

Actividad antifúngica de saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd. frente a hongos fitopatógenos de importancia agrícola



<https://cu-id.com/2247/v38e22>

Antifungal activity of saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. against agriculturally important plant pathogenic fungi

Hugo Alejandro Castro-Albán^{1,2*}, Rosa del Pilar Castro-Gómez², Yelenys Alvarado Capo³

¹Agromikroben, Riobamba, Chimborazo, Ecuador.

²Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Chimborazo, Ecuador. E-mail: rosa.castro@esepoch.edu.ec.

³Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Cuba

RESUMEN: El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la actividad antifúngica de saponinas extraídas de *Chenopodium quinoa* Willd. frente a cinco hongos fitopatógenos de importancia agrícola. La obtención de los extractos de saponinas se realizó por el método de Soxhlet, descrito por Amores en el año 2022, en tanto, las concentraciones se determinaron por el método espectrofotométrico UV-VIS. La actividad biológica de los extractos acuosos de saponinas se probaron sobre los hongos *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp., a las concentraciones de 100; 87,5; 75; 50 y 37,5 %, mediante el método de envenenamiento del medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (Difco, pH 5,5), y bajo un diseño completamente aleatorizado. El mayor efecto inhibitorio se evidenció sobre el crecimiento de *Alternaria* sp., con un 89,5 % a la concentración de 100 % de saponinas. En el caso de los hongos *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Botrytis* sp. no tuvieron un buen control por el efecto metabólico de las concentraciones ensayadas. Estos hallazgos brindan una nueva alternativa para el biocontrol de este hongo que, en la agricultura ecuatoriana, es un agente causante de pérdidas económicas en diferentes cultivos.

Palabras clave: cultivo andino, metabolitos secundarios, plaguicida botánico.

ABSTRACT: The aim of the present work was to determine the antifungal activity of saponins extracted from *Chenopodium quinoa* Willd. against five phytopathogenic fungi of agricultural importance. The saponin extracts were obtained by the Soxhlet method described by Amores in 2022 and the concentrations were determined by the UV-VIS spectrophotometric method. The biological activity of the aqueous extracts of saponins was tested on the fungi *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp., and *Botrytis* sp. at concentrations of 100, 87.5, 75, 50, and 37.5 % using the Potato-Dextrose-Agar culture medium poisoning method (Difco, pH 5.5) under a completely randomized design. The highest inhibitory effect was evident on the growth of *Alternaria* sp. with 89.5 % at 100 % concentration of saponins. The fungi *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., and *Botrytis* sp. were not well controlled by the metabolic effect of the concentrations tested. These findings provide a new alternative for the biocontrol of this fungus, causal agent of economic losses in different crops in Ecuadorian agriculture.

Keywords: Andean crop, secondary metabolites, botanical pesticide.

INTRODUCCIÓN

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) es un pseudocereal tradicionalmente cultivado por las culturas andinas, cuya producción y consumo crece a nivel mundial (1). Se define como "uno de los granos del siglo XXI" por su resistencia a condiciones ambientales extremas y sus propiedades nutricionales y funcionales. Tiene un alto contenido en proteínas, lípidos, fibra, vitaminas, minerales y un excelente equilibrio de aminoácidos esenciales (2). La planta se cultiva, principalmente, en los países ubicados en la cordillera de los Andes: desde el sur de Colombia hasta Ecuador, Perú, Bolivia y la parte del norte de Chile (3). Uno

de los factores que limita la producción de quinua son las enfermedades ocasionadas por varios géneros de hongos fitopatógenos (4). Dentro de los métodos de control empleados para atenuar sus efectos negativos, se encuentra el uso de plaguicidas sintéticos; sin embargo, en la actualidad se buscan alternativas de plaguicidas de origen natural que aporten a la producción agrícola y disminuyan el impacto negativo de los plaguicidas convencionales (5). Una opción para enfrentar esta problemática es el uso de semillas de quinua, las cuales contienen diversos metabolitos secundarios (saponinas, fitoesteroles, fitocosteroides, compuestos fenólicos, polisacáridos y proteínas y péptidos bioactivos), con importantes actividades

*Correspondencia a: Hugo Alejandro Castro - Albán. E-mail: castroalex1711@hotmail.es

Recibido: 14/10/2022

Aceptado: 16/12/2022

biológicas (6). Dentro de ellos, las saponinas representan un potencial biofungicida sobre microorganismos que afectan diferentes cultivos de interés agrícola (7).

En este sentido, los primeros estudios de la capacidad inhibitoria de las saponinas de quinoa se informaron sobre el crecimiento de *Candida albicans* (C.P. Robin); Berkhout (8) y *Botrytis cinerea* Pers. (9, 10). Este último autor, también declaró en sus estudios la inhibición en la germinación de los conidios de estos hongos.

En la actualidad la búsqueda de alternativas amigables con el ambiente y la salud del hombre siguen estando en la atención de los investigadores a nivel global. De ahí, que el objetivo de este trabajo fue determinar la actividad antifúngica *in vitro* de *Chenopodium quinoa* Willd. frente a cinco hongos fitopatógenos de importancia agrícola.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el laboratorio de Agromikroben, ubicado vía al cantón Chambo, provincia de Chimborazo, Ecuador.

Obtención del extracto de saponinas

Los extractos de saponinas se obtuvieron a partir de los residuos del proceso industrial de los granos de quinoa, mediante el método de Soxhlet (11). Para la preparación del extracto madre se utilizó una proporción de material vegetal: agua (3:1) y a partir de esta se prepararon las restantes concentraciones. La determinación de las concentraciones (Tabla 1) se realizó por el método espectrofotométrico UV-VIS, según la metodología descrita por Monje y Raffailac (12) y Gianna (13).

Actividad antifúngica de los extractos de las saponinas sobre los fitopatógenos

La evaluación de la actividad antifúngica se desarrolló por el método de envenenamiento, descrito por Marcano *et al.* (14). Se probaron 50 ml de extractos acuosos de saponinas a las concentraciones de 100; 87,5; 75; 50 y 37,5 %, frente a cinco cepas de hongos patógenos. Antes del ensayo, las condiciones de con-

servación de los hongos pertenecientes a la colección de cultivos microbianos de la Escuela Superior Politécnica del Chimborazo fueron las siguientes:

Los hongos fitopatógenos *Fusarium* sp., *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Alternaria* sp. *Botrytis* sp., se cultivaron en placas Petri (90 mm = Ø) que contenían medio Papa-Dextrosa-Agar (PDA) (Difco) e incubados todos a una temperatura de 25±2°C, y bajo régimen de oscuridad constante por cinco días.

Para el desarrollo del experimento se tomaron discos de cinco mm de (Ø) de la periferia de las colonias de las cepas de los hongos.

El montaje del ensayo se realizó en placas Petri (100 x 20 mm = Ø), que contenían medio de cultivo PDA (Difco) (Tabla 2). Una vez estéril el medio y verificado el pH a 5,5, se dejó enfriar hasta 50°C y se le adicionaron los extractos a las concentraciones descritas anteriormente, y para homogenizar los medios se agitaron manualmente. Posteriormente, se sembraron discos (cinco mm de Ø) del borde de la periferia de las colonias de los fitopatógenos en las placas Petri, centralmente y de forma individual. Seguidamente, las placas se incubaron a 28±1°C y en régimen de oscuridad. Se prepararon por cada hongo cinco réplicas y se incluyó un control de cada agente fitopatógeno, sembrados e incubados en igual posición. El crecimiento de los hongos se midió con una regla graduada, a partir de las 24 h y hasta las 216 horas.

El Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial del patógeno (PICR) se calculó, según la fórmula de Apaza *et al.* (10):

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{D1 - D2}{D1} \times 100$$

D1: Crecimiento radial del hongo patógeno en el tratamiento control.

D2: Crecimiento radial del hongo patógeno en el medio envenenado.

Los experimentos se repitieron dos veces, y se montaron bajo un diseño completamente aleatorizado.

Los datos correspondientes al porcentaje de inhibición del crecimiento radial de los hongos producto del efecto de los extractos se sometieron a la prueba de Kruskal-Wallis y comparación múltiple de medias no paramétrica. Se utilizó el paquete estadístico STATISTICA versión 12.0 sobre Windows (14).

Tabla 1. Concentración de saponinas en los extractos acuosos/Saponin concentration in aqueous extracts

Concentración del extracto acuoso (%)	Absorbancia UV/VIS λ=528 nm	Absorbancia	Concentración de saponinas (mg ml ⁻¹)
100	4,495	2,806	0,610
87,5	4,464	2,775	0,603
75	4,432	2,743	0,596
50	3,840	2,151	0,467
37,5	2,578	0,889	0,191

Los hongos fitopatógenos utilizados fueron CCECL- *Fusarium* sp. 01, CCECL- *Pythium* sp. 01, CCECL- *Rhizoctonia* sp. 01, CCECL- *Alternaria* sp. 01, CCECL- *Botrytis* sp. 01, pertenecientes a la colección de cultivos microbianos de la Escuela Superior Politécnica del Chimborazo (Espoch), Ecuador.

Tabla 2. Composición del medio de cultivo/Composition of the culture medium

Concentración (%)	Agua destilada (ml)	Extracto (ml)	Volumen total (ml)
100	0	50	50
87,5	6,25	43,75	50
75	12,5	37,5	50
50	25	25	50
37,5	31,25	18,75	50
Control	50	0	50

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se produjo inhibición del crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos a todas las concentraciones de saponinas ensayadas. Los extractos acuosos de saponinas a las concentraciones de 100 % (0,610 mg ml⁻¹) y 87,5 % (0,603 mg ml⁻¹) fueron las que produjeron las mayores inhibiciones del crecimiento micelial de los hongos patógenos *Fusarium* sp. y *Alternaria* sp., respectivamente, con diferencias significativas respecto a las demás concentraciones. En el caso de *Botrytis* sp., la mayor inhibición del crecimiento del hongo se alcanzó a la concentración de 50 % (0,467 mg ml⁻¹), la cual mostró diferencias significativas en relación al resto de las concentraciones. Los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp. y *Pythium* sp. tuvieron los valores más altos de inhibición de su crecimiento al exponerlos a las concentraciones de saponinas extremas de 100 % (0,610 mg ml⁻¹) y 37,5 % (0,191 mg ml⁻¹), a diferencia de las demás concentraciones (Tabla 3 y Fig. 1).

Los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial de los agentes fitopatógenos obtenidos en este trabajo son similares a los informados por Apaza *et al.* (10), quienes obtuvieron una inhibición del 75 % del crecimiento micelial de *C. beticola*; con extractos de saponinas quinua. Los autores antes mencionados atribuyen el efecto de las saponinas a su capacidad de formar complejos con esteroides, proteínas y fosfolípidos de membranas, como el principal mecanismo de actividad antifúngica.

Esa teoría se corresponde con lo planteado por Wol-demichael y Wink (8), quienes mostraron inhibición del crecimiento de *C. albicans*, aplicando un extracto crudo de saponina de *C. quinoa* a la concentración

de 50 µg ml⁻¹. Estos autores evaluaron la actividad biológica sobre la bacteria y atribuyeron su efecto a las interacciones sinérgicas, que se producen entre los múltiples componentes del extracto.

McCartney *et al.* (15) obtuvieron también actividad biológica del extracto de salvado (mojuelo) de la quinua, con lo cual evidenciaron una inhibición del crecimiento de un 50 %, aproximadamente, de los hongos *Alternaria arborescens* E.G. Simmons, *B. cinerea*, *Phytophthora cinnamomi* Rands. Mientras, el crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* (Hanzawa) W.C. Snyder & H.N. Hansen, *Pestalotiopsis clavispora* (G.F. Atk.) Steyaert, *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc., *Geotrichum* sp. y el patógeno de la quinua *Phoma* sp., tuvo una menor afectación.

Por su parte, San Martín *et al.* (16) evaluaron la eficacia del molusquicida de las saponinas contra *Pomacea caniculata* Perry en condiciones de campo, en el cultivo del arroz, en España. Estos autores descubrieron que, a la concentración de 20 mg ml⁻¹, se obtienen los mejores resultados con un porcentaje del 96,7 % de caracoles muertos; sin embargo, en un segundo ensayo realizado a las concentraciones de 7 y 10 mg ml⁻¹, obtuvieron el 100 % de caracoles muertos después de 72 horas. Los resultados mostraron la actividad antifúngica de los extractos acuosos de saponinas provenientes de *C. quinoa* sobre los hongos fitopatógenos *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp. La elevada actividad antifúngica de los extractos acuosos podría deberse a compuestos químicos presentes. En este sentido, en nuestro trabajo no se identificaron pero, en estudios previos Stuardo (9) declara la existencia de dos tipos de saponinas de quinua: las saponinas monodesmosídicas y las bidesmosídicas. Normalmente, tienen ma-

Tabla 3. Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de los hongos patógenos para las diferentes concentraciones de saponinas a los 9 días/ Percentage of mycelial growth inhibition of pathogenic fungi by the different concentrations of saponins at 9 days

Concentración de saponina (%)	Inhibición del crecimiento micelial (%)				
	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Rhizoctonia</i> sp.	<i>Pythium</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Botrytis</i> sp.
100	26,42 a	8,14 b	13,24 a	89,5 a	1,82 d
87,5	19,37 b	3,26 c	3,68 c	87,3 ab	13,33 b
75	17,61 b	3,72 c	6,86 b	85,1 b	3,64 c
50	7,24 d	8,60 b	1,72 d	78,2 c	28,48 a
37,5	12,72 c	10,47 a	12,01 a	66,3 d	3,64 c

Medianas con letras distintas en el sentido de las columnas difieren significativamente según la prueba de Kruskal-Wallis H (7, N= 5) =30,96502 p =0,0001, y comparación múltiple de medias no paramétrica (p (0,008)

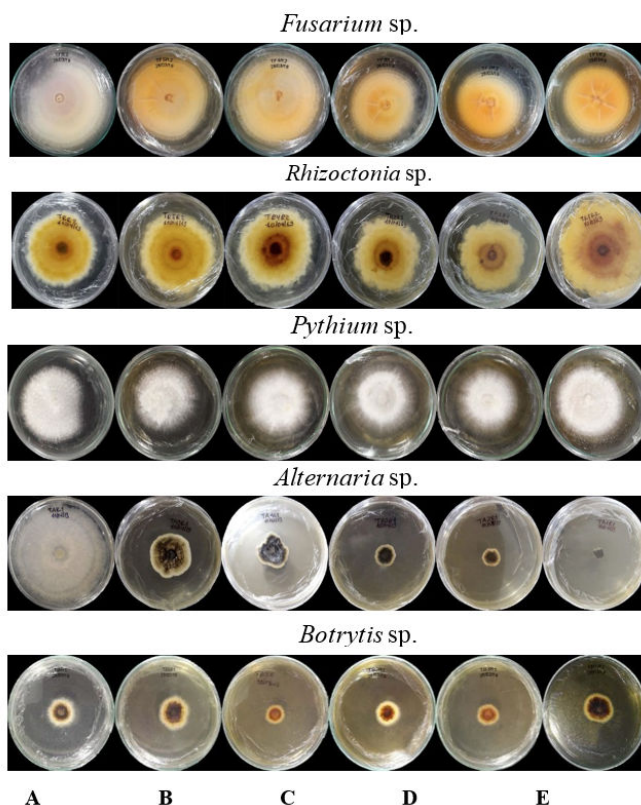


Figura 1. Efecto de las concentraciones de extractos acuosos de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Will.) sobre el crecimiento de los hongos fitopatógenos, a los 9 días.

A (Control), B (37, 5 %), C (50 %), D (75 %), E (87,5 %), F (100 %) / Effect of concentrations of aqueous extracts of quinoa (*Chenopodium quinoa* Will.) saponins on growth of plant pathogenic fungi at 9 days. A (Control), B (37. 5 %), C (50 %), D (75 %), E (87.5 %), F (100 %)

por actividad fungicida las monodesmosídicas, por lo que también sería recomendable realizar pruebas a partir de extractos con mayor proporción de saponinas monodesmosídicas.

El presente trabajo demuestra la actividad antifúngica *in vitro* que ejercieron los extractos acuosos de saponinas provenientes de quinua sobre el crecimiento micelial de cinco géneros de hongos fitopatógenos, causantes de enfermedades de importancia económica en la agricultura.

AGRADECIMIENTOS

Los resultados de este trabajo forman parte del proyecto de tesis de doctorado, “Bioproducto a partir de residuales de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) para el manejo de patógenos fúngicos de plantas” del Programa Doctoral en Biotecnología Vegetal del Instituto de Biotecnología de las Plantas de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Los autores agradecen al señor José Manuel Yumbo Tocto por facilitar la semilla de quinua para la realización de este trabajo, así como a la empresa Agromikroben por su contribución. La investigación se llevó a cabo con fondos propios.

REFERENCIAS

1. Basantes F, Aragón JP, Albuja M. Cultivos andinos de importancia agroproductiva y comercial en la zona 1 del Ecuador. Editorial Universidad Técnica del Norte, Ibarra-Ecuador. 2022; 192pp.
2. Hernández-Ledesma B. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as a source of nutrients and bioactive compounds: a review. *Bioactive Compounds in Health and Disease*. 2019; 2 (3): 2747.
3. Chaudhary N, Walia S, Kumar R. Functional composition, physiological effect and agronomy of future food quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): A review. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2023; 118. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105192>
4. Plata G, Gandarillas A. Enfermedades más importantes que afectan al cultivo de la quinua en Bolivia. *Revista de Agricultura*. 2014; 54:19-28.
5. Casas MM, Cristancho JA. Determinación de la actividad plaguicida de las saponinas presentes en la cáscara de las semillas de la especie vegetal quinua (*Chenopodium quinoa*) para aplicación en cultivos de fresa (*Fragaria albión*). Tesis de

- Tecnología en Química Industrial. Bogotá, Colombia. 2022; 56 pp.
6. El Hazzam K, Hafsa J, Sobeh M, Mhada M, Taourirte M, Kacimi KEL, et al. An insight into saponins from Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd): A review. *Molecules*. 2020; 25 (5): 1-22.
 7. Singh B, Kaur A: Control of insect pests in crop plants and stored food grains using plant saponins: a review. *Food Science and Technology*. 2018; 87: 93-101.
 8. Villacrés E, Quelal M, Galarza S, Iza D, Silva E. Nutritional value and bioactive compounds of leaves and grains from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Plants*. 2022; 11 (2): 1-11.
 9. Stuardo M, San Martin R. Antifungal properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) alkali treated saponins against *Botrytis cinerea*. *Industrial Crops and Products*. 2008; 27: 296-302.
 10. Apaza R, Smeltekop H, Flores Y, Almanza G, Salcedo L. Efecto de saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd contra el fitopatógeno *Cercospora beticola* Sacc. *Rev. Protección Veg* 2016; 31(1): 63-69.
 11. Dean J. *Extraction Techniques in Analytical Sciences*. [S.L.]: John Wiley & Sons, 2010; 167 pp.
 12. Monje CY, Raffailac JP. Determinación de saponina total en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) método Espectrofotométrico. Memoria IV Congreso Nacional de la Asociación Boliviana de Protección Vegetal. Oruro, 5 al 7 de abril de 2006. C.E.A.C. -Dpto.Fitotecnia-FCAPV UTO. ABPV. Oruro, Bolivia, 2006; pp. 217-218
 13. Gianna V. Extracción, cuantificación y purificación de saponinas de semillas de *Chenopodium quinoa* Willd provenientes del noroeste argentino. [Tesis Doctoral]. Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 2013; 116 pp. Argentina.
 14. StatSoft, Inc. STATISTICA (data analysis software system), version 12. 2014, www.statsoft.com.
 15. McCartney NB, Ahumada MI, Muñoz MP, Rosales IM, Fierro AM y Chorbadjian RA. Effects of saponin-rich quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) bran and bran extract in diets of adapted and non-adapted quinoa pests in laboratory bioassays. *Ciencia e Investigación Agraria* 2019; 46 (2): 125-136.
 16. San Martin R, Ndjoko K, Hostettmann K. Novel molluscicide against *Pomacea caniculata* based on quinoa (*Chenopodium quinoa*) saponins. *Crop Protection*. 2008; 27: 310-317.

Declaración de conflicto de intereses: Los autores declaran no poseer conflicto de intereses

Contribución de los autores: Hugo Alejandro Castro-Albán Conceptualización; Curación de datos; Investigación; Redacción - borrador original; Redacción - revisión y edición. Rosa del Pilar Castro-Gómez: Conceptualización; Curación de datos; Investigación; Redacción - borrador original; Redacción - revisión, edición. Yelenys Alvarado Capo: Conceptualización; Curación de datos; Investigación; Redacción - borrador original; Redacción - revisión, edición.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)