente a <i>Fusarium spp</i>
6	EQD2F	Extracto etanólico del grano quinua al 50% frente a <i>Fusarium spp</i>
7	EQD3F	Extracto etanólico del grano quinua al 25% frente a <i>Fusarium spp</i>
8	EQD4F	Extracto etanólico del grano quinua al 12.5% frente a <i>Fusarium spp</i>
9	ACD1F	Extracto acuoso de cáscara de quinua al 100% frente a <i>Fusarium spp</i>
10	ACD2F	Extracto acuoso de cáscara de quinua al 50% frente a <i>Fusarium spp</i>
11	ACD3F	Extracto acuoso de cáscara de quinua al 25% frente a <i>Fusarium spp</i>
12	ACD4F	Extracto acuoso de cáscara de quinua al 12.5% frente a <i>Fusarium spp</i>
13	AQD1F	Extracto acuoso del grano de quinua al 100% frente a <i>Fusarium spp</i>
14	AQD2F	Extracto acuoso del grano de quinua al 50% frente a <i>Fusarium spp</i>
15	AQD3F	Extracto acuoso del grano de quinua al 25% frente a <i>Fusarium spp</i>
16	AQD4F	Extracto acuoso del grano de quinua al 12.5% frente a <i>Fusarium spp</i>
17	TF	Testigo <i>Fusarium sp.</i>
18	ECD1P	Extracto etanólico de cáscara de quinua al 100% frente a <i>Pythium sp.</i>
19	ECD2P	Extracto etanólico de cáscara de quinua al 50% frente a <i>Pythium sp.</i>
20	ECD3P	Extracto etanólico de cáscara de quinua al 25% frente a <i>Pythium sp.</i>
21	ECD4P	Extracto etanólico de cáscara de quinua al 12.5% frente a <i>Pythium sp.</i>
22	EQD1P	Extracto etanólico del grano de quinua al 100% frente a <i>Pythium sp.</i>
23	EQD2P	Extracto etanólico del grano de quinua al 50% frente a <i>Pythium sp.</i>
24	EQD3P	Extracto etanólico del grano de quinua al 25% frente a <i>Pythium sp.</i>
25	EQD4P	Extracto etanólico del grano de quinua al 12.5% frente a <i>Pythium sp.</i>
26	ACD1P	Extracto acuoso de cáscara de quinua al 100% frente a <i>Pythium sp.</i>
27	ACD2P	Extracto acuoso de cáscara de quinua al 50% frente a <i>Pythium sp.</i>
28	ACD3P	Extracto acuoso de cáscara de quinua al 25% frente a <i>Pythium sp.</i>
29	ACD4P	Extracto acuoso de cáscara de quinua al 12.5% frente a <i>Pythium sp.</i>
30	AQD1P	Extracto acuoso del grano de quinua al 100% frente a <i>Pythium sp.</i>
31	AQD2P	Extracto acuoso del grano de quinua al 50% frente a <i>Pythium sp.</i>
32	AQD3P	Extracto acuoso del grano de quinua al 25% frente a <i>Pythium sp.</i>
33	AQD4P	Extracto acuoso del grano de quinua al 12.5% frente a <i>Pythium sp.</i>
34	TP	Testigo <i>Pythium sp.</i>
35	ECD1R	Extracto etanólico de cáscara de quinua al 100% frente a <i>Rhizoctonia sp.</i>
36	ECD2R	Extracto etanólico de cáscara de quinua al 50% frente a <i>Rhizoctonia sp.</i>
37	ECD3R	Extracto etanólico de cáscara de quinua al 25% frente a <i>Rhizoctonia sp.</i>
38	ECD4R	Extracto etanólico de cáscara de quinua al 12.5% frente a <i>Rhizoctonia sp.</i>
39	EQD1R	Extracto etanólico del grano de quinua al 100% frente a <i>Rhizoctonia sp.</i>
40	EQD2R	Extracto etanólico del grano de quinua al 50% frente a <i>Rhizoctonia sp.</i>
41	EQD3R	Extracto etanólico del grano de quinua al 25% frente a <i>Rhizoctonia sp.</i>
42	EQD4R	Extracto etanólico del grano de quinua al 12.5% frente a <i>Rhizoctonia sp.</i>
43	ACD1R	Extracto acuoso de cáscara de quinua al 100% frente a <i>Rhizoctonia sp.</i>
44	ACD2R	Extracto acuoso de cáscara de quinua al 50% frente a <i>Rhizoctonia sp.</i>
45	ACD3R	Extracto acuoso de cáscara de quinua al 25% frente a <i>Rhizoctonia sp.</i>
46	ACD4R	Extracto acuoso de cáscara de quinua al 12.5% frente a <i>Rhizoctonia sp.</i>
47	AQD1R	Extracto acuoso del grano de quinua al 100% frente a <i>Rhizoctonia sp.</i>

48	AQD2R	Extracto acuoso del grano de quinua al 50% frente a <i>Rhizoctonia</i> sp.
49	AQD3R	Extracto acuoso del grano de quinua al 25% frente a <i>Rhizoctonia</i> sp.
50	AQD4R	Extracto acuoso del grano de quinua al 12.5% frente a <i>Rhizoctonia</i> sp.
51	TR	Testigo <i>Rhizoctonia</i> sp.

Fuente: Realizado por Jessica Arcos

Donde T corresponde a Tratamientos

2.1.4. Unidad de análisis

- Concentración de las saponinas de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd)
- Material Biológico: Aislamiento y purificación de *Fusarium* spp
- Material Biológico: Aislamiento y purificación de *Rhizoctonia* sp.
- Material Biológico: Aislamiento y purificación de *Pythium* sp.

2.1.5. Población de estudio

La población correspondió a los extractos de saponinas acuosos y etanólicos obtenidos a partir de la cáscara y del grano de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) en 4 concentraciones V/V 100%, 50 %, 25% y 12,5%.

2.1.6. Tamaño de muestra

- Aislamiento y purificación de *Fusarium* spp.
- Aislamiento y purificación de *Rhizoctonia* sp.
- Aislamiento y purificación de *Pythium* sp.
- Concentración de las saponinas de la quinua.

Se realizó la extracción de las saponinas de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) a 4 concentraciones V/V de 100%, 50%, 25% y 12.5% con 3 repeticiones

2.1.7. Selección de muestra

De los patógenos purificados y almacenados a 4°C en cajas petri que contenían PDA se tomó una caja de cada uno de los patógenos para ser reactivadas en medios agarizados y realizar la prueba de ritmo de crecimiento radial y pruebas de dosis eficaz

2.1.7.1. Material Biológico

El material biológico estuvo conformado por el aislamiento y purificación de *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp. fueron obtenidas de muestras de suelo y de tubérculos de papa

(*Solanum tuberosum*) de localidades cercanas al cantón Riobamba.

2.2. Técnica de Recolección de datos

2.2.1. Fase de Laboratorio

- Aislamiento y purificación de los hongos *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp.
- Determinación del ritmo de crecimiento radial de los hongos patógenos.
- Determinación método de extracción de las saponinas presentes en la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd).
- Determinación de la actividad antifúngica de las saponinas frente a *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* sp. y *Pythium* sp.

2.2.2. Tratamiento estadístico de datos

- Curva de regresión lineal ajustada para la determinación de la dosis eficaz 50 para cada uno de los patógenos frente a cada uno de los extractos de cáscara y grano de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd), para el cálculo de la DE₅₀ de los extractos de la cáscara de la quinua y quinua frente al crecimiento radial de *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* sp. y *Pythium* sp.
- Análisis de varianza que sirve para medir la variación total de las observaciones, la que se divide en sus componentes, quedando el residuo como error experimental. Este análisis indica la relación entre una variable dependiente (Actividad antifúngica) y uno o más factores independientes (extractos de la cáscara y del grano de quinua *Chenopodium quinoa* Willd).
- Prueba de separación de medias mediante Tukey al 5% empleado para determinar las diferencias existentes entre las medias de los tratamientos realizados.

2.2.2. Mecanismos

2.2.2.1. Aislamiento y purificación de *Fusarium* spp. y *Pythium* sp.

- Una porción de suelo de cada muestra se secó a temperatura ambiente, y se tamizó.
- Se pesó 10 g de suelo y se los colocó en un erlenmeyer con 90 mL de agua destilada estéril.
- Se agitó la suspensión terrosa por 20 minutos y luego se la dejó reposar por 5 minutos.

- Utilizando la cámara de aislamiento previamente desinfectada, se prepararon las cajas petri colocando 1 mL de la suspensión terrosa y sobre está 15 mL de medio PDA para *Fusarium* spp. y *Pythium* sp.
- Se repartió de modo uniforme la muestra con movimientos circulares en la caja petri.
- Las cajas petri fueron selladas e incubadas a $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ hasta el aparecimiento de colonias características.
- Mediante replicas sucesivas en PDA se obtuvieron cultivos puros de cada uno de los patógenos.
- Se procedió a la identificación de *Fusarium* spp. y *Pythium* sp., mediante la utilización del microscopio y el uso de claves.

2.2.2.2. Aislamiento y purificación de *Rhizoctonia* sp.

- Se utilizó muestra de tubérculo de papa (*Solanum tuberosum*) con presencia de esclerocios, estructuras características del patógeno.
- El material vegetal fue lavado en agua corriente durante 10 minutos, luego fue sometido a desinfección en una solución de cloro al 10% durante 5 minutos, para posteriormente enjuagarlo abundantemente con agua destilada estéril.
- Con la ayuda de un bisturí se procedió a retirar porciones de esclerocios los mismos que fueron colocados en cajas petri que contenían 15 mL de PDA solidificado.
- Las cajas petri fueron selladas e incubadas a $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ hasta el aparecimiento de colonias características.
- Mediante replicas sucesivas en PDA se obtuvo cultivo puro del patógeno.
- Se procedió a la identificación de *Rhizoctonia* sp., mediante la utilización del microscopio y el uso de claves.

2.2.2.3. Determinación del Ritmo de Crecimiento

- De los 3 hongos patógenos (*Fusarium* spp., *Rhizoctonia* sp. y *Pythium* sp.), se retiraron discos de 2 mm de diámetro de micelio joven con la ayuda de un sacabocados, para inocularlo al centro de cada una de las cajas con aproximadamente 15 mL de PDA.
- Se registraron los datos correspondientes al ritmo de crecimiento radial de las colonias en esquemas elaborados, cuyos valores son expresados en mm.

- Los datos fueron tomados en intervalos de 24 horas durante 120 horas de 4 radios marcados en cruz de cada colonia.
- Cada prueba estuvo constituida por tres repeticiones

2.2.2.4. Extracción mediante el método de Soxhlet

- Se pesó las muestras de cáscara y del grano de quinua, en un cartucho de extracción que se fabricó en el laboratorio con papel filtro cortando un cuadrado de aproximadamente unos 10 cm de lado. Tras haber sido cerrado, plegándolo hasta formar el pequeño cartucho, se colocó en la pieza media del dispositivo.
- Se llenó en el matraz con una cantidad suficiente de disolvente (alcohol al 95%) aproximadamente 300 mL al 30% (210 mL de agua y 90 mL de alcohol) y se acopla al dispositivo.
- Se procedió a completar el montaje del dispositivo colocando un condensador, tras el montaje se pone en marcha el reverbero y se regula el caudal de agua del reflujo. El solvente, una vez que alcanza su temperatura de ebullición, se evapora y llega al refrigerante condensándose y cayendo en el compartimento del cartucho de muestra.
- Durante la extracción, se observó cómo se vació regularmente el espacio de extracción (compartimento de muestra), es decir, la pieza media del dispositivo, a través del conducto ascendente (asa) con lo que el disolvente va recirculando completando el ciclo de extracción.

2.2.2.5. Extracto etanólico de la cáscara de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*)

Se preparó el extracto etanólico utilizando 30 gramos de la cáscara de quinua para obtener un volumen de 300 mL mediante extracción en Soxhlet.

2.2.2.6. Extracto etanólico del grano de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*)

Se preparó el extracto etanólico utilizando 150 gramos de quinua para obtener un volumen de 300 mL mediante extracción en Soxhlet.

2.2.2.7. Extracto acuoso de la cáscara de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*)

Se preparó el extracto acuoso utilizando 30 gramos de la cáscara de quinua para obtener un volumen de 300 mL mediante extracción en Soxhlet.

2.2.2.8. Extracto acuoso del grano de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*)

Se preparó el extracto acuoso utilizando 150 g gramos de quinua para obtener un volumen de 300 mL mediante extracción en Soxlet.

Las concentraciones para cada extracto se realizaron como indica la tabla

Tabla 2-2 Concentración porcentual del extracto para cada dosis ensayada

Concentración	Contenido por erlenmeyer
100%	60 mL de extracto puro
50%	30 mL de extracto puro + 30 mL de agua destilada
25%	15 mL de extracto puro + 45 mL de agua destilada
12,5%	7,5 mL de extracto puro + 52,5 mL de agua destilada

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

2.2.2.9. Evaluación de la Actividad Antifúngica

Tomando en consideración referencias bibliográficas y conocimientos tradicionales sobre las propiedades antisépticas de las saponinas de la cáscara y del grano de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) se aísla en cultivo puro los agentes patógenos (*Fusarium* spp., *Rhizoctonia* sp. y *Pythium* sp.).

2.2.2.10. Preparación del Medio de Cultivo

- Concentración al 100%, consistió en 60 mL del extracto puro + 2.34 g PDA
- Concentración al 50%, consistió en 30 mL del extracto puro + 30 mL de agua destilada esteril + 2.34 g PDA
- Concentración al 25%, consistió en 15 mL del extracto puro + 45 mL de agua destilada esteril + 2.34 g PDA
- Concentración al 12.5%, consistió en 7.5 mL del extracto puro + 52.5 mL de agua destilada esteril + 2.34 g PDA

2.2.2.11. Determinación de la Actividad Antifúngica

- Se pesó 2.34 g de medio PDA y se colocó en cada erlenmeyer los extractos con las concentraciones requeridas (100%, 50%, 25% y 12,5%).
- Se esterilizó en autoclave a 15 PSI y 121°C
- Se dejó solidificar e inocular una porción de micelio joven de los patógenos *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* sp. y *Pythium* sp. de mayor crecimiento radial con la ayuda de un sacabocado de 2 mm de diámetro en el centro de la caja petri y se selló.
- Se incubó en estufa microbiológica a una temperatura de $27\pm 1^\circ\text{C}$. Cada tres días se midió el ritmo de crecimiento de los patógenos hasta completar los nueve días.

2.2.2.12. Determinación de la DE_{50} de los extractos de la cáscara y del grano de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*)

La dosis eficaz 50 no es más que la capacidad que tiene los extractos de inhibir el crecimiento del 50% del micelio que se calcula por medio de la curva de regresión lineal.

2.2.2.13. Ensayo de la espuma

Las muestras encontradas en alcohol se diluyó 5 veces su volumen con agua y se agitó la muestra fuertemente durante 5-10 minutos, para las muestras acuosas se agitó fuertemente durante 5-10 minutos, si las muestras presentan espuma se considerara positivo.

CAPÍTULO III

3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1. Análisis y discusión de resultados

3.1.1. Extractos

3.1.1.1 Análisis Organoléptico

Valiéndose de los sentidos; olfato, gusto y visión se realizó el análisis organoléptico el mismo que se indica en la tabla 1-3.

Tabla 1-3 Análisis Organoléptico de los extractos etanólicos y acuosos de la cáscara y del grano de la quinua (*Chenopodium quinoa Willd*)

Parámetro	Extracto etanólico de la cáscara de quinua (<i>Chenopodium quinoa Willd</i>)	Extracto etanólico del grano de quinua (<i>Chenopodium quinoa Willd</i>)	Extracto acuso de la cáscara de quinua (<i>Chenopodium quinoa Willd</i>)	Extracto acuso del grano de quinua (<i>Chenopodium quinoa Willd</i>)
Color	Café oscuro	Amarillo	Café Claro	Amarillo claro
Olor	Herbáceo	A cereal	Herbáceo	Rancio
Aspecto	Resinoso	Resinoso	Resinoso	Resinoso

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

3.1.2. Pruebas Cualitativas

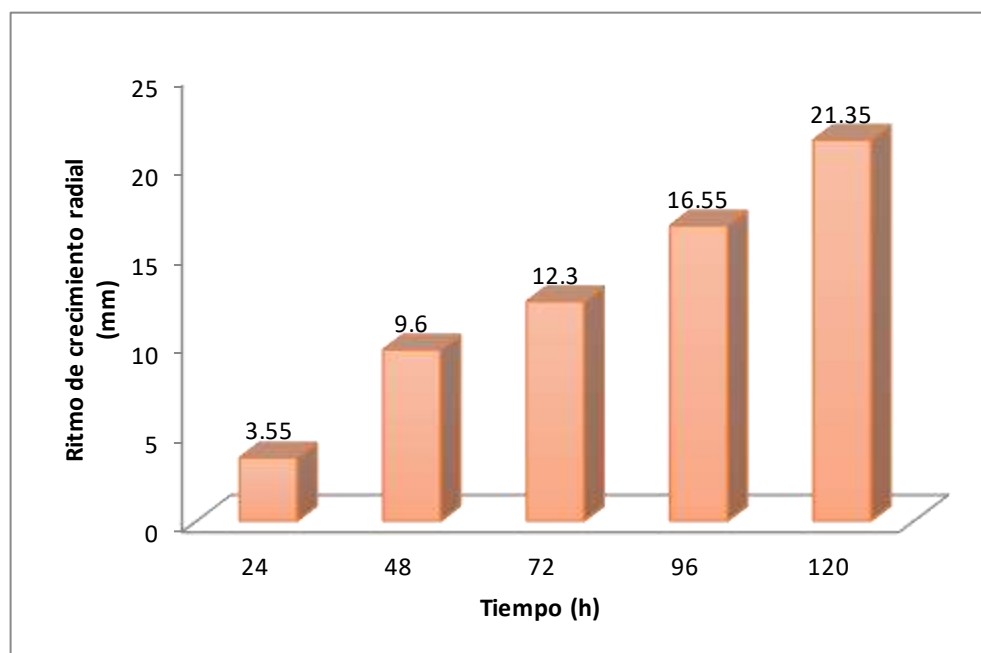
3.1.2.1 Ensayo de la espuma

El ensayo se consideró positivo por el apareamiento de espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos. (Bonifaz, 2011). EL mismo procedimiento se realizó con el extracto acuoso obteniéndose también presencia de saponinas, estos se consideran detergentes naturales con propiedades tesoactivas que contienen compuestos liposolubles como acuosolubles.

3.1.3. Pruebas de Crecimiento Radial

De las cajas petri con los patógenos en cultivo puro se volvió a sembrar porciones de micelio joven en cajas petri. Se realizó las pruebas de crecimiento radial en medio PDA a $27 \pm 1^\circ\text{C}$.

3.1.3.1 *Fusarium* sp.



Gráfica 2-3 Crecimiento radial de *Fusarium* spp. en medio PDA a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ de 0 a 120 h

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

En la gráfica 1-3 se observa el crecimiento radial del patógeno obteniendo como resultado que a las 0 horas se tiene el radio del micelio joven colocado con el sacabocado de 2mm, a las 24 horas hay un crecimiento radial de 3,55 mm, a las 48 horas llega a 9,6 mm. El crecimiento del patógeno avanza de manera constante hasta llegar a las 120 horas con un crecimiento total de 21.35 mm, tomando en cuenta que siempre se mantuvo en incubación.

Dicho patógeno presenta un crecimiento radial promedio de 4.45 mm por día, estos datos nos indican que el crecimiento es lento porque presenta un crecimiento de 47,44%, valores que coinciden en las investigación de Benavides (2001) “EVALUACIÓN DE SOLARIZACIÓN Y *Trichoderma harzianum* Rifai PARA EL CONTROL DE *Sclerotinia Sclerotiorum* (Lib) De Bary., Y EL COMPLEJO DAMPING-OFF *Fusarium* spp., *Pythium* spp, EN LECHUGA (*Lactuca sativa* L.) IN VITRO Y EN SEMILLERO, EN EL CANTÓN CHAMBO, PROVINCIA DE CHIMBORAZO” donde determinó que a las 120 horas el patógeno presentó un promedio de crecimiento de 30.25 mm, ocupando el 67.2% del espacio disponible en la caja considerándolo de lento crecimiento, al igual que Pesántez (2000) “Tesis pruebas in vitro de la eficacia de tres especies de *Trichoderma* y Benomyl en el control de *Fusarium* agente causal de pudriciones radiculares” y Rivas (1994) “Pruebas de antagonismo in vitro de *Trichoderma* spp., aislados de la zona de Chambo frente a *Fusarium* spp., *Sclerotinia Sclerotiorum*., *Sclerotium ceviporum*, *Pythium* spp. y *Rhizoctonia* spp”

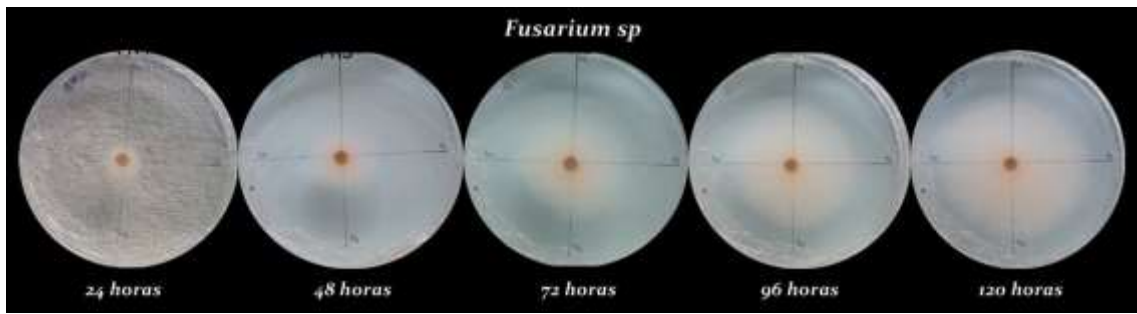
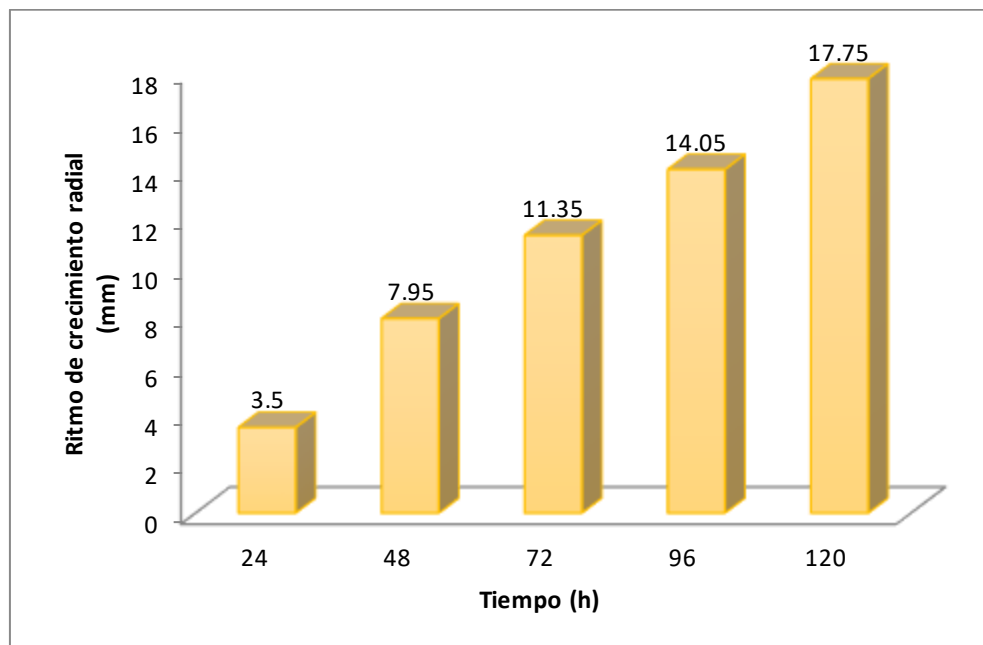


Figura 1-3 Ritmo de crecimiento radial de *Fusarium* sp. en medio PDA a temperatura de $27\pm 1^\circ\text{C}$

Realizado por Jessica Arcos, 2016

3.1.3.2. *Pythium* sp.



Gráfica 3-3 Crecimiento radial de *Pythium* sp. en medio PDA a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ de 0 a 120 h

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

En la gráfica 2-3 se observa el crecimiento radial del patógeno a las 0 horas un radio de 2mm de micelio joven, a las 24 horas hay un mínimo crecimiento radial de 3,55 mm, a las 48 horas llega a 7,95 mm. El crecimiento del patógeno avanza constantemente hasta llegar a las 120 horas con un crecimiento total de 17,75 mm en la temperatura ya establecida.

El patógeno presenta un crecimiento radial promedio de 3,56 mm por día, los datos obtenidos nos indican que el crecimiento es lento con un valor de 39,44 % de la capacidad total de la caja Petri, los valores obtenidos coinciden con Benavides (2001) quien reporta que para *Pythium* sp. el crecimiento fue del 31,6% del espacio disponible al cabo de 120 horas al igual que Valle (2003)

en su investigación “DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE LOS RESIDUALES DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES DE EUCALIPTO, MOLLE Y PROMERO SOBRE (*Fusarium sp*; *Pythium sp*; *Rhizoctonia sp*; *Sclerotium sp.*) AGENTES CAUSALES DE MAL DE ALMACIGO EN CONDICIONES DE LABORATORIO” pero difiere con la investigación realizada por Gallegos (1997) “Pruebas de antagonismo in vitro de (*Trichoderma spp.*) aislados en la zona de Cajabamba frente a (*Fusarium spp.* *Pythium spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Sclerotinia Sclerotiorum* y *Sclerotium cepivorum*).” donde considera que el patógeno estudiado presenta un comportamiento agresivo porque coloniza la caja al cabo de 36 horas, esta diferencia puede deberse al origen de la cepa y a las condiciones en las cuales fueron realizados los experimentos.

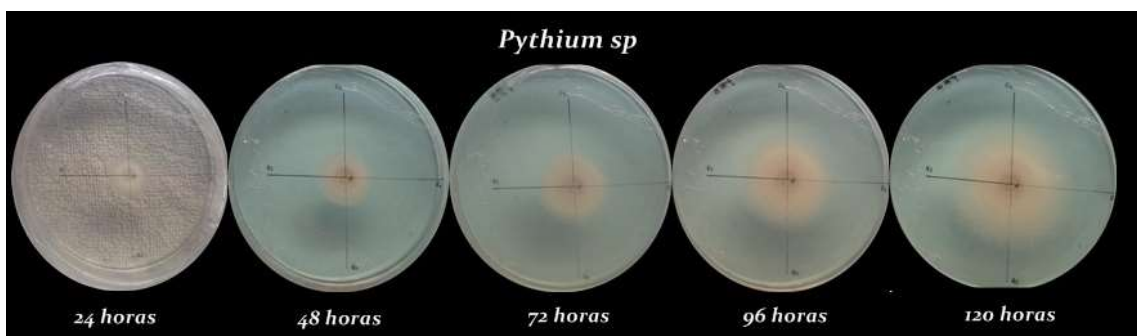
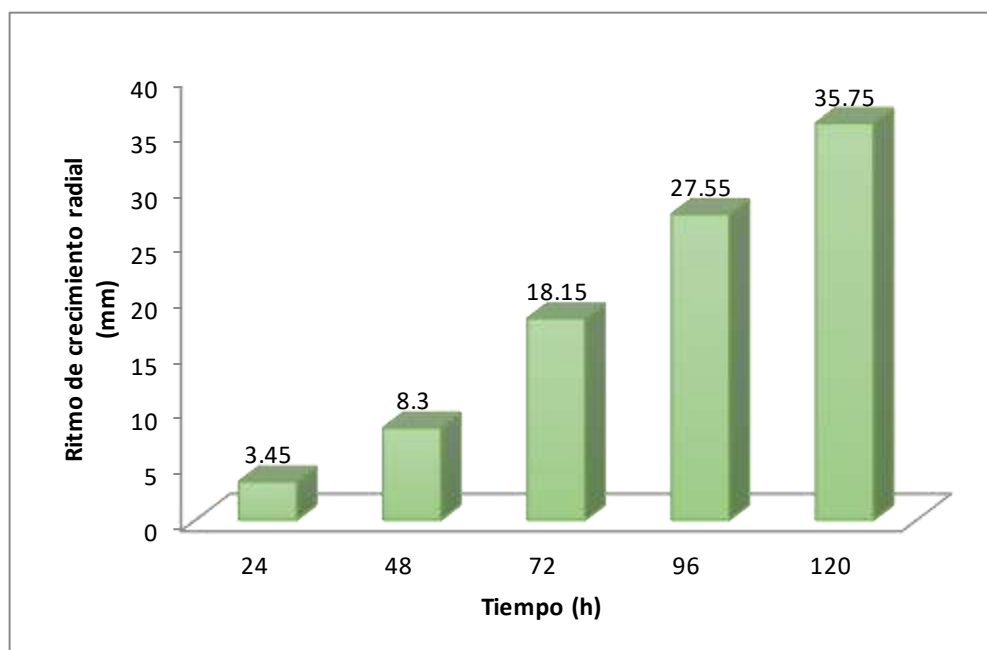


Figura 2-3 Ritmo de crecimiento radial de *Pythium sp.* en medio PDA a temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

3.1.3.3. *Rhizoctonia sp.*



Gráfica 4-3 Crecimiento radial de *Rhizoctonia sp.* en medio PDA a $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 0 a 120 h
Realizado por: Jessica Arcos, 2016

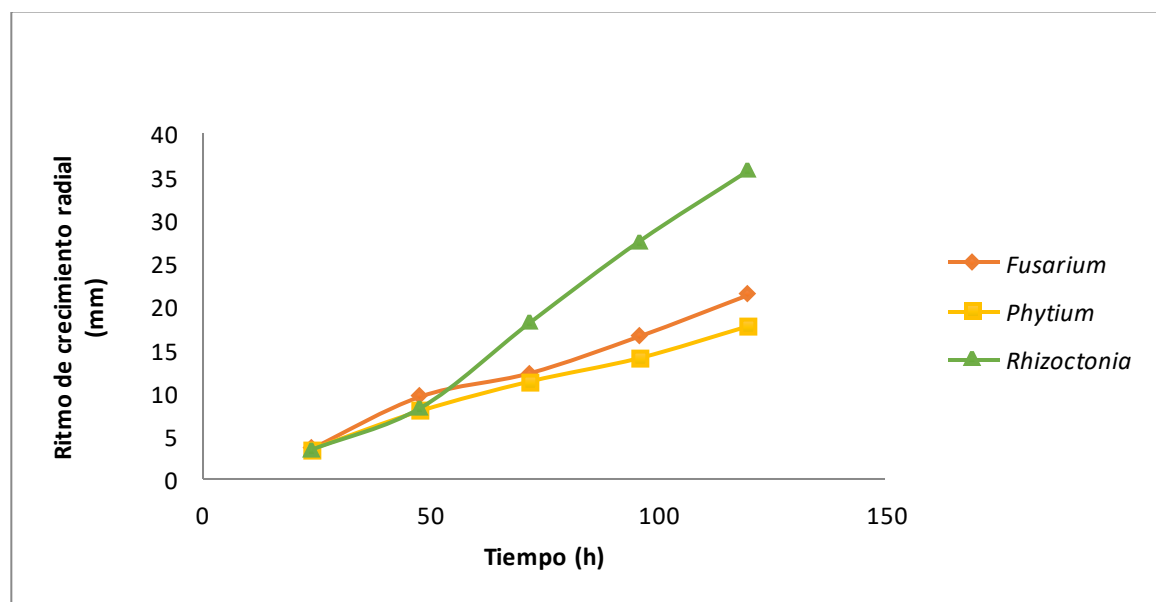
En la gráfica 3-3 se observa el crecimiento radial del patógeno dando como resultado que a las 0 horas posee un radio de 2mm de micelio joven, a las 24 horas presenta un crecimiento radial de 3,45 mm, a las 48 horas llega a 8,30 mm. El crecimiento del patógeno es constante hasta alcanzar las 120 horas con un crecimiento total de 35,75 mm.

El patógeno presenta un crecimiento radial promedio de 8,08 mm por día, los datos obtenidos indican que el crecimiento es más rápido en comparación con los otros patógenos (*Fusarium* spp. y *Pythium* sp.), valores que coinciden con Gallegos (1997) que menciona que llega a cubrir la mitad de la caja Petri en 84 horas asegurando que es de rápido crecimiento, por el contrario según Rivas (1997) *Rhizoctonia* sp. presenta un crecimiento lento y Benavides (2001) reportan que el mismo patógeno en estudio solo llega a ocupar el 52,65 % del espacio disponible en la caja Petri al cabo de 120 horas.



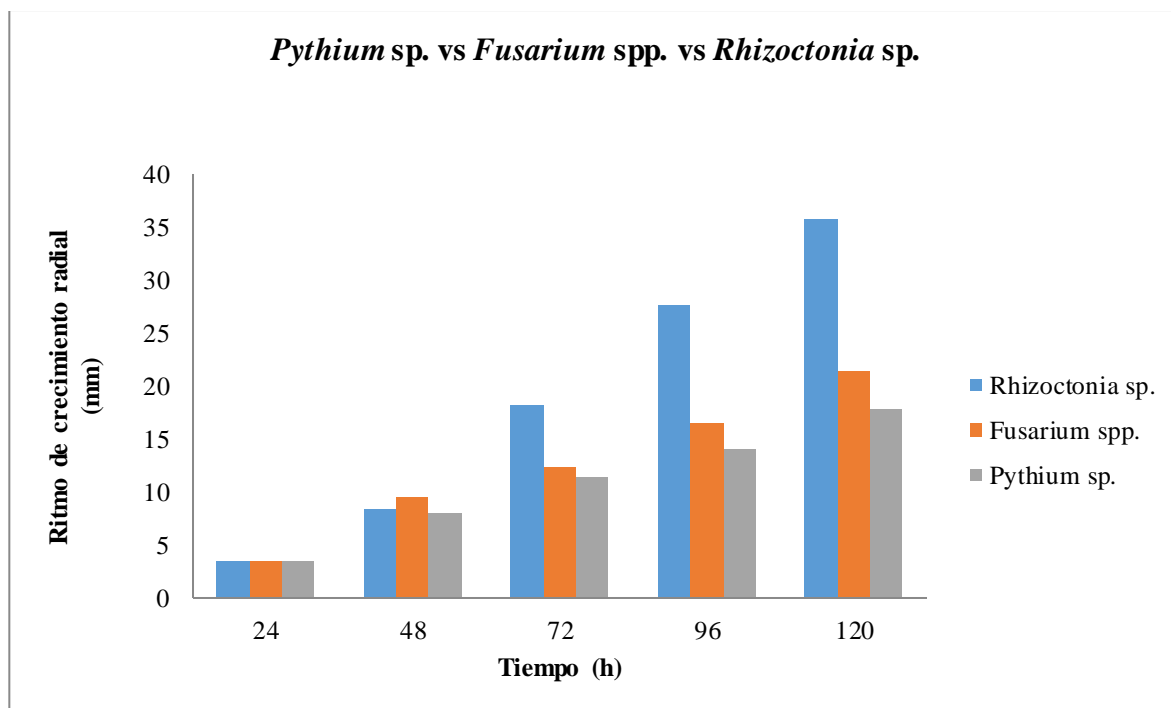
Figura 13-3 Ritmo de crecimiento radial de *Rhizoctonia* sp. en medio PDA a temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$

Realizado por: Jessica Arcos, 2016



Gráfica 5-3 Comparación del ritmo de crecimiento radial de *Fusarium* spp., *Pythium* sp. y *Rhizoctonia* sp.

Realizado por Jessica Arcos, 2016



Gráfica 6-3 Ritmo de crecimiento radial de los hongos patógenos desde las 0 h a 120 h

Fuente: Jessica Arcos.

Como se puede observar en la gráfica 4-3 y gráfica 5-3 cada patógeno posee un crecimiento radial diferente, *Rhizoctonia sp.* tiene un promedio de crecimiento diario de 8,08 mm resultando ser el patógeno con más rápido crecimiento frente a *Fusarium spp.* que presentó un 55,07% y *Pythium sp.* con 44,05% respectivamente de crecimiento más lento.

Los datos obtenidos en la presente investigación sobre el crecimiento radial de los hongos *Fusarium spp.*, *Pythium sp.* y *Rhizoctonia sp.* concuerdan con los datos obtenidos por Rivas (1994) que manifiesta que *Fusarium spp.* y *Pythium sp.* son patógenos de lento crecimiento pero difiere en el caso de *Rhizoctonia sp.* porque presentó un crecimiento del 74,44% al cabo de 120 horas, esto coincide con Gallegos (1997) que indica que para *Rhizoctonia sp.* muestra un crecimiento agresivo.

3.1.4. Actividad antifúngica de las saponinas presentes en el extracto etanólico y extracto acuoso de la cáscara y del grano de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) frente a *Fusarium spp.*, *Pythium sp.* y *Rhizoctonia sp.*

El análisis de varianza para la actividad antifúngica de las saponinas presentes en la cáscara y en el grano de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) sobre *Fusarium spp.*, *Pythium sp.* y *Rhizoctonia sp.* a las 144 horas presentaron diferencias altamente significativas, con una media general de 17,54 mm y un coeficiente de variación de 12,21% (Tabla 4-3).

Tabla 2-3 Análisis de varianza de la actividad antifúngica de las saponinas para *Fusarium spp.*, *Pythium sp.* y *Rhizoctonia sp.* a las 144 horas

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio del error	F calculado
Tratamientos	50	29112,777	582,256	126,917 **
Error	102	467,944	4,588	
Total	152	29580,721		

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

** Altamente significativo

Coefficiente de variación = 12,21%

La prueba de Tukey al 5% revela la existencia de 17 rangos, el nivel A pertenece aquellos tratamientos que no controlan el crecimiento del patógeno, mientras que el nivel Q corresponde a los tratamientos que inhiben el crecimiento del patógeno. Rangos que se muestran en la Tabla 5-3.

Tabla 3-3 Prueba de Tukey al 5 % para la actividad antifúngica de *Fusarium spp.*, *Pythium sp.* y *Rhizoctonia sp.* a las 144 horas

Tratamientos	Medias	Orden de los rangos
T46	44,83	A
T49	44,08	A
T45	42,67	A
T50	42,33	A
T48	42,08	A
T44	39,58	AB
T9	33,75	BC
T47	33,58	BC
T26	32,87	BCD
T34	31,08	CDE
T43	29,00	CDE
T17	28,75	CDE
T31	27,17	CDEF
T51	26,33	CDEFG
T14	25,92	DEFGH
T15	25,75	DEFGH
T32	25,67	DEFGH
T33	24,08	EFGHI
T30	24,00	EFGHI
T13	23,75	EFGHI
T16	20,75	FGHIJ
T28	20,58	FGHIJ
T25	19,25	GHIJK
T27	18,88	GHIJK
T11	18,63	HIJKL
T8	17,42	IJKLM
T29	14,67	JKLMN
T24	12,33	KLMN
T7	12,17	KLMN
T21	11,83	KLMN
T10	11,25	LMN
T42	10,00	MN
T4	8,833	NOPQ
T12	7,33	NOPQ
T23	5,00	OPQ
T1	4,197	OPQ
T3	3,333	PQ
T41	3,333	PQ
T20	3,00	PQ
T6	2,00	Q
T35	2,00	Q
T5	2,00	Q
T18	2,00	Q
T19	2,00	Q
T2	2,00	Q
T40	2,00	Q
T22	2,00	Q
T36	2,00	Q
T37	2,00	Q
T38	2,00	Q
T39	2,00	Q

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

En la tabla 3-3 se observa con letra Q los tratamientos efectivos contra los patógenos; T2 (Extracto etanólico de cáscara de quinua al 50%), T5 (Extracto etanólico de quinua al 100%) y T6 (Extracto etanólico de quinua al 50%) inhiben el crecimiento del hongo *Fusarium* sp. en su totalidad.

Los tratamientos T18 (Extracto etanólico de cáscara de quinua al 100%), T19 (Extracto etanólico de cáscara de quinua al 50%) y T22 (Extracto etanólico de quinua al 100%) de igual forma inhiben el crecimiento del hongo *Pythium* sp. en su totalidad.

Para el patógeno *Rhizoctonia* sp. los tratamientos efectivos son T35 (Extracto etanólico de cáscara de quinua al 100%), T36 (Extracto etanólico de cáscara de quinua al 50%), T37(Extracto etanólico de cáscara de quinua al 25%), T38 (Extracto etanólico de cáscara de quinua al 12,5%), T39 (Extracto etanólico de quinua al 100%) y T40 (Extracto etanólico de quinua al 50%).

Los tratamientos T17, T34 y T51 corresponde a los testigos *Fusarium* spp., *Pythium* sp. y *Rhizoctonia* sp. con crecimientos de 28,75 mm, 31,08 mm y 26,33 mm respectivamente.

Los tratamientos menos efectivos corresponden a los extractos acuosos de la cáscara y del grano de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) con un crecimiento mayor al 90% de cada hongo.

3.1.5. Evaluación de las saponinas de la cáscara de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) presente en el extracto etanólico frente a *Fusarium* spp.

Se observa que para la dosis 50% del extracto etanólico de la cáscara de quinua (ECD₂F) no hay crecimiento del hongo a comparación del testigo *Fusarium* spp. con un crecimiento radial de 34,83 mm.

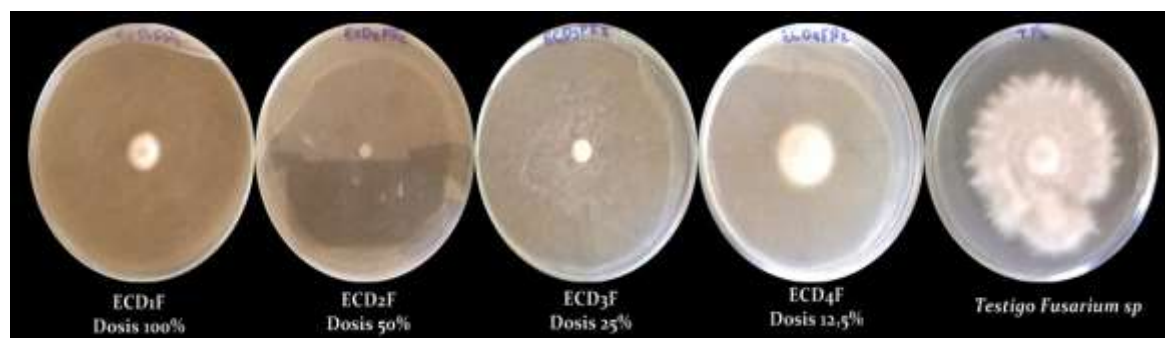


Figura 4-3 Crecimiento del hongo *Fusarium* spp. en el extracto etanólico de cáscara de quinua a los 9 días

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

3.1.6. Evaluación de las saponinas de la cáscara de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) presente en el extracto etanólico frente a *Pythium* sp.

Como se muestra en la figura 5-3 en las concentraciones 100% del extracto etanólico de la cáscara de quinua (ECD₁P) y extracto etanólico de la cáscara al 50% (ECD₂P) no existe crecimiento del patógeno a comparación del testigo *Pythium* sp que presenta un crecimiento radial de 34,08 mm.

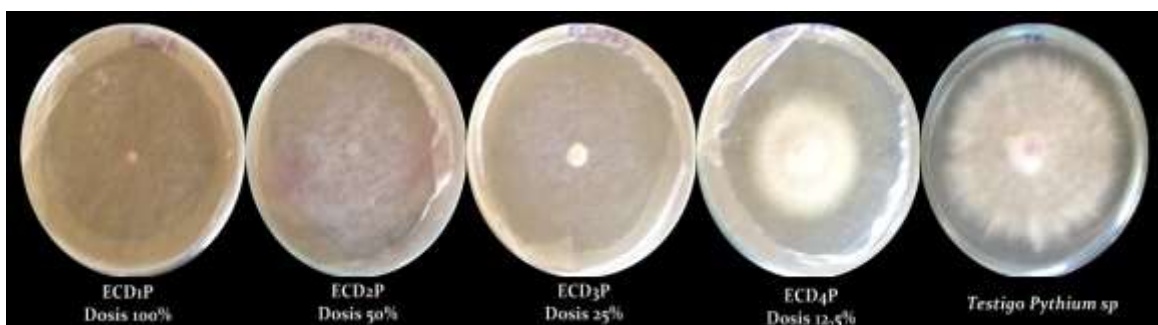


Figura 5-3 Crecimiento del hongo *Pythium* sp. en el extracto etanólico de cáscara de quinua a los 9 días.

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

3.1.7. Evaluación de las saponinas de la cáscara de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) presente en el extracto etanólico frente a *Rhizoctonia* sp.

Como se observa en la Figura 6-3 el testigo *Rhizoctonia* sp. tiene un crecimiento radial de 35,5 mm a comparación de las concentraciones 100% del extracto etanólico de la cáscara de quinua (ECD₁R), extracto etanólico de la cáscara de quinua al 50% (ECD₂R), extracto etanólico de la cáscara de quinua al 25% (ECD₃R) y extracto etanólico de la cáscara de quinua al 12,5% (ECD₄R) no existe crecimiento radial del patógeno considerándose el extracto más adecuado para inhibir el crecimiento.

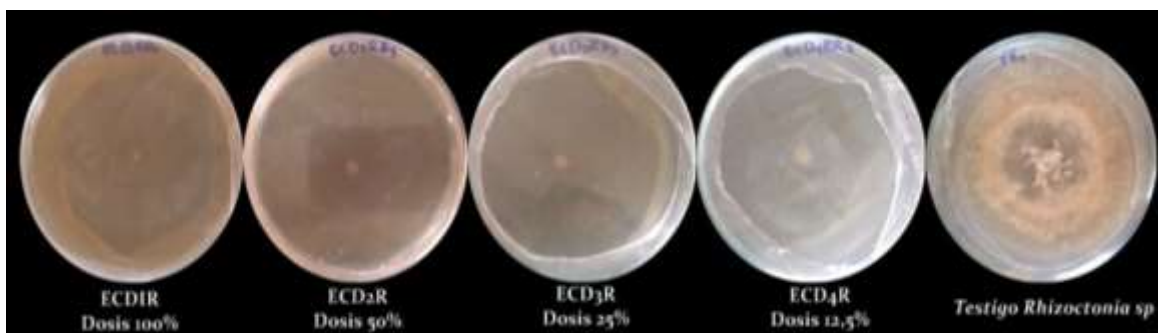


Figura 6-3 Crecimiento del hongo *Rhizoctonia* sp. en el extracto etanólico de cáscara de quinua a los 9 días

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

3.1.8. Evaluación de las saponinas del grano de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) presente en el extracto etanólico frente a *Fusarium* spp.

En la figura 7-3 se tiene que en la concentración 100% del extracto etanólico del grano de quinua (EQD₁F) no existe crecimiento del patógeno, y el crecimiento radial del testigo *Fusarium* spp. tiene un valor de 35,5 mm.

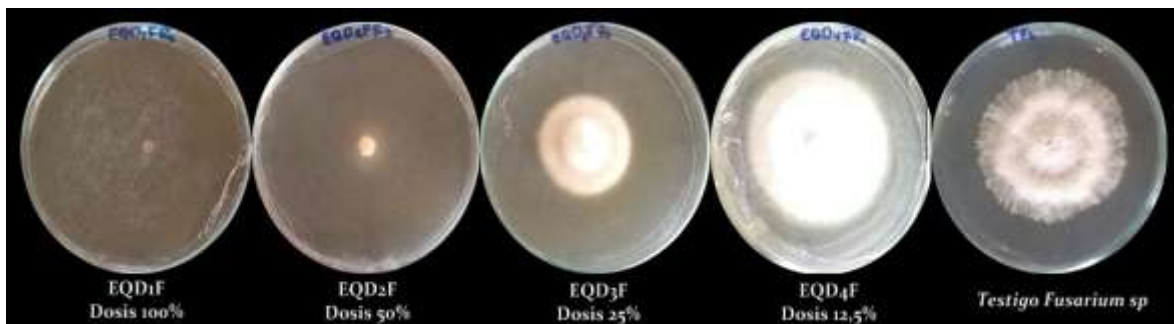


Figura 7-3 Crecimiento del hongo *Fusarium* spp. en el extracto etanólico del grano de quinua a los 9 días

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

3.1.9. Evaluación de las saponinas del grano de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) presente en el extracto etanólico frente a *Pythium* sp.

Como se muestra en la figura 8-3 en la concentración 100% del extracto etanólico del grano de quinua (EQD₁P) no existe crecimiento radial del patógeno a comparación del testigo *Pythium* sp. que presenta un crecimiento de 35,17 mm.

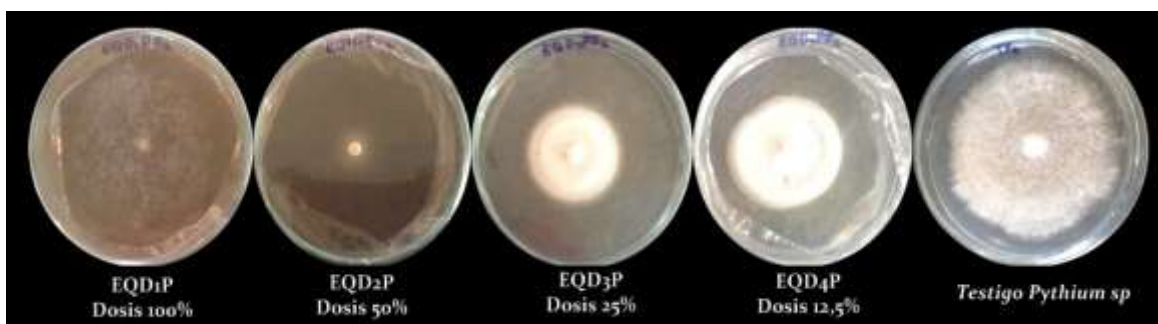


Figura 8-3 Crecimiento del hongo *Pythium* sp. en el extracto etanólico del grano de quinua a los 9 días

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

3.1.10. Evaluación de las saponinas del grano de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) presente en el extracto etanólico frente a *Rhizoctonia* sp.

Como se observa en la Figura 9-3 el testigo *Rhizoctonia* sp. tiene un crecimiento radial de 43,75 mm a comparación de las concentraciones 100% del extracto etanólico del grano de quinua

(EQD₁R), extracto etanólico del grano de quinua al 50% (EQD₂R), extracto etanólico del grano de quinua al 25% (EQD₃R) que no existe crecimiento radial del patógeno y en la concentración del extracto etanólico del grano de quinua al 12,5% (EQD₄) tiene un crecimiento radial de 14,35 mm.



Figura 9-3 Crecimiento del hongo *Rhizoctonia* sp. en el extracto etanólico del grano de quinua a los 9 días

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

3.1.11. Evaluación de las saponinas de cáscara de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) presente en el extracto acuoso frente a *Fusarium* spp.

Como se muestra en la figura 10-3 en las concentraciones del extracto acuoso de la cáscara de quinua al 100% (ACD₁F), extracto acuoso de la cáscara de quinua al 50% (ACD₂F), extracto acuoso de la cáscara de quinua al 25% (ACD₃F) y el extracto acuoso de la cáscara de quinua al 12,5% (EQD₄F) existe crecimiento radial de igual magnitud que el testigo *Fusarium* spp de 40,50 mm, observando que dicho extracto no inhibe el crecimiento para el patógeno sino por el contrario tiene nutrientes que aceleran el crecimiento del mismo.

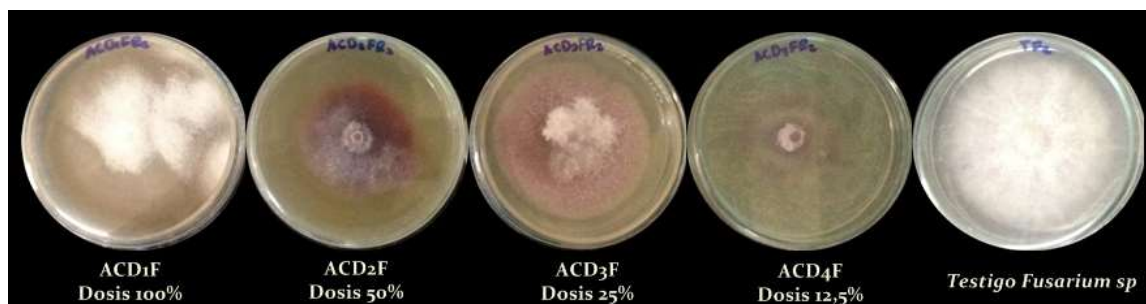


Figura 10-3 Crecimiento del hongo *Fusarium* spp. en el extracto acuoso de cáscara de quinua a los 9 días

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

3.1.12. Evaluación de las saponinas de cáscara de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) presente en el extracto acuoso frente a *Pythium* sp.

Como se observa en la Figura 11-3 el testigo *Pythium* sp. tiene un crecimiento radial promedio de 37,33 mm y en las concentraciones del extracto acuoso de la cáscara de quinua al 100%

(ACD₁P), extracto acuoso de la cáscara de quinua al 50% (ACD₂P), extracto acuoso de la cáscara de quinua al 25% (ACD₃P) y el extracto acuoso de la cáscara de quinua al 12,5% (ACD₄P) tiene un crecimiento radial, considerando el extracto menos efectivo para el patógeno porque permite el crecimiento del mismo.

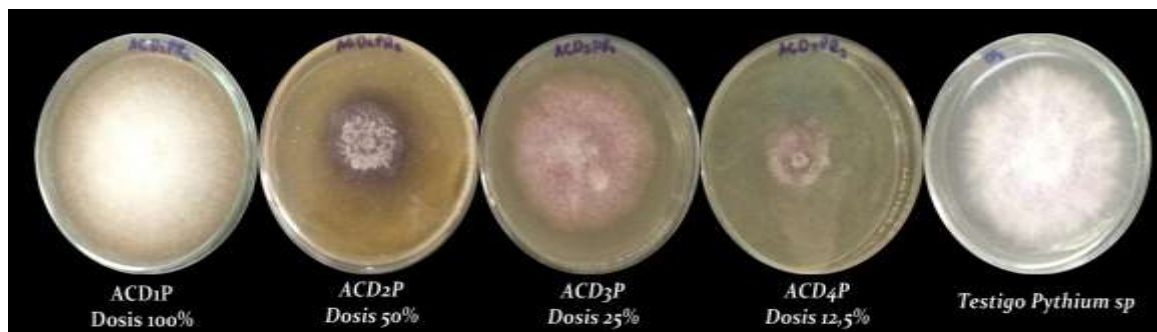


Figura 11-3 Crecimiento del hongo *Pythium* sp. en el extracto acuoso de cáscara de quinua a los 9 días

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

3.1.13. Evaluación de las saponinas de cáscara de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) presente en el extracto acuoso frente a *Rhizoctonia* sp.

En la figura 12-3 se observa en las concentraciones ensayadas al 100% del extracto acuoso de la cáscara de quinua (ACD₁R), extracto acuoso de la cáscara de quinua al 50% (ACD₂R), extracto acuoso de la cáscara de quinua al 25% (ACD₃R), y del extracto acuoso de la cáscara de quinua al 12,5% (ACD₄R), existe crecimiento radial del patógeno mayor que en el testigo, evidenciando la presencia de esclerocios propios síntomas del patógeno, hay que tomar en cuenta que el extracto permite que el patógeno se desarrolle con mayor rapidez.

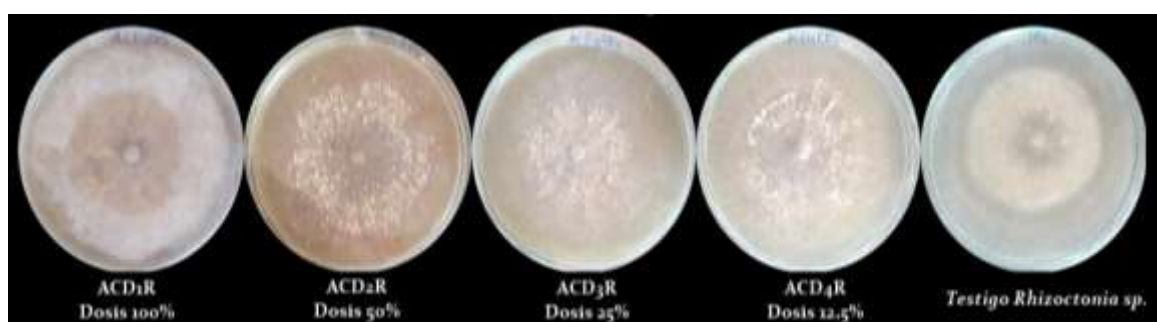


Figura 12-3 Crecimiento del hongo *Rhizoctonia* sp. en el extracto acuoso de cáscara de quinua a los 9 días

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

3.1.14. Evaluación de las saponinas del grano de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) presente en el extracto acuoso frente a *Fusarium* spp.

La figura 13-3 el patógeno estudiado se observa que en todas las concentraciones del extracto

acuoso del grano de quinua al 100% (AQD₁F), extracto acuoso del grano de quinua al 50% (AQD₂F), extracto acuoso del grano de quinua al 25% (AQD₃F) y del extracto acuoso del grano de quinua al 12,5% (AQD₄F) trabajadas en la investigación existe un crecimiento del mismo siendo mayor que el testigo *Fusarium* spp., las concentraciones establecidas permiten un desarrollo notable, no inhiben al patógeno y permite la proliferación de la enfermedad.

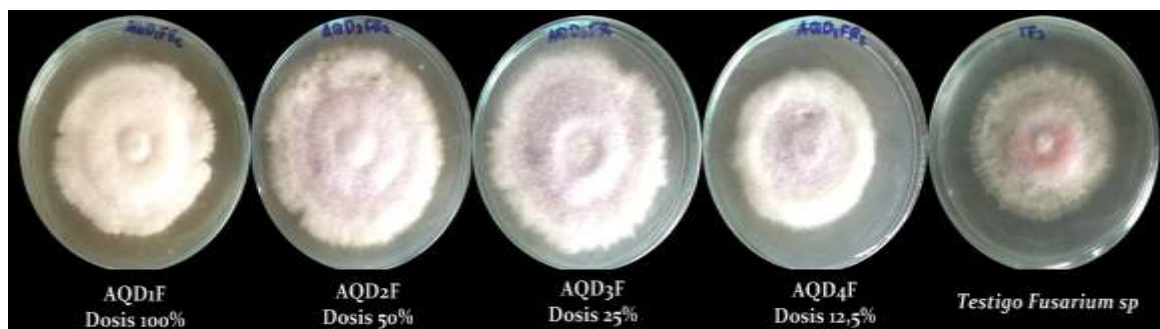


Figura 13-3 Crecimiento del hongo *Fusarium* spp. en el extracto acuoso del grano de quinua a los 9 días

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

3.1.15. Evaluación de las saponinas del grano de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) presente en el extracto acuoso frente a *Pythium* sp.

El crecimiento radial del hongo *Pythium* sp. como se muestra en la figura 14-3, las 4 concentraciones establecidas del extracto acuoso del grano de quinua al 100% (AQD₁P), extracto acuoso del grano de quinua al 50% (AQD₂P), extracto acuoso del grano de quinua al 25% (AQD₃P) y del extracto acuoso del grano de quinua al 12,5% (AQD₄P) no posee una actividad inhibitora sobre el patógeno porque presenta crecimiento radial en todas las concentraciones ensayadas, en el caso del testigo sobre medio PDA existe crecimiento de 38,67 mm teniendo valores semejantes con las demás concentraciones obtenidos, descartando este extracto para control de hongos que afectan a las plantas.

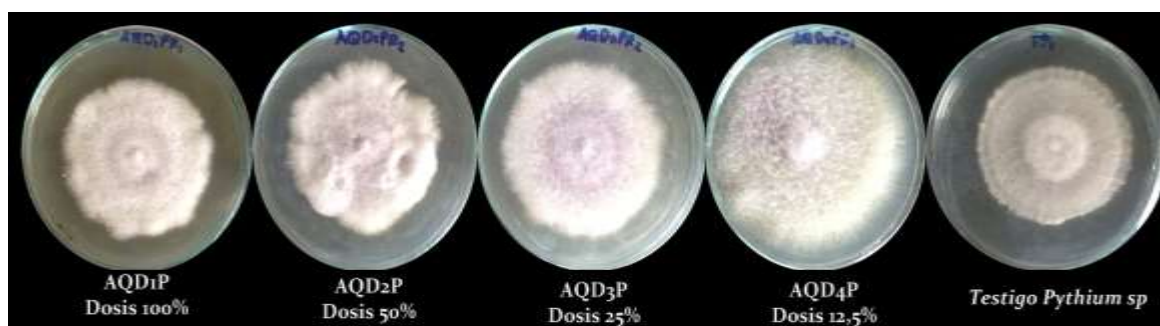


Figura 14-3 Crecimiento del hongo *Pythium* sp. en el extracto acuoso del grano de quinua a los 9 días

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

3.1.16. Evaluación de las saponinas del grano de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) presente en el extracto acuoso frente a *Rhizoctonia* sp.

La figura 15-3 indica que el extracto empleado no cumple la función de inhibir el crecimiento del patógeno ya que presenta crecimiento en todas las concentraciones ensayadas, y en relación a la concentración del extracto acuoso del grano de quinua al 100% (AQD₁R), extracto acuoso del grano de quinua al 50% (AQD₂R), extracto acuoso del grano de quinua al 25% (AQD₃R), y del extracto acuoso del grano de quinua al 12,5% (AQD₄R), presenta menor crecimiento en el testigo con un valor de 29,88 mm, estimulando el crecimiento del patógeno en su totalidad.

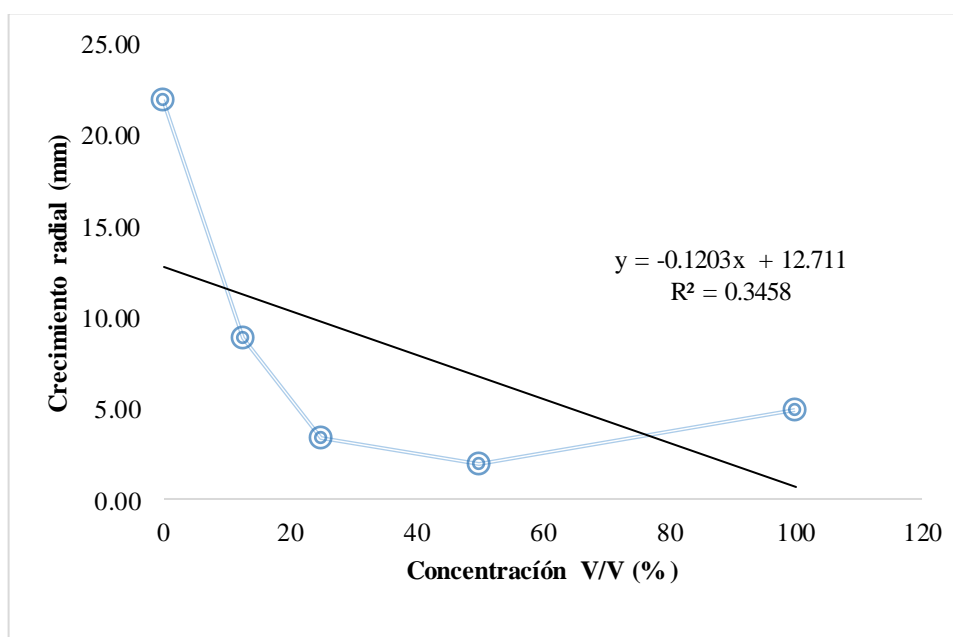


Figura 15-3 Crecimiento del hongo *Rhizoctonia* sp. en el extracto acuoso del grano de quinua a los 9 días

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

3.1.17. Determinación de la Dosis Eficaz 50 (DE₅₀)

3.1.17.1. Dosis Eficaz para *Fusarium* spp. en el extracto etanólico de la cáscara de quinua

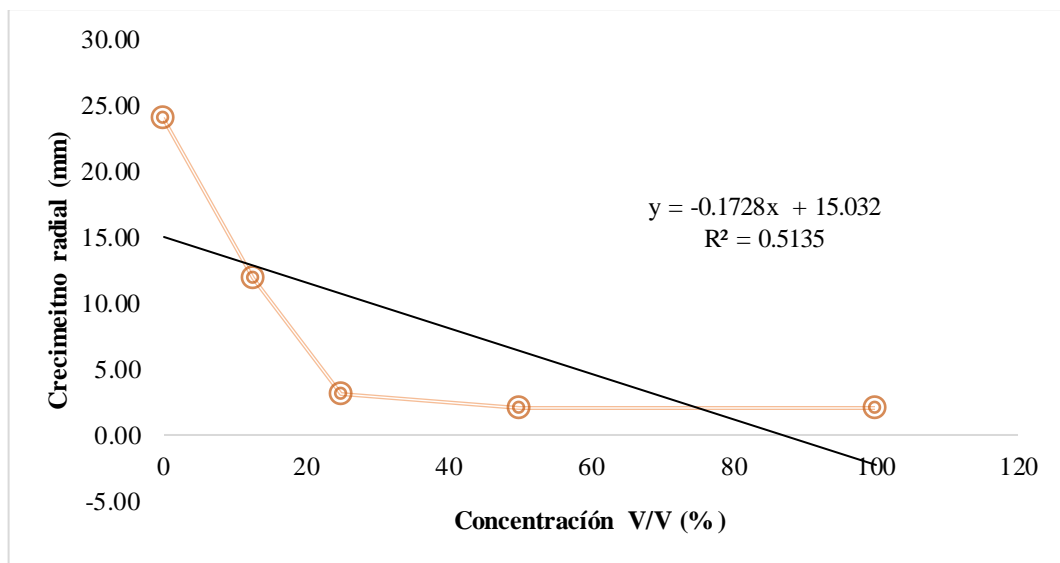


Gráfica 7-3 Curva de regresión ajustada para el crecimiento de *Fusarium* spp. a las 144 horas frente al extracto etanólico de la cáscara de quinua.

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

En la gráfica 6-3 se observa las concentraciones en porcentaje V/V ensayadas, del extracto etanólico de la cáscara de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) y se puede identificar la DE₅₀ para el caso de *Fusarium* sp. siendo el 56% de concentración necesaria para inhibir a la mitad el crecimiento del patógeno, con un coeficiente de correlación de 0,34 y corresponde a la ecuación $y = -0.1203x + 12.711$.

3.1.17.2. Dosis Eficaz para *Pythium* sp. en el extracto etanólico de las cáscara de quinua

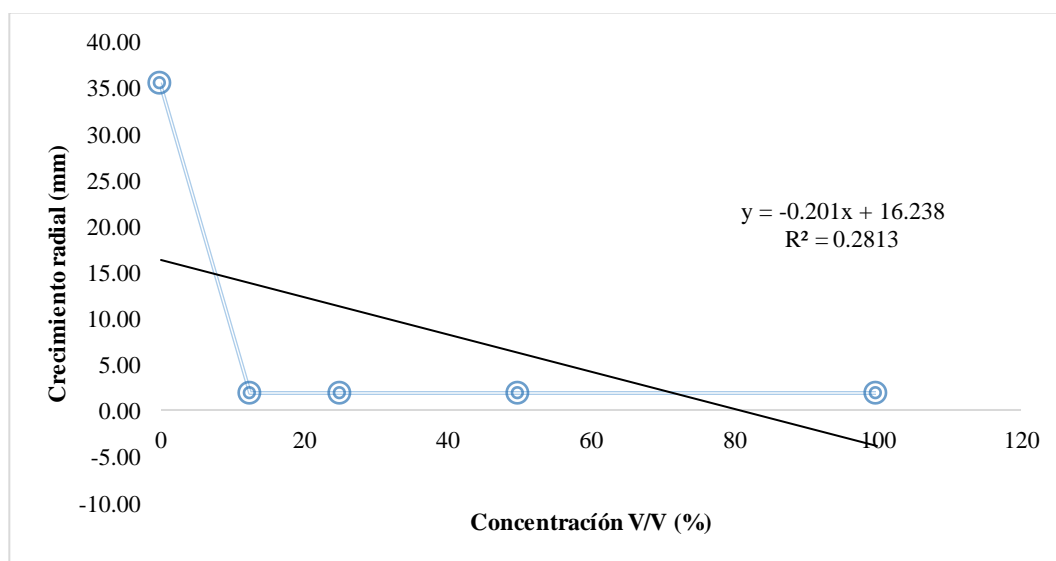


Gráfica 8-3 Curva de regresión ajustada para el crecimiento de *Pythium* sp. A las 144 horas frente al extracto etanólico de la cáscara de quinua.

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

En la gráfica 7-3 se tiene las concentraciones en porcentaje V/V ensayadas para el extracto etanólico de la cáscara de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) identificándose la DE₅₀ para el caso de *Pythium* sp. del 18% de concentración para inhibir a la mitad el crecimiento del patógeno, con un coeficiente de correlación de 0,51 con la ecuación $y = -0.1728x + 15.032$.

3.1.17.3. Dosis Eficaz para *Rhizoctonia* sp. en el extracto etanólico de las cáscara de quinua

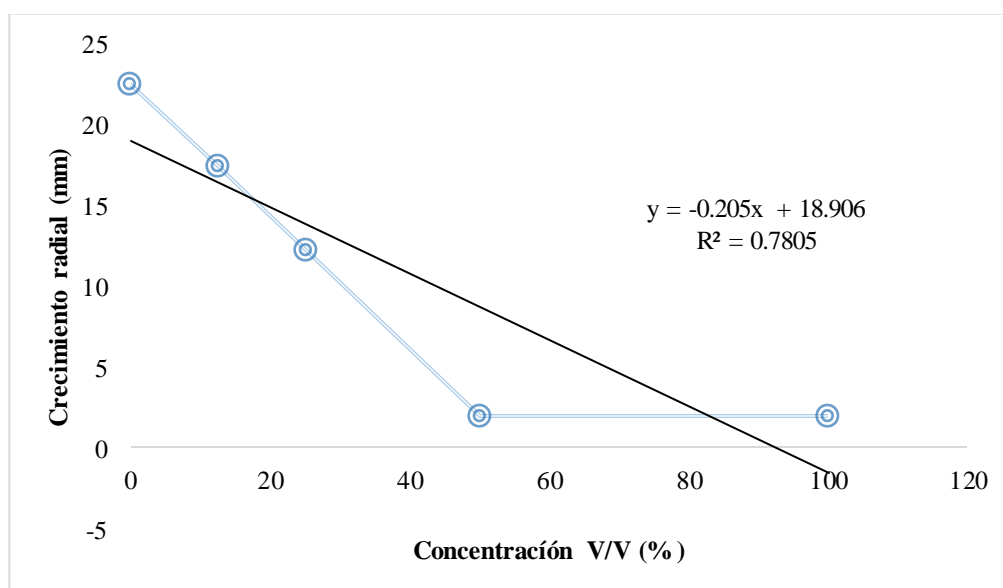


Gráfica 9-3 Curva de regresión ajustada para el crecimiento de *Rhizoctonia* sp. A las 144 horas frente al extracto etanólico de la cáscara de quinua.

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

En la gráfica 8-3 se observa las concentraciones en porcentaje V/V ensayadas del extracto etanólico de la cáscara de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) identificando la DE_{50} para el caso de *Rhizoctonia* sp. es del 15% de concentración para inhibir a la mitad el crecimiento del patógeno, con un coeficiente de correlación de 0,28 y corresponde a la ecuación $y = -0.201x + 16.238$.

3.1.17.4. Dosis Eficaz para *Fusarium* spp. en el extracto etanólico del grano de quinua

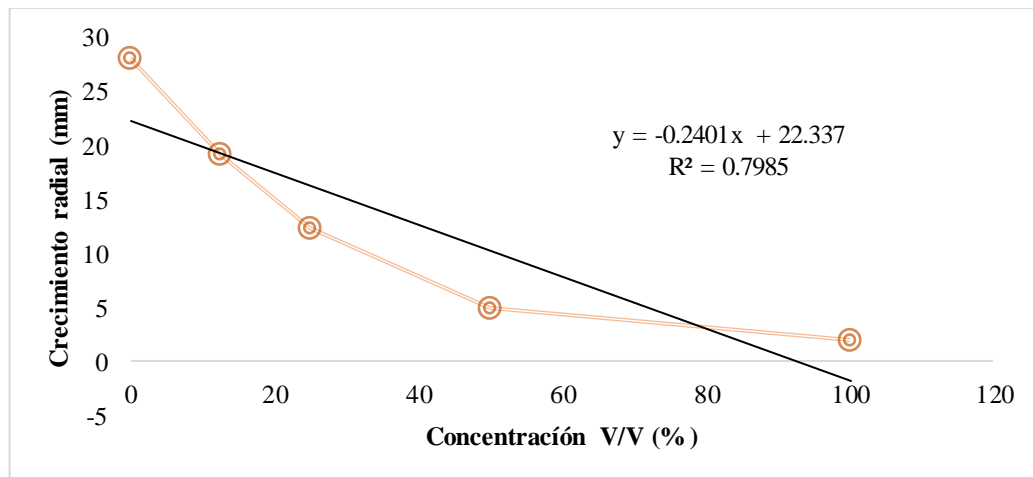


Gráfica 10-3 Curva de regresión ajustada para el crecimiento de *Fusarium* spp. a las 144 horas frente al extracto etanólico de quinua.

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

En la gráfica 9-3 se evidencia las concentraciones en porcentaje V/V ensayadas del extracto etanólico del grano de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) y se puede identificar la DE₅₀ para el caso de *Fusarium* sp. siendo el 37% de concentración que inhibe a la mitad el crecimiento del patógeno, con un coeficiente de correlación de 0,78 con la ecuación $y = -0.205x + 18.906$.

3.1.17.5. Dosis Eficaz para *Pythium* sp. en el extracto etanólico del grano de quinua

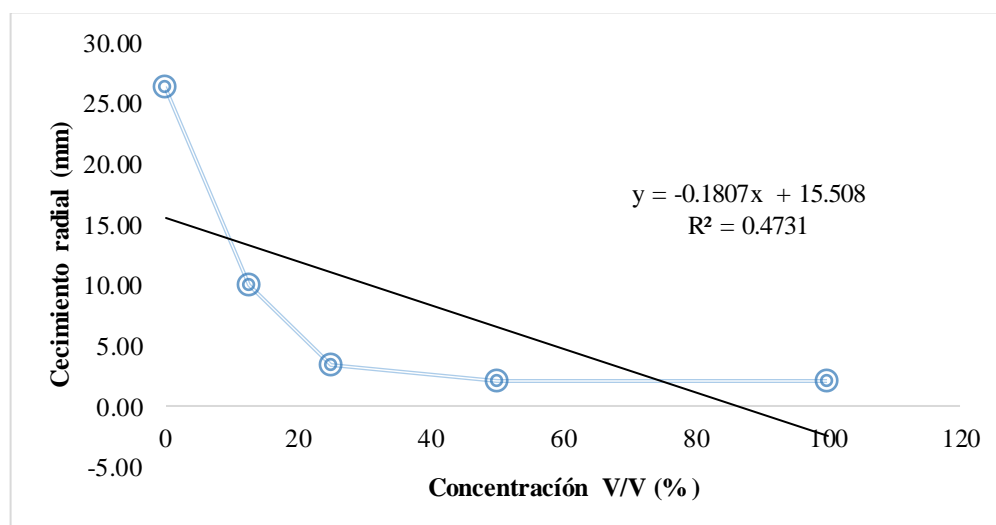


Gráfica 11-3 Curva de regresión ajustada para el crecimiento de *Pythium* sp. a las 144 horas frente al extracto etanólico del grano de quinua.

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

En la gráfica 10-3 se observa las concentraciones en porcentaje V/V ensayadas del extracto etanólico del grano de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) y se identifica la DE₅₀ para el caso de *Pythium* sp. siendo al 35% de concentración inhibiendo a la mitad el crecimiento del patógeno, con un coeficiente de correlación de 0,79 y corresponde a la ecuación $y = -0.2401x + 22.337$.

3.1.17.6. Dosis Eficaz para *Rhizoctonia* sp. en el extracto etanólico del grano de quinua

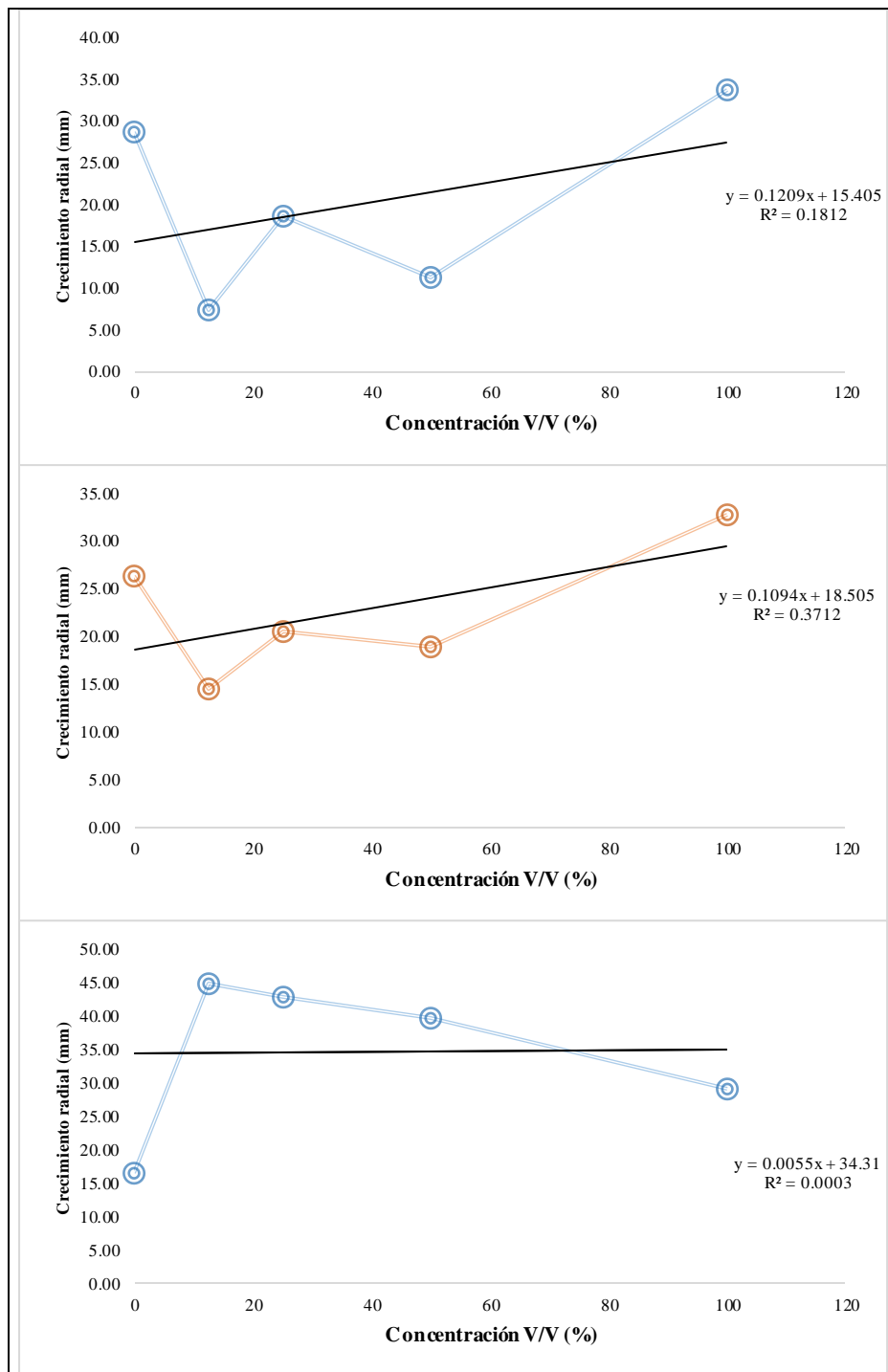


Gráfica 12-3 Curva de regresión ajustada para el crecimiento de *Rhizoctonia* sp. a las 144 horas frente al extracto etanólico del grano de quinua.

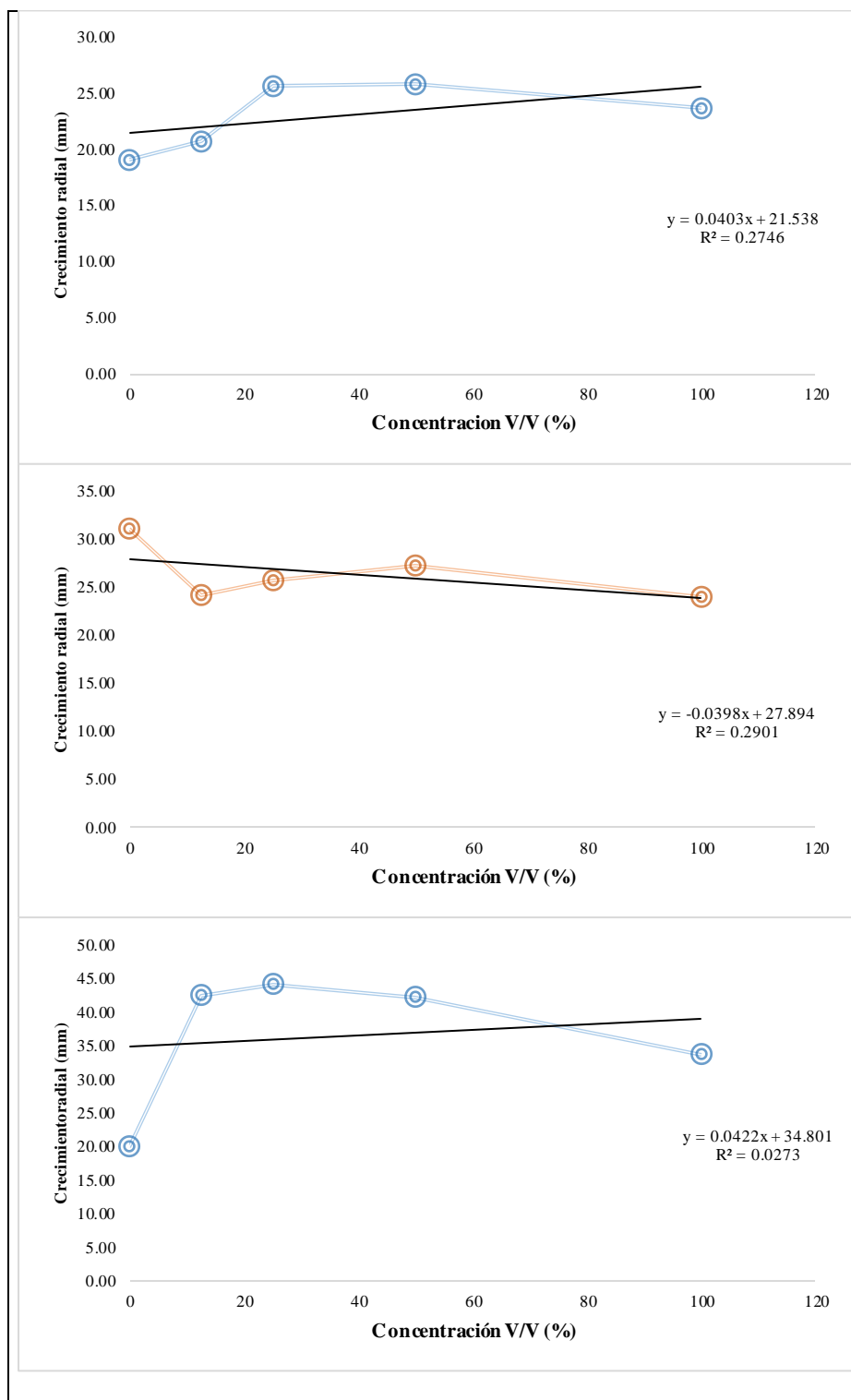
Realizado por: Jessica Arcos, 2016

En la gráfica 11-3 se observa las diferentes concentraciones en porcentaje V/V ensayadas del extracto etanólico del grano de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) y se puede identificar la DE₅₀ para el caso de *Rhizoctonia* sp. que al 15% de concentración inhibe la mitad el crecimiento del patógeno, con un coeficiente de correlación de 0,78 con la ecuación $y = -0.205x + 18.906$.

3.1.17.7. Dosis Eficaz para *Fusarium* spp., *Pythium* sp. y *Rhizoctonia* sp. en el extracto acuoso de cáscara de quinua y del grano de quinua



Gráfica 13-3 Actividad Antifúngica de las saponinas presentes en el extracto acuoso de la cáscara de quinua frente a *Fusarium* spp., *Pythium* sp., y *Rhizoctonia* sp. Realizado por: Jessica Arcos, 2016



Gráfica 14-3 Actividad Antifúngica de las saponinas presentes en el extracto acuoso del grano de quinua frente a *Fusarium* spp., *Pythium* sp., y *Rhizoctonia* sp.

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

Como se puede observar en las gráficas 12-3 y figura 13-3 para los 3 hongos patógenos en todas las concentraciones de los extractos existe crecimiento radial, esto quiere decir que las características químicas del extracto acuoso de la cáscara y del grano de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) determinan que el patógeno sea estimulado en su crecimiento, viéndose este

incrementado significativamente frente al testigo, presentando el mismo comportamiento en las 4 concentraciones ensayadas (100%, 50%, 25% y 12,5%) lo que determina que no existe actividad antifúngica del ingrediente activo estudiado frente a los patógenos.

Al someter al patógeno a las condiciones de los extractos ensayados el crecimiento se ve incrementado en 3 veces más que el testigo en las dosis altas (concentración 100% extracto).

3.1.18. Determinación de la actividad antifúngica de las saponinas de la quinua frente a los agentes causales del damping off (*Fusarium spp.*, *Pythium sp.*, *Rhizoctonia sp*)

Los ensayos realizados sobre la determinación de la actividad antifúngica de las saponinas de la quinua frente a los agentes causales del Damping off (*Fusarium spp.*, *Pythium sp.*, *Rhizoctonia sp*) obtenidas en extractos etanólicos de la cáscara y del grano de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) muestran que las saponinas poseen actividad antifúngica contra los patógenos ensayados, inhibiendo el crecimiento de *Fusarium spp.* en un 60 al 75%, para *Pythium sp.* el efecto inhibitorio está en el orden del 51 al 92% y para *Rhizoctonia sp.* el porcentaje de inhibición es del 94%, por el contrario las saponinas presentes en los extractos acuosos de la cáscara y del grano de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) no poseen actividad antifúngica y sirven como estimulante para el crecimiento y desarrollo de estos patógenos en estudio, se encontró que a mayor concentración de los principios activos extraídos del material vegetal en los extractos acuosos hubo mayor desarrollo del crecimiento fúngico, resultados que son similares a los reportados por Lanzotti (2011) quien indica que utilizó saponina extraída de la cebolla blanca (*Allium cepa*) para aplicarla *in vitro* en varias especies de hongos aislados. Se encontró que este extracto de saponina brindaba un porcentaje promedio de inhibición bajo siendo solo del 10% y 15% en *Fusarium oxysporum* var. *lycopersici*.

Según estudios realizados en los efectos inhibitorios realizado por Apalaza (2002), se analizó el efecto que producían varios productos comerciales a base de saponinas del quillay (*Quillaja saponaria*) sobre la incidencia y severidad de oídio en pepino (*Cucumis sativus*) y zapallo (*Cucurbita maxima*). Los resultados obtenidos en dicha investigación revelan que estos productos causan un porcentaje de inhibición promedio de 37.9% y 41.7% para pepino y zapallo, respectivamente. La diferencia que se presenta en la capacidad inhibitoria de ambas investigaciones podría darse debido a que los microorganismos en cada estudio son diferentes, además que en el estudio de Apalaza (2002) los ensayos se los realizó en condiciones de invernadero mientras que la presente investigación fue realizada a nivel de laboratorio.

Por otro lado López (2006) en su investigación utilizó extractos de: llantén (*Plantago major*), pronto alivio (*Lipia alba*) y helecho marranero (*Pteridium aquilinum*) para evaluar su efecto sobre *Collectotrichum musae* y *Botrytis cinerea* se observó que existe presencia de saponinas. Para cada

caso los extractos etanólicos de las tres especies tuvieron un control exitoso de las enfermedades fúngicas, pero este efecto fue gracias al etanol, ya que el control con solvente puro mostró el mismo efecto inhibitorio. En cambio, los extractos acuosos no mostraron efecto de inhibición en el crecimiento de ambos hongos patógenos. En comparación con los resultados de la presente investigación se podría mencionar que el efecto es muy similar porque se obtuvo extractos acuosos y extractos etanólicos dando mejor resultado de inhibición los extractos etanólicos para los hongos *Fusarium* spp., *Pythium* sp. y *Rhizoctonia* sp. y por el contrario los extractos acuosos dieron lugar a que el crecimiento fuera mayor en las concentraciones ensayadas que en el testigo.

Investigadores como Jiao *et al.* (2015) determinaron la capacidad que poseen los hongos del género *Fusarium* de utilizar las saponinas como fuente de nutrientes lo que conlleva a una alteración de su ritmo de crecimiento, resultados dados a conocer en la investigación evaluación del crecimiento *in vitro* con *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* en medios de cultivo adicionados con saponinas del ginseng (*Panax ginseng*). Los resultados mostraron que las cantidades de saponina en el medio, luego del desarrollo del hongo no fueron significativos, lo cual explicaría que el patógeno tiene una capacidad de degradar estas sustancias para su beneficio. Por lo tanto, se podría asumir que este comportamiento también se presenta en la actual investigación con el hongo *Fusarium* spp. en los extractos acuosos porque los micelios de dichos hongos crecen y proliferan con facilidad en el medio ya que presentan las condiciones óptimas de desarrollo mas no las condiciones para inhibir el crecimiento de dicho patógeno.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la investigación Efecto de saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd contra el fitopatógeno *Cercospora beticola* Sacc por Rinel *et al* (2016) los extractos de saponinas obtenidos a partir de cascarilla de quinoa (mojuelo), son una buena alternativa para controlar el hongo *C. beticola*. explicando la importancia del uso de este material vegetal que en la cosecha no se da un uso adecuado, comprobando que la cáscara de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) presenta actividad inhibitoria para patógenos estudiados.

El estudio realizado por Rosa Eliza Cruz en su trabajo de titulación “ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE *Allium sativum*, *Urtica ureas*, *juglans neotropica*, *Equisetum arvense* SOBRE *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani* DE *Lycopersicum esculentum*” en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en el año 2005, se comprobó que existe control total de los patógenos con los extractos alcohólicos, decocciones e hidroestilado del ajo, y para el nogal con un valor de 25,7% para *Fusarium oxysporum* y 44,5% para *Alternaria solani*, esto quiere decir que los extractos etanólicos presentan mayor potencial de inhibición, ya que en la presente investigación el crecimiento de *Fusarium* spp. se inhibe en un 60 al 75%, mientras tanto Landero-Valenzuela, Nicol *et al* (2013) en su investigación utiliza extractos de cuatro especies, obteniendo mejor resultado el extracto etanólico del ajo (*Allium sativum*), extracto de canela y extracto de

semillas de neem (*Azadirachta indica*) donde no existió desarrollo del micelio del patógeno mientras que para el extracto de limón hubo desarrollo del hongo, La actividad inhibitoria de compuestos de ajo ha sido ampliamente investigada. Benkeblia (2004), encontró que el ajo tiene un efecto inhibitorio antifúngico muy marcado a medida que se aumentan las concentraciones (50 mL-500 mL/1000 mL) sobre *Penicillium cyclopium* y *Fusarium oxysporum*. Kyung *et al.* (2002) también informaron que la alicina, compuesto azufrado del extracto de ajo (*Allium sativum*) mostró actividad antibacterial en contra de *Staphylococcus aureus*.

CONCLUSIONES

- Se determinó que de los cuatro extractos ensayados, el extracto etanólico de la cáscara de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) presenta mayor actividad antifúngica de las saponinas con un valor del 60 al 75% frente a *Fusarium* spp., para *Pythium* sp. el efecto inhibitorio es del 51 al 92% y para *Rhizoctonia* sp. el porcentaje de inhibición es del 94% y para los extractos acuosos de la cáscara de la quinua y del grano de quinua estimularon el crecimiento de los patógenos por las características químicas que posee el extracto.
- Se estableció el método de Soxhlet para la extracción de las saponinas presentes en la cáscara y grano de quinua obteniendo concentraciones V/V en porcentajes para la determinación de la capacidad inhibitoria sobre los patógenos estudiados.
- Se realizó el aislamiento y purificación de los hongos *Fusarium* spp. y *Pythium* sp. a partir de muestras de suelos contaminados y muestra de tubérculo de papa (*Solanum tuberosum*) con presencia de esclerocios, estructuras características del patógeno *Rhizoctonia* sp
- Se determinó las Dosis Eficaz 50 (DE₅₀) para los extractos ensayados, obteniendo que para *Fusarium* spp. la dosis eficaz es 56%, para *Pythium* sp. es del 18% y *Rhizoctonia* sp. 15% en el extracto etanólico de la cáscara de la quinua, en el extracto etanólico del grano de quinua se tiene que para *Fusarium* spp. la dosis eficaz es 37%, para *Pythium* sp. es del 35% y *Rhizoctonia* sp. 15%.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda aplicar el extracto etanólico de la cáscara de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) en plantas que presenten características del damping off.
- Se recomienda ensayar a diferentes concentraciones el porcentaje de etanol utilizado para la extracción de las saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) con el propósito de verificar si la actividad inhibidora se debe al alcohol o a las saponinas.
- Realizar pruebas de actividad antifúngica de las saponinas de la cáscara de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) frente a otros patógenos de interés.
- Cuantificar las saponinas extraídas de la cáscara y del grano de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd).
- Utilizar diferentes métodos de extracción de las saponinas y determinar la variabilidad de contenido de las mismas.

BIBLIOGRAFÍA

- AUGUSTIN JM, Kusina V, Anderson SB & Bak, S.** *Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. Phytochemistry* [en línea]. 2011, pp. 435–457 [Consulta: 20 de agosto del 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21333312>
- AGRIOS, G.** Fitopatología.1997, Segunda edición. México D.F. editorial Limusa, pp. 192-195, 207-209.
- APABLAZA, G., DIAZ M. J., SAN MARTIN R. & MOYA E.** *Control de Oidio de la Cucurbitaceas con Saponinas Presentes en Extractos de Quillay.* Ciencia e Investigación Agrícola, [en línea]. 2002 [Consulta: 20 de agosto del 2016]. Disponible en: https://www.google.com.ec/?gws_rd=ssl#q=Control+de+Oidio+de+la+Cucurbitaceas+con+Saponinas+Presentes+en+Extractos+de+Quillay
- APAZA R et al,** *Efecto de saponinas de Chenopodium quinoa Willd contra el fitopatógeno Cercospora beticola Sacc.* [en línea] 2016. Revista de Protección Vegetal Bolivia. ISSN 2224-4697. [Consulta: 20 de agosto del 2016]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522016000100009
- ARIAS TAUTE Julie Katherine, & JEREZ RAMIREZ Andrea del Pilar** *Elaboración de un atlas para la descripción macroscópica y microscópica para hongos fitopatógenos de interés en especies de flores de corte cultivadas en la sabana de Bogotá.* [en línea] (tesis) (Microbiología Industrial) Pontificia Universidad Javeriana, Bogota D.C. 2008. [Consulta: 21 de agosto del 2016]. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis223.pdfOTA>
- TROISI J, et al** “*Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013*” [en línea], 2014, (Santiago de Chile) y CIRAD, (Montpellier, Francia), pp 318-321 páginas. [Consulta: 23 de agosto del 2016]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i4042s.pdf>
- BENAVIDES E.** *Evaluación de solarización y trichoderma harzianum rifai para el control de sclerotinia sclerotiorum (lib) de bary., y el complejo damping-off fusarium spp., pythium spp, en lechuga (lactuca sativa l.) in vitro y en semillero, en el Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo.*(en físico) (2001). (Tesis) (Ingeniería Agronomica).Escuela Superior

Politécnica de Chimborazo. Facultad de Recursos Naturales. Ingeniería Agronómica. Ecuador. pp 56-105

BENKEBLIA, N. *Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*).* [en línea]. (2004) Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie (LWT) - Food Science and Technology. 37(2). pp 263-268. [Consulta: 23 de agosto del 2016]. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643803001671>

BHARGAVA, A., SHUKLA, S., OHRI, D. *Genetic variability and heritability of selected traits during different cuttings of vegetable *Chenopodium*.* [en línea]. (2003) Ind. J. Genet. Pl. Breed 63, pp 359–360. [Consulta: 23 de agosto del 2016]. Disponible en:
<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=IN2005000917>

BONIFAZ, L. *Preparación y Caracterización de Extractos de Mashua* [blog]. : Informe de Prácticas Laborales, (2007). . [Consulta: 27 de agosto del 2016].

BONIFÁZ, L. *Determinación de la actividad insecticida de la Saponina de Quinoa (*Chenopodium quinoa*) Hidrolizada y no Hidrolizada sobre *Drosophila melanogaster*.* (2011) (Tesis) (Bioquímico Farmaceutico). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Bioquímico Farmacéutico., Ecuador. pp. 7 -73. [Consulta: 23 de agosto del 2016]. Disponible en:
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/390>

BRUNETON, J. *Saponósidos. In Farmacognosia, Fotoquímica, Plantas Medicinales.* [en línea]. (2001). (2ª. Ed.). Zaragoza, España. Editorial Acribia, S.A. ISBN: 84-200-0956-3 Pp. 664-709. [Consulta: 23 de agosto del 2016]. Disponible en:
<http://www.fitoterapia.net/publicaciones/documentacion/flavono1-glycosides-from-ithevetia-peruvianai-284.html>

CALDAS A., *Optimización, escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción sólido líquido,* [en línea] (2012) (Tesis) (Ingeniería Química) Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador. pp 19-23. [Consulta: 23 de agosto del 2016]. Disponible en:
<http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2468/1/tq1111.pdf>

CARONE, M. *Micología.* [en línea] (1986). Editorial Pueblo y Educación. Playa de la ciudad de La Habana. pp 327. [Consulta: 23 de agosto del 2016]. Disponible en:

<http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis226.pdf>

CASTRO R. “*Bioteología en el Ecuador*” [en físico] (2005). *Revista Mundo Verde*, vol.2, Ecuador pp. 30 -3. [Consulta: 23 de agosto del 2016].

CHEEKE, METER., *Usos de la Yucca Quillaja Saponaria*. . [en línea] (2006) Sin Edit. C.C. LABORATORIOS. [Consulta: 24 de agosto del 2016]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/2107/1/17T1108.pdf>

CHEN YF: et al. HUANG: *Foam Properties and detergent abilities of the saponins from Camellia oleifera*. *International Journal of Molecular Sciences*. [en línea]. (2010). 11(11) pp 4417–4425. [Consulta: 24 de agosto del 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3000090/>

CRUZ R. *Actividad antifúngica de allium sativum, urtica ureas, junglans neotropica, equisetum arvense sobre fusarium oxysporum y alternaria solani de lycopersicum esculentum*” [en físico] (2005) (Tesis) (Bioquímica Farmaceutica) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Bioquímica y Farmacia. Riobamba. pp 89-90.

DIARIO EL COMERCIO. *Chimborazo tiene 2366 productores de quinua*. [en línea] Chimborazo: El Comercio. S.f. [Consulta: 10 de diciembre del 2016]. Disponible en: http://www.elcomercio.com/app_public_pro.php/actualidad/negocios/chimborazo-366-productores-de-quinua.html

DIARIO EL TELÉGRAFO. *Día Nacional de la quinua se celebra en Cotopaxi con feria de producción*. [en línea] (2016) [Consulta: 12 de diciembre del 2016]. Disponible en: <http://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/regional-centro/1/dia-nacional-de-la-quinua-se-celebra-en-cotopaxi-con-feria-de-produccion>

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). *Manual de Fungicidas e Insecticidas Ecológicos*. 2010), EcoTenda, pp 42-64. [Consulta: 24 de agosto del 2016]. Disponible en: http://ecotenda.net/themes/ecotenda/archivos/manual_insecticidas.pdf

FLORES, V. “*Determinación del efecto antagónico de cepas nativas de Trichoderma spp. frente a Mycosphaerella fijiensis en plantas de banano a nivel de invernadero.*” [en línea]. (2015) (Tesis) (Ingeniera en Biotecnología Ambiental) Escuela Superior Politécnica de

Chimborazo. Ecuador. Facultad de Ciencias. Ciencias Químicas. pp 5-10. [Consulta: 23 de agosto del 2016]. Disponible en:

<http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/4065/1/236T0127%20UDCTFC.pdf>

GALLARDO, M.; GONZALEZ, A. Y PONESSA, G. *Morfología del fruto y semilla de Chenopodium quinoa Willd (Quinoa) Chenopodiaceae.* [en línea]. (1997) Lilloa 39,1 Argentina. ISSN 0075-9481. pp 71-80. [Consulta: 27 de agosto del 2016]. Disponible en: <http://biblat.unam.mx/es/revista/lilloa/articulo/morfologia-del-fruto-y-semilla-de-chenopodium-quinoa-willd-quinoa-chenopodiaceae>

GALLEGOS M. *Pruebas de antagonismo in vitro de (Trichoderma spp.) aislados en la zona de Cajabamba frente a (Fusarium spp., Pythium spp., Rhizoctonia spp., Sclerotinia Sclerotiorum y Sclerotium cepivorum).* [en línea] (1997) (Tesis) (Ingeniero Agrónomo) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador. [Consulta: 27 de agosto del 2016]. Disponible en:

<http://bibliotecas.espoch.edu.ec/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=39449>

GILMAN, J. *Manual de hongos del suelo.* Traducción del inglés al español por Santiago Fuentes y Sebastián Romero. México. [en línea]. (1985) Compañía Editorial Continental S.A. México DF. pp 572. [Consulta: 27 de agosto del 2016]. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis226.pdf>

HERNÁNDEZ, R. *Obtención de crudos de saponinas hipocolesteromizantes del Chenopodium quinoa Willd.* [en línea]. (1997) Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto". Revista Cubana Médica Militar, 26(1), ISSN 1561-3046. pp 55-62. [Consulta: 27 de agosto del 2016]. Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65571997000100008

HOSTETTMANN KA., MARSTON A. *Saponins. Chemistry and pharmacology of natural products B y K.* [en línea]. (1995) Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido. pp 8509. [Consulta: 27 de agosto del 2016]. Disponible en:

<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja9553056?journalCode=jacsat>

HUNZIKER A. T. *Las especies alimenticias de Amaranthus y Chenopodium cultivadas por los indios de América.* [en línea]. (1943) Revista Argentina Agronómica. 10 (4), pp 306-319. [Consulta: 27 de agosto del 2016]. Disponible en:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000028&pid=S0006-8705196800020001800003&lng=en

- HUNZIKER, A. T.** *Los pseudocereales de la agricultura indígena de América*. [en línea]. (1952) Museo Botánico de la UNC. Acme Agency, Soc. Resp. Ltda. pp 44-54. [Consulta: 27 de agosto del 2016]. Disponible en:
https://books.google.com.ec/books/about/Los_pseudocereales_de_la_agricultura_ind.htm?id=ZmxgAAAAMAAJ&redir_esc=y
- JIAO X, et al. Gao:** *Effects of Fusarium solani and F. oxysporum Infection on the Metabolism of Ginsenosides in America Ginseng Roots*. [en línea]. (2015). *Molecules*, pp 535-552. [Consulta: 27 de agosto del 2016]. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26060917>
- KULJANABHAGAVAD, T; et al WINK, M.:** *Triterpene saponins from Chenopodium quinoa Willd. Phytochemistry* [en línea]. (2008), Volume 69, Issue 9, pp. 1919–1926. [Consulta: 27 de agosto del 2016]. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942208001179>
- KYUNG, K.H: et al. Kim:** *Alliinase-independent inhibition of Staphylococcus aureus B33 by heated garlic*. [en línea]. (2002) *Journal of Food Science*. Volume 67, Issue 2. pp780-785. [Consulta: 27 de agosto del 2016]. Disponible en:
<http://online.library.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10676.x/full>
- LANZOTTI, V; et al. Scala:** *Antifungal saponins from bulbs of white onion*. [en línea]. (2011) *Phytochemistry*, 133-139. [Consulta: 27 de agosto del 2016]. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22169018>
- LÓPEZ, A; et al. Gallo.** *Evaluación de Extractos Vegetales para Manejo de Hongos Patógenos en Banano y Fresa Almacenados*. [en línea]. (2006) Ing. Agr. Laboratorio de Microbiología Universidad Nacional de Colombia - Sede Palmira. pp39-44. [Consulta: 27 de agosto del 2016]. Disponible en:
<http://www.bdigital.unal.edu.co/13122/2/478-3043-1-PB.pdf>
- MUJICA, A; et al. Marathe:** *Quinua: ancestral cultivo andino, alimento del presente y del futuro*. [en línea]. (2001). FAO. Chile. [Consulta: 30 de agosto del 2016]. Disponible en:
<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=XF2015010207>

NICOL, R; et al. Bernards: *Ginsenosides stimulate the growth of soilborne pathogens of American ginseng.* [en línea]. (2003). *Phytochemistry*, Volume 64, Issue 1. pp 257-264. [Consulta: 30 de agosto del 2016]. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942203002711>

PLAGAS Y ENFERMEDADES VEGETALES “*Damping-off*” o caída de plántulas *Pythium spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Fusarium spp.*, *Phytophthora spp.* [en línea]. Universidad de León [Consulta: 01 de agosto del 2016]. Disponible en:
http://www.pimientoasadodelbierzo.es/fichas/enf_dampingoff.pdf

PESANTEZ M. *Tesis pruebas in vitro de la eficacia de tres especies de Trichoderma y benomyl en el control de Fusarium agente causal de pudriciones radiculares.* [en línea]. (2000) (Tesis) (Doctorado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador. Facultad de Ciencias. [Consulta: 30 de agosto del 2016]. Disponible en:
<http://bibliotecas.espoch.edu.ec/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=37306>

PORTILLA A, *Divulgación de conocimientos científicos sobre las plantas más útiles y conocidas en Colombia, su valor alimenticio, medicinal e industrial.* [en línea]. (1955) *Revista de la Facultad de Medicina Volumen XXIII N~ 4, Pasto-Colombia.* pp 179. [Consulta: 30 de agosto del 2016]. Disponible en:
http://biblioteca.humboldt.org.co/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=17993&shelfbrowse_itemnumber=30855

PRICE KR, JOHNSON IT & FENWICK GR, *The chemistry and biological significance of saponins in food and feeding stuffs.* [en línea]. (1987) *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* Volumen 26, 27. pp 1331. [Consulta: 2 de septiembre del 2016]. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3308321>

RIVAS C *Pruebas de antagonismo in vitro de Trichoderma spp., aislados de la zona de Chambo frente a Fusarium spp., Sclerotinia Sclerotiorum., Sclerotium ceviporum, Pythium spp. y Rhizoctonia spp.* [en físico]. (1994) (Tesis) (Ingeniero Agrónomo). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador. pp 67-98. [Consulta: 2 de septiembre del 2016].

ROBERTS, D., BOTHROYD, C. *Fundamentos de patología vegetal.* [en físico] (1978) Traducido del Inglés por Filomena Días Celayeta. Zaragoza, España. Editorial Acribia. pp 392.

- SARALOSA, A; BOCCA, M.** *Fitopatología*. Curso Moderno [en línea] (1975) Buenos Aires-Argentina, Hemisferio Sur 4 V. [Consulta: 2 de septiembre del 2016]. Disponible en: <http://www.fca.unl.edu.ar/media/academica/ asignaturas/12/fitopatolog>
- SEEMAN, P., CHENG, D., ILES, G.** (1973). *Structure of membrane holes in osmotic and saponin hemolysis*. [en línea] (1973) J. Cell Biol. 56. pp. 519–527. [Consulta: 2 de septiembre del 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4566525>
- SPARG SG, LIGHT ME., VAN STADEN J** *Biological activities and distribution of plant saponins*. (2004) Journal of Ethnopharmacology Vol 94, Issues 2–3, pp 219–243. [Consulta: 2 de septiembre del 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874104002557>
- STUARDO, M. & SAN MARTÍN, R.** *Antifungal properties of quinoa (Chenopodium quinoa Willd) alkali treated saponins against Botrytis cinerea*. [en línea]. (2008). Industrial Crops and Products, Vol 27, Issue 3, pp.296-302. [Consulta: 2 de septiembre del 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669007001598>
- TAPIA, M. E. Y FRIES, A. M.** *Guía de campo de los cultivos andinos*. [en línea] (2007). División de Nutrición y Protección del Consumidor, FAO, Roma y AMPE, Lima. pp 74-88. [Consulta: 4 de septiembre del 2016]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/010/ai185s/ai185s.pdf>
- VALLE K.** *Determinación de la actividad antimicótica de los residuales del proceso de extracción de aceites esenciales de eucalipto, molle y promero sobre (Fusarium sp; Pythium sp; Rhizoctonia sp; Sclerotium sp.) agentes causales de mal de almacigo en condiciones de laboratorio*. [en físico] (2003) (Tesis) (Ingeniero Agrónomo). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador. pp 56-100. [Consulta: 4 de septiembre del 2016].
- WALTER, J.** *Patología vegetal*. [en línea] (1965). Barcelona-España. Omega S:A. pp 427-807. [Consulta: 4 de septiembre del 2016]. Disponible en: http://www.etsiamn.upv.es/Docencia/ProgramasIA/Programas_asi/Plan%2064%20y%2080%20de%20IA/Programas/8075-8155.pdf

WRIGHT KH, PIKE OA, FAIRBANKS DJ & HUBER CS . *Composition of Atriplex hortensis, sweet and bitter Chenopodium quinoa seeds*. [en línea] (2002). Journal of Food Science. Vol 67, pp 1383–1386. [Consulta: 12 de agosto del 2016]. Disponible en: <http://onlineibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10294.x/full>

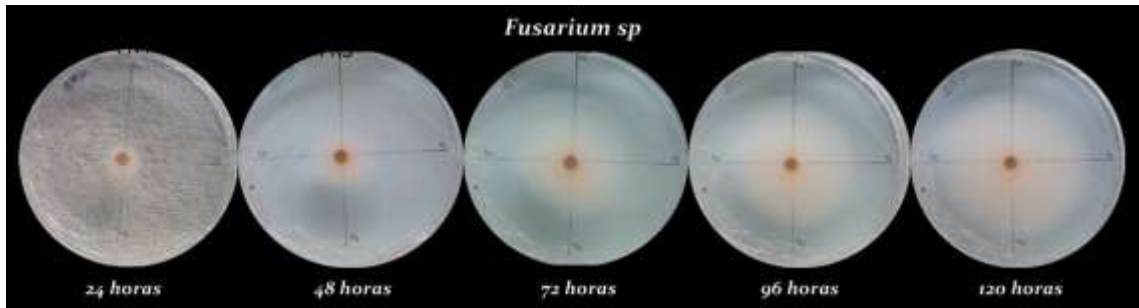
WOLDEMICHAEL, G. M., WINK, M. *Identification and Biological Activities of Triterpenoid Saponins from Chenopodium quinoa*. [en línea] (2001). J. Agric. Food Chem., Vol 49, pp. 2327-2332. [Consulta: 12 de agosto del 2016]. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0013499>

YANG CH, HUANG YG, CHEN YF & CHANG MH. *Foam Properties, Detergent Abilities and Long-term Preservative Efficacy of the Saponins from Sapindus mukorossi*. [en línea] (2010) Journal of Food Drug Analysis. Vol 18 Issue 3, pp 155–160. [Consulta: 12 de agosto del 2016]. Disponible en: <http://search.proquest.com/openview/4cc690b10425b7bdadd86540acd35808/1?pq-origsite=gscholar&cbl=906352>

ZHU, N; et al. Ho: *Triterpene saponins from debittered quinoa (Chenopodium quinoa) seeds*. [en línea] (2002). J. Agric. Food. Chem. Vol 50, pp. 865–867. [Consulta: 01 de agosto del 2016]. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0110021>

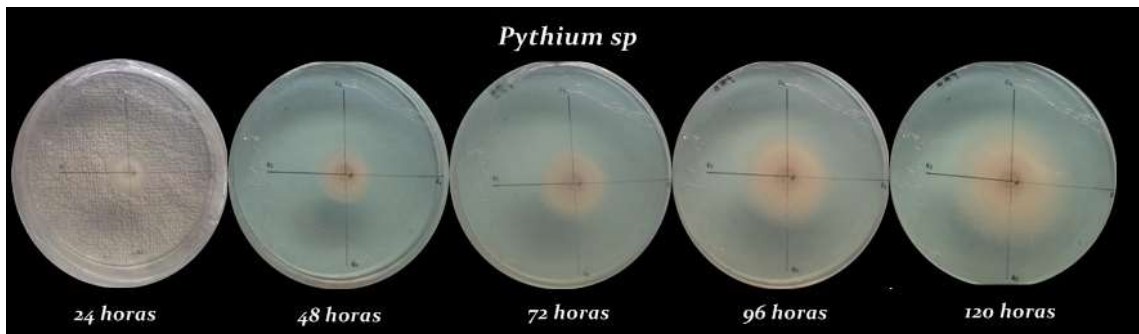
ANEXO

Anexo A: Ritmo de crecimiento radial de *Fusarium* spp. en medio PDA a temperatura de $27\pm 1^\circ\text{C}$



Realizado por: Jessica Arcos, 2016

Anexo B: Ritmo de crecimiento radial de *Pythium* sp. en medio PDA a temperatura de $27\pm 1^\circ\text{C}$



Realizado por: Jessica Arcos, 2016

Anexo C: Ritmo de crecimiento radial de *Rhizoctonia* spp. en medio PDA a temperatura de $27\pm 1^\circ\text{C}$



Realizado por: Jessica Arcos, 2016

Rhizoctonia sp.																																																													
CAJA		DIA 1					DIA2					DIA3					DIA4					DIA5					DIA6					DIA7					DIA8					DIA9																			
		r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM															
EC	D1 R R1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2										
EC	D1 R R2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2										
EC	D1 R R3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2										
EC	D2 R R1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2										
EC	D2 R R2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2										
EC	D2 R R3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2										
EC	D3 R R1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2										
EC	D3 R R2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2										
EC	D3 R R3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2										
EC	D4 R R1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2										
EC	D4 R R2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2										
EC	D4 R R3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2										
	TR1	2	2	2	2	2	8	5	6	6	6.25	12	10	11	12	11.25						20	18	20	19	19.25	27	23	25	26	25.25	37	34	35	36	35.5						40	36	36	38	37.5	41	37	37	39	38.5	42	43	45	41	42.75					
	TR2	2	2	2	2	2																																																							
	TR3	2	2	2	2	2																																																							

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

Anexo E: Crecimiento radial de los hongos patógenos en el extracto etanólico del grano de quinua.

<i>Fusarium spp.</i>																																																			
		DIA 1				DIA 2				DIA 3				DIA 4				DIA 5				DIA 6				DIA 7				DIA 8				DIA 9																	
CAJA		r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM										
EQ	D1 F R1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2					
EQ	D1 F R2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2					
EQ	D1 F R3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2					
EQ	D2 F R1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2					
EQ	D2 F R2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2					
EQ	D2 F R3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2					
EQ	D3 F R1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	5	4	5	4	4.5	7	6	6	6	6.25	10	9	9	9	9.25	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	15	13	15	14	14.25	18	19	18	18	18.25	18	19	18	18	18.25
EQ	D3 F R2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	4	4	4	4	4	7	6	8	7	7	10	10	10	9	9.75	13	13	12	13	12.75	12.17	15	15	14	14.75	17	18	18	18	17.75	17	18	18	18	17.75					
EQ	D3 F R3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	4	4	4	4	4	6	6	7	7	6.5	9	9	9	9	9	12	11	12	12	11.75	14	15	15	14	14.5	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17					
EQ	D4 F R1	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	5	3	4	5	4.25	9	9	8	9	8.75	15	15	15	15	15	15	18	17	18	17.75	17.42	20	19	20	19.75	27	26	30	29	28	30	28	31	31	30					
EQ	D4 F R2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	6	5	4	5	5	10	9	9	9	9.25	15	14	14	15	14.5	18	17	18	17	17.5	17.42	20	21	22	21	21	28	27	27	27	27.25	32	31	31	31	31.25				
EQ	D4 F R3	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	5	4	5	4	4.5	8	7	8	7	7.5	14	13	14	13	13.5	17	16	17	18	17	17	22	23	21	22	22	29	28	29	29	28.75	30	31	30	30	30.25				
TF1		2	2	2	2	2	6	7	5	6	6	11	11	10	11	10.75	14	14	13	14	13.75	17	16	16	17	16.5	20	20	18	20	19.5	22.5	23	23	22	22	22.5	40	36	37	40	38.25	41	38	38	42	39.75				
TF2		2	2	2	2	2	7	5	5	6	5.75	12	11	10	12	11.25	17	15	15	16	15.75	20	18	19	20	19.25	25	23	24	24	24	22.5	29	25	27	28	27.25	33	30	29	30	30.5	35	33	32	33	33.25				
TF3		2	2	2	2	2	5	4	4	4	4.25	12	12	11	12	11.75	16	17	15	15	15.75	22	24	22	23	22.75	24	24	24	24	24	22.5	27	26	26	27	26.5	29	32	30	29	30	31	35	31	33	32.5				

<i>Pythium sp.</i>																																															
		DIA 1				DIA 2				DIA 3				DIA 4				DIA 5				DIA 6				DIA 7				DIA 8				DIA 9													
CAJA		r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM						
EQ	D1 P R1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
EQ	D1 P R2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
EQ	D1 P R3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
EQ	D2 P R1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	7	6	6	6.25	8	7	9	8	8	8	8	7	9	8	
EQ	D2 P R2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	7	6	7	6.5	9	8	8	9	8.5	9	8	8	9	8.5	
EQ	D2 P R3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	6	6	6	6	7	8	8	7	7.5	7	8	8	7	7.5	
EQ	D3 P R1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	6	7	6	7	6.5	7	7	8	8	7.5	11	10	9	11	10.25	12	12	12	12	12	12.33	14	14	14	14	14	18	17	17	18	17.5	19	19	19	20	19.25
EQ	D3 P R2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	6	5	6	6	5.75	8	7	7	8	7.5	9	10	11	10	10	12	12	12	12	12	12.33	14	14	14	14	14	19	17	18	18	18	22	20	21	21	21
EQ	D3 P R3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	7	7	6	6	6.5	8	7	7	7	7.25	11	10	11	11	10.75	13	13	13	13	13	13	15	15	15	15	17	17	17	17	17	20	20	20	20	20	
EQ	D4 P R1	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	11	11	10	9	10.25	13	13	15	13	13.5	18	18	17	17	17.5	19	19	18	19	18.75	19.25	21	21	20	21	20.75	27	26	25	26	26	30	28	29	30	29.25
EQ	D4 P R2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	12	11	10	9	10.5	18	12	13	12	13.75	21	17	17	18	18.25	22	18	18	19	19.25	19.25	23	19	19	21	20.5	27	22	22	23	23.5	28	25	25	26	26
EQ	D4 P R3	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	9	9	8	8	8.5	11	11	11	11	11	14	14	13	14	13.75	20	20	19	20	19.75	19.25	21	21	20	21	20.75	23	22	22	23	22.5	25	25	24	26	25
TP1		2	2	2	2	2	5	5	5	5	5	18	11	12	13	13.5	20	18	17	18	18.25	25	23	25	25	24.5	30	29	29	28	29	28.08	31	30	30	30	30.25	33	31	32	32	32	34	32	33	33	33
TP2		2	2	2	2	2	5	5	5	5	5	11	13	11	13	12	18	18	18	18	18	24	23	24	25	24	30	30	30	32	30.5	28.08	35	35	34	37	35.25	40	37	36	40	38.25	41	39	38	41	39.75
TP3		2	2	2	2	2	4	4	4	4	4	11	13	12	12	12	17	17	17	17	17	22	24	22	23	22.75	24	26	24	25	24.75	22.5	25	27	26	27	26.25	29	32	31	29	30	31	35	33	32	32.75

Rhizoctonia sp.																																					
CAJA		DIA 1				DIA2				DIA3				DIA4				DIA5				DIA6				DIA7				DIA8				DIA9			
		r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	
EQ	D1 R R1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
EQ	D1 R R2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
EQ	D1 R R3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
EQ	D2 R R1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
EQ	D2 R R2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
EQ	D2 R R3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
EQ	D3 R R1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6		
EQ	D3 R R2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
EQ	D3 R R3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
EQ	D4 R R1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	4	5	4	5	4.5	6	7	6	6	6.25	10	9	10	10	9.75	11	11	12	12	11.5	
EQ	D4 R R2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	4	3	4	3	3.5	6	5	6	5	5.5	8	9	9	9	8.75	9	11	12	12	11	10	12	13	13	12	
EQ	D4 R R3	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	6	7	6	6	6.25	8	8	8	8	8	10	9	9	9	9.25	11	10	10	10	10.25	
TR1		2	2	2	2	2	4	4	4	4	4	14	14	14	15	14.25	17	18	17	18	17.5	20	21	20	21	20.5	24	25	26	24	24.75	31	30	31	31	30.75	
TR2		2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	14	13	13	13	13.25	18	17	17	17	17.25	23	22	22	20	21.75	29	26	26	25	26.5	32	31	33	32	32	
TR3		2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	13	13	15	14	13.75	17	17	19	18	17.75	24	24	22	20	22.5	30	29	26	26	27.75	35	34	31	31	32.75	

Realizado por: Jessica Arcos, 2016

Anexo F: Crecimiento radial de los hongos patógenos en el extracto acuoso de la cáscara de quinua.

<i>Fusarium spp.</i>																																																																			
CAJA		DIA 1				DIA2				DIA3				DIA4				DIA5				DIA6				DIA7				DIA8				DIA9																																	
		r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM																										
AC	D1	F	R1	4	4	4	4	4	4	13	13	12	12	12.5	20	21	19	19	19.75	23	22	23	22	22.5	30	27	28	30	28.75	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35																		
AC	D1	F	R2	3	3	3	3	3	3	10	10	17	11	12	17	17	25	16	18.75	17.75	23	24	25	25	24.25	27	26	27	28	27	34	33	34	34	33.75	33.75	34	33	34	34	34	34	33	34	34	33.75	33.75	33.75	33.75	33.75																	
AC	D1	F	R3	3	3	3	3	3	3	9	9	12	12	10.5	15	16	15	13	14.75	17.75	20	20	24	25	22.25	28	25	30	30	28.25	32	33	32	33	32.5	32	33	32	33	32.5	32	33	32	33	32.5	32	33	32	33	32.5																	
AC	D2	F	R1	2	2	2	2	2	2	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	4.67	7	8	7	7	7.25	8	8	8	8	8	11	10	11	11	10.75	13	12	12	12	12.25	15	13	13	14	14.5	17	15	15	16	15.75	19.00	19	18	18	19	18.5	23	22	22	23	23	21	27	26	30	26	
AC	D2	F	R2	2	2	2	2	2	2	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6	4.67	6	7	7	7	6.75	10	10	10	10	10	15	15	15	15	15	11.25	19	18	18	19	18.5	23	22	22	23	23	21	27	26	30	26																
AC	D2	F	R3	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4.67	6	7	6	7	6.5	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	11.25	10	11	10	10	10.25	13	13	13	13	13	15	16	15	15	15.25																
AC	D3	F	R1	2	2	2	2	2	2	7	7	8	8	7.5	10	11	11	12	11	9.83	13	13	13	13	13	16	16	16	16	16	20	20	20	20	20	18.63	22	23	23	23	22.75	23	24	24	24	23.5	23	24	24	24	23.75	22.67	20	21	20	20	20.25	21	22	21	21	21	21	22	21	21	21.25
AC	D3	F	R2	2	2	2	2	2	2	8	7	7	7	7.25	10	9	10	10	9.75	9.83	12	12	12	12	12	14	14	15	15	14.5	19	19	19	19	18.625	18.63	20	21	20	20	20.25	21	22	21	21	21	21	22	21	21	21.25																
AC	D3	F	R3	2	2	2	2	2	2	7	6	7	8	7	9	8	8	10	8.75	9.83	13	11	12	12	12	15	14	14	15	14.5	18	17	17	17	17.25	18.63	21	21	23	23	22	22	22	24	24	23	22	22	24	24	23																
AC	D4	F	R1	4	4	4	4	4	4	5	6	7	8	6.5	5	6	5	6	5.5	6.17	7	7	8	8	7.5	8	8	9	9	8.5	8	8	9	9	8.5	7.33	15	14	15	16	15	22	23	23	21	21.5	26	27	28	27	27	25.75	7	6	7	6	6.5	6	7	6	6.5						
AC	D4	F	R2	3	3	3	3	3	3	5	5	5	5	5	7	6	7	6	6.5	6.17	7	6	7	6	6.5	6	7	6	6.5	6	7	6	6.5	6	7.33	9	9	9	9	9	10	11	10	10	10	25	24	25	22	24	25	22	24	27													
AC	D4	F	R3	4	4	4	4	4	4	6	7	7	6	6.5	6	7	7	6	6.5	6.17	6	7	7	6	6.5	6	7	6	6.5	6	7	6	6.5	6	7.33	12	12	12	12	12	16	17	18	20	18	26	27	26	26	26.25																	
TF1				7	6	6	6	6.25	10	10	11	11	10.5	15	16	15	15	15.25	15.50	19	21	22	19	20.25	23	26	24	23	24	29	31	30	29	29.75	28.75	34	36	34	34	34.5	37	38	38	37	37	40	40	41	41	40.5																	
TF2				6	6	6	6	6.25	9	9	11	10	9.75	15	15	16	16	15.5	15.50	18	20	21	20	19.75	23	24	24	24	23.75	28	28	29	28	28.25	28.75	32	34	33	33	33	36	37	37	37	36.5	40	40	42	41	40.75																	
TF3				6	6	6	6	6	10	9	10	11	10	16	15	16	16	15.75	15.50	20	18	19	20	19.25	23	22	23	26	23.5	28	26	29	30	28.25	28.75	33	32	32	36	33.25	37	35	36	41	39	41	37	39	44	40.25																	

<i>Pythium sp.</i>																																																																			
CAJA		DIA 1				DIA2				DIA3				DIA4				DIA5				DIA6				DIA7				DIA8				DIA9																																	
		r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM																										
AC	D1	P	R1	4	4	4	4	4	4	11	10	10	13	11	18	16	15	19	17	11.83	22	21	20	24	21.75	27	27	25	29	27	34	32	30	35	32.75	32.83	38	37	36	40	37.75	42	40	40	44	41.5	45	42	43	46	44	42.67	35	37	38	36	36.5	38	36	37	32	35.75	40	40	40	40	40
AC	D1	P	R2	3	3	3	3	3	3	10	9	11	10	9.75	16	16	18	16	16.5	11.83	22	21	22	22	21.75	28	27	27	27	27.25	32	33	33	32	32.5	32.83	37	37	38	38	37.5	40	41	39	39	39.75	42	46	46	42	44																
AC	D1	P	R3	3	3	3	3	3	3	10	9	11	11	10.25	16	16	17	16	16.25	11.83	22	21	22	22	21.75	28	27	27	27	27.25	32	33	33	32	32.5	32.83	37	37	38	38	37.5	40	41	39	39	39.75	42	46	46	42	44																
AC	D2	P	R1	2	2	2	2	2	2	5	5	5	5	5	10	11	11	11	10.75	10.65	15	14	15	17	15.25	16	17	16	16.5	18	20	19	19	18.88	18.88	19	21	20	20	20	20	22	21	21	21	22	24	23	23	23																	
AC	D2	P	R2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	9	9	11	10	9.75	10.65	12	13	13	14	13	15	17	16	15	15.75	16	20	17	16	17.25	18.88	17	21	19	17	18.5	18	22	20	18	19.5	20	23	21	20	21																
AC	D2	P	R3	2	2	2	2	2	2	6	6	6	6	6	10	10	11	10	10.25	10.65	14	15	15	16	15	17	19	18	18	18	20	20	22	20.50	18.88	24	25	22	24	23.75	24	25	22	24	23.75	25	26	24	26	25.25																	
AC	D3	P	R1	2	2	2	2	2	2	6	7	6	6	6.25	10	10	10	10	10	10.78	13	13	13	13	13	17	17	17	17	17	18	19	18	18	18.25	20.58	25	23	25	25	24.5	28	25	27	27	26.75	32	32	33	32	32.25																
AC	D3	P	R2	2	2	2	2	2	2	7	7	7	7	7	9	9	9	10	9.25	10.78	14	13	13	14	13.5	18	18	19	18	17.75	21	21	20	20	20.5	20.58	22	22	21	21	21.5	23	23	22	22	22.5	24	24	23	24	23.75																
AC	D3	P	R3	2	2	2	2	2	2	7	7	7	7	7	11	10	12	12	11.25	10.78	14	13	14	14	13.75	18	18	20	18	18.5	22	22	23	25	23	20.58	28	27	29	28	28	33	29	32	34	32	36	35	35	36	35.5																
AC	D4	P	R1	3	2	2	3	2.5	7	7	7	7	7	10	8	10	10	9.5	11.08	15	13	13	14	13.75	15	14	14	15	14.5	16	15	15	17	15.75	14.50	17	16	16	18	16.75	18	17	17	19	17.75	18	17	17	19	17.75																	
AC	D4	P	R2	2	2	3	3	2.5	6	6	7	7	6.5	8	8	8	8	8	11.08	12	13	13	14	13	18	15	16	17	16.5	19	18	20	20	19.25	14.50	20	19	21	21	20.25	22	21	22	22	21.75	22	21	22	22	21.75																	
AC	D4	P	R3	2	2	2	3	2.5	7	6	6	5	6	7	7	7	7	7	11.08	7	7	7	7	7	8	8	8	8	8	9	8	9	8	8.5	14.50	10	10	11	10	10.25	11	12	12	11	11.5	11	12	12	11	11.5																	
TP1				6	7	6	6	6.25	9	8	10	10	9.25	13	13	14	14	13.5	14.00	18	17	19	20	18.5	22	20	23	23	22	26	26	27	28	26.75	26.25	32	31	32	32	31.75	35	35	35	35	35	40	40	40																			

Anexo G: Crecimiento radial de los hongos patógenos en el extracto acuoso del grano de quinua.

<i>Fusarium spp.</i>																																																
CAJA			DIA 1					DIA2					DIA3					DIA4					DIA5					DIA6					DIA7					DIA8					DIA9					
r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM				
AQ D1 F R1	4	3	3	3	3.25	9	9	10	9	9.25	13	13	13	13	13	12.33	15	15	14	15	14.5	17	17	17	18	17.25	20	20	19	21	20	23.75	25	25	24	24	24.5	27	28	27	28	27.5	29	30	30	29	29.5	34.58
AQ D1 F R2	3	3	4	4	3.5	9	9	10	10	9.5	13	12	12	12	12.25	17	16	17	17	16.25	20	19	21	21	20.25	24	23	25	25	24.25	27	28	27	27	27.25	31	28	33	32	31	35	32	35	34	34			
AQ D1 F R3	5	4	3	4	4	6	6	6	7	6.25	10	10	16	11	11.75	15	15	23	17	17.38	20	20	28	22	22.19	24	24	33	27	27	30	31	37	37	33.75	37	36	40	39	38	39	38	43	41	40.25			
AQ D2 F R1	3	4	3	4	3.5	9	8	8	9	8.5	13	12	12	13	12.5	19	18	18	18	18.13	23	23	23	23	22.94	28	28	28	27	27.75	33	33	33	32	32.75	40	40	39	38	39.25	43	43	42	40	42			
AQ D2 F R2	4	3	4	4	3.75	6	6	6	8	6.5	10	11	11	12	11	12.33	15	16	15	16	15.13	19	20	18	20	19.19	23	24	22	24	23.25	25.92	29	28	28	29	28.5	35	33	34	35	34.25	36	35	36	37	36	37.92
AQ D2 F R3	4	5	4	4	4.5	10	10	10	10	10	13	14	14	13	13.5	19	18	19	18	18.13	23	21	23	23	22.44	28	25	27	27	26.75	30	29	30	31	30	34	32	34	34	33.5	36	35	36	36	35.75			
AQ D3 F R1	4	3	3	4	3.5	8	8	9	9	8.5	10	11	12	11	11	12.08	16	16	17	16	16.25	21	21	22	21	20.88	26	25	26	25	25.5	30	29	30	30	29.75	34	35	35	36	35	36	37	37	36.25			
AQ D3 F R2	4	4	3	3	3.5	10	10	12	11	10.75	14	15	16	15	15	13.42	17	18	19	20	18.13	21	21	22	24	21.69	24	24	25	28	25.25	25.75	31	29	30	32	30.5	32	31	32	33	32	33	34	35	33.75	35.92	
AQ D3 F R3	4	5	4	5	4.5	10	10	11	11	10.5	15	14	15	13	14.25	19	18	19	19	18.38	23	21	22	23	22.44	27	25	26	28	26.5	33	31	32	33	32.25	37	34	35	37	35.75	39	36	37	39	37.75			
AQ D4 F R1	4	2	3	2	2.75	6	6	6	6	6	7	8	8	8	7.75	12	13	14	13	12.88	17	18	18	18	17.44	21	22	23	22	22	26	27	28	27	27	31	32	32	31	31.5	33	35	33	34	33.75			
AQ D4 F R2	4	5	4	4	4.25	10	10	11	11	10.5	15	15	16	14	15	12.08	15	15	16	14	14.63	16	16	17	16	16.44	18	18	19	18	18.25	20	20	22	22	21	26	24	24	25	24.75	28	26	27	26.75	30.08		
AQ D4 F R3	3	4	3	4	3.5	8	9	10	8	8.75	13	14	14	13	13.5	17	15	16	16	15.75	20	18	19	19	18.88	24	20	22	22	22	26	25	25	26	25.5	28	26	26	27	26.75	30	29	29	31	29.75			
TF1	4	4	3	3	3.5	10	11	11	12	11	12	13	13	12.75	11	13	13	13	12.25	13	14	15	14	14	14	16	17	16	15.75	17	18	19	18	18	21	22	22	21	21.5	25	27	28	27	26.75				
TF2	3	3	4	4	3.5	9	9	9	9	9	10	10	10	10	10	10.42	13	13	14	14	13.25	17	17	17	17	16.88	20	20	21	21	20.5	19.08	25	23	23	24	23.75	27	25	25	27	26	28	27	29	27.75	28.75	
TF3	3	3	4	4	3.5	8	9	8	8	8.25	8	9	9	8	8.5	13	14	13	13	12.75	17	18	16	17	16.88	21	22	20	21	21	26	27	26	26	26.25	31	31	30	29	30.25	32	33	31	31	31.75			

<i>Pythium sp.</i>																																																	
CAJA			DIA 1					DIA2					DIA3					DIA4					DIA5					DIA6					DIA7					DIA8					DIA9						
r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM	r1	r2	r3	r4	PROM
AQ D1 P R1	3	4	3	3	3.25	7	7	8	8	7.5	11	11	11	10	10.75	11.50	15	15	15	15	14.75	19	18	19	19	18.75	23	22	23	23	22.75	24.00	28	27	27	28	27.5	30	29	30	31	30	32	31	32	33	32	32.33	
AQ D1 P R2	4	4	3	3	3.5	12	18	8	8	11.5	13	12	12	12	12.25	18	16	16	17	16.63	23	20	20	21	20.81	27	24	24	25	25	28	29	28	29	28	31	30	31	30	30	31.25	33	30	30	32	31.25			
AQ D1 P R3	2	3	3	2	2.5	8	8	8	8	8	12	12	11	11	11.5	16	16	16	17	15.88	19	20	20	21	20.06	23	24	24	26	24.25	28	28	29	30	28.75	31	32	31	33	31.75	33	34	33	35	33.75				
AQ D2 P R1	3	4	4	3	3.5	10	9	9	10	9.5	18	14	13	13	14.5	12.75	24	18	18	18	19	28	21	22	22	23.25	33	25	26	26	27.5	27.17	37	28	30	30	31.25	42	32	33	33	35	45	35	35	36	37.75	35.25	
AQ D2 P R2	4	2	4	2	3	8	9	9	10	9	13	13	12	12	12.5	17	18	18	18	17.25	20	22	22	22	21.63	24	26	27	27	26	28	29	30	29	29	32	31	30	30.5	31	33	32	31	31.75					
AQ D2 P R3	3	2	3	2	2.5	8	8	9	9	8.5	11	10	12	12	11.25	18	17	19	18	17.63	24	22	24	22	22.81	29	27	29	27	28	32	32	33	30	31.75	36	34	35	33	34.5	37	36	37	35	36.25				
AQ D3 P R1	2	2	2	2	2	9	8	10	9	9	13	13	13	14	13.25	17	17	17	18	17.13	21	20	21	22	21.06	25	24	25	26	25	30	28	29	32	29.75	32	31	30	33	31.5	33	32	31	34	32.5				
AQ D3 P R2	4	3	4	4	3.75	9	9	9	10	9.25	12	12	12	13	12.25	12.25	16	17	16	17	16.25	20	21	20	20	20.25	24	25	24	24	24.25	25.67	28	28	27	28	27.75	31	30	31	31	30.75	32	32	33	33	32.5	32.83	
AQ D3 P R3	3	3	4	4	3.5	8	8	9	9	8.5	11	10	12	12	11.25	17	17	19	19	17.5	21	22	24	24	22.63	26	27	29	29	27.75	30	29	33	32	31	31	30	34	33	32	32	36	34	33.5					
AQ D4 P R1	2	3	4	3	3	9	8	9	10	9	15	15	16	16	15.5	19	20	22	21	20.25	23	24	26	26	24.63	27	28	31	30	29	33	33	37	36	34.75	37	38	41	41	39.25	38	40	42	42	40.5				
AQ D4 P R2	3	2	4	2	2.75	8	8	8	9	8.25	10	10	11	10	10.25	11.83	14	14	15	15	14.5	18	18	19	20	18.63	22	22	23	24	22.75	24.08	26	27	27	28	27	27	28	27	28	27.5	29	30	29	30	29.5	33.08	
AQ D4 P R3	2	3	2	4	2.75	7	7	8	8	7.5	10	9	10	10	9.75	13	12	14	14	13.13	17	16	17	18	16.81	20	19	21	22	20.5	25	26	26	27	26	27	27	27	28	27.25	29	29	29	30	29.25				
TP1	4	3	4	2	3.25	8	8	8	9	8.25	9	10	10	11	10	11.50	16	16	17	16	16	21	21	22	21	21	26	26	27	25	26	31.08	30	29	30	28	29.25	32	30	31	32	31.25	33	31	33	34	32.75		
TP2	3	3	3	4	3.25	11	10	18	12.25	14	14	25	18	17.75	26	20	19	31	24	23.25	24	24	35	29	28	29	28	40	34	32.75	33	32	43	37	36.25	36	34	46	40	39	40	36	47	41	41	38.67			
TP3	3	4	4	3	3.5	9	10	15	12	11.5	15	14	13	16	19.5	26	20	36	20	25	33	24	39	23	29.75	40	29	42	27	34.5	44	34	44	35	39.25	45	38	45	36	41	46	39	46	38	42.25				

ANEXO H: Evidencias fotográficas



Fotografía 1. Extracción de las saponinas por el método soxhlet



Fotografía 3. Siembra de los patógenos con los extractos



Fotografía 2. Extractos

- A. Extracto etanólico de la cáscara de quinua
- B. Extracto etanólico del grano de quinua
- C. Extracto acuoso de la cáscara de quinua
- D. Extracto acuoso del grano de quinua



Fotografía 4. Concentración V/V en porcentaje-