



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
CIÊNCIAS DA VIDA E DA NATUREZA**

(ILACVN)

BIOTECNOLOGIA

**EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DEL EXTRACTO ETANOLICO DE GRANOS DE
QUINUA (*Chenopodium Quinoa Willd*) SOBRE EL COMPORTAMIENTO,
DESENVOLVIMIENTO Y ESTRÉS OXIDATIVO EN EL ORGANISMO MODELO
*Caenorhabditis Elegans***

HERBERT JESUS APAZA ZELA

FOZ DO IGUAÇU

2022

Herbert Jesús Apaza Zela

Evaluación de los efectos del extracto etanólico de granos de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) sobre el comportamiento, desenvolvimiento y estrés oxidativo en el organismo modelo *Caenorhabditis elegans*

Trabajo de Conclusión de Curso II presentado al Instituto Latinoamericano de Ciencias de la Vida y de la Naturaleza de la Universidad Federal de la Integración Latinoamericana, como requisito parcial a la obtención del título de grado en Biotecnología

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Leticia Priscilla Arantes
UNILA

Prof. Dr. Rafaella Costa Bonugli Santos
UNILA

Dra. Larissa Marafiga Cordeiro
UFSM

Foz do Iguaçu, 28 de marzo del 2022

TERMO DE SUBMISSÃO DE TRABALHOS ACADÊMICOS

Nome completo do autor(a): Herbert Jesús Apaza Zela _____

Curso: Biotecnologia _____

Tipo de Documento	
<input checked="" type="checkbox"/> graduação	<input type="checkbox"/> artigo
<input type="checkbox"/> especialização	<input checked="" type="checkbox"/> trabalho de conclusão de curso
<input type="checkbox"/> mestrado	<input type="checkbox"/> monografia
<input type="checkbox"/> doutorado	<input type="checkbox"/> dissertação
	<input type="checkbox"/> tese
	<input type="checkbox"/> CD/DVD – obras audiovisuais
	<input type="checkbox"/> _____

Título do trabalho acadêmico: Evaluación de los efectos del extracto etanólico de granos de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) sobre el comportamiento, desenvolvimiento y estrés oxidativo en el organismo modelo *Caenorhabditis elegans*

Nome do orientador(a): Prof. Dr.Leticia Priscilla Arantes _____

Data da Defesa: 28/03/2022

Licença não-exclusiva de Distribuição

O referido autor(a):

a) Declara que o documento entregue é seu trabalho original, e que o detém o direito de conceder os direitos contidos nesta licença. Declara também que a entrega do documento não infringe, tanto quanto lhe é possível saber, os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade.

b) Se o documento entregue contém material do qual não detém os direitos de autor, declara que obteve autorização do detentor dos direitos de autor para conceder à UNILA – Universidade Federal da Integração Latino-Americana os direitos requeridos por esta licença, e que esse material cujos direitos são de terceiros está claramente identificado e reconhecido no texto ou conteúdo do documento entregue.

Se o documento entregue é baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não a Universidade Federal da Integração Latino-Americana, declara que cumpriu quaisquer obrigações exigidas pelo respectivo contrato ou acordo.

Na qualidade de titular dos direitos do conteúdo supracitado, o autor autoriza a Biblioteca Latino-Americana – BIUNILA a disponibilizar a obra, gratuitamente e de acordo com a licença pública *Creative Commons Licença 3.0 Unported*.

Foz do Iguaçu, 28 de marzo del 2022

Assinatura do Responsável

Dedico este trabajo a mi familia, amigos,
profesores y colegas que me acompañaron
a lo largo de mi camino.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a Dios, por haberme guiado y acompañado de llegar hasta aquí, por ser mi fortaleza en momentos de penumbra, por las personas que me permitió conocer a lo largo de estos años y las nuevas experiencias.

A mi orientadora, Leticia Arantes, por su apoyo incondicional a cada paso, demasiada comprensión y la constante orientación a lo largo de la carrera, tengo que agradecerle sus comentarios, direcciones, sugerencias y las correcciones con las que he podido elaborar una adecuada memoria de todo el trabajo realizado durante estos últimos años, su dedicación por los estudiantes y su constancia en el desarrollo de nuestras actividades curriculares y extracurriculares es digno de admirar y valorar, a los profesores miembros de la banca examinadora, por la disposición dada.

Agradezco a mis padres, Jesús y Fabiana por apoyarme en todo momento, por los valores que me han inculcado, por darme fuerzas para salir adelante y continuar con mis metas, inclusive en momentos muy difíciles para mí. Gracias por confiar en mí, en mi decisión de atravesar fronteras y venir a un país desconocido, con una cultura e idioma diferente. Sin lugar a dudas, una de las mejores experiencias que viví hasta ahora, tuve la oportunidad de compartir historias, ideas y sueños con cada persona que conocí aquí.

A mi hermana Yessenia Cindy por ser parte importante de mi vida y representar el pilar de una unidad familiar, por llenar mi vida de alegrías y amor cuando más lo he necesitado.

Agradezco a mis familiares, por estar en constante comunicación, es muy difícil estar solo. Agradezco al primer amigo que me acogió aquí, Mijael Aguirre, que fue indispensable para mí en mi primer año, aún sigo sorprendido de conocer a una persona tan sencilla, humilde y sincera, un abrazo fraterno hasta el cielo ¡Lo logré querido Mija!

También agradezco a Eliana por todo el apoyo brindado en las buenas y en las malas, por tener tanta paciencia y por siempre buscar la manera de alentarme

y no rendirme. Por soportar mis ratos de histeria y ser una excelente amiga y compañera.

También a mis compañeros de casa, especialmente a Osvaldo, Liz, Letyza y Sergio por ser mis confidentes en las buenas y malas todos estos años, a Raul y por la paciencia y las charlas amenas a la hora del almuerzo y la cena, las cuales me ayudaron a aclarar muchas perspectivas para mí futuro.

También quiero agradecer a mis compañeros de clase, a Sara Lima, Jaime y Leticia Alcaraz que me acompañaron en esas amanecidas de estudio, descanso, repasos en los corredores y la biblioteca. También a mi querido compañero de luchas, Willy, por todos los momentos de euforia vividos estos largos años, por llenar mi vida de alegrías y risas, por motivarme a seguir adelante en los momentos de tristeza, desesperación e incalculables caídas, fue muy grandioso compartir todos estos retos, así como a mis colegas de curso, especialmente del periodo 2017.1, crecimos, pasamos por preocupaciones, estrés y disfrutamos nuestros logros a lo largo del curso, estoy seguro que cada uno alcanzará sus metas.

A mis amigos de la comunidad Perú Unila por inspirarme a seguir aprendiendo, creciendo y dejar nuestro granito de arena para nuestro país y Latinoamérica, cada miembro tiene una historia increíble que contar, sin lugar a dudas, un grupo muy unido.

Agradezco a mis queridos amigos, Julio Suni “Timo” y Fiorela Huamán por brindarme la confianza y el apoyo en todo momento, por siempre estar aconsejándome y ayudarme a superar los momentos de caóticos de la vida universitaria. A mis “amigos de pandemia – Los Tilines”, Flor, Guido, Wendy, Jorge, Pool, Yovely, Aramir y Antony que a pesar de encontrarse en Perú me acompañaron en aquellas tardes y noches amenas de carcajadas y chismes, un grupo muy unido.

También agradezco a mis excompañeros de universidad, Lucio, Jose, Kevin, Rodrigo, Enmanuel, Kely y Nohelia que fueron amistades indispensables, por confiar y creer en mí y haber hecho de mi etapa universitaria un trayecto de vivencias que nunca olvidaré.

Finalmente, agradezco a la UNILA y a cada uno de los profesores con los cuales tuve la oportunidad de llevar clases, por las experiencias compartidas en sala de aulas, valoro mucho su profesión, muchas gracias por su preocupación y por

transmitir ese amor por la ciencia y la Biotecnología a cada alumno. Me llevo conocimientos e historias ejemplares con cada uno de ustedes. En general agradezco a todas las personas que se tomarán el tiempo de leer este trabajo, espero les sea de interés y sea de su agrado.

*Lakimanta pachapuni lloqsinayki,
Kay aswan kallpayoq kalppayoq nanaymanta
ñak'ariyniyki sapallanmanta pasapullanqan
Ama yuyatchu ñishuta ñakariyniykitaqa.
Astawan yuyay llank'asqaykipi,
ñak'ariyniyki sapallanmanta pasapullanqan.
llapa ruwaykiykinuna kanki qanmi.
Llalliypuni, ¡qanllapin kashian!
Ama qonqaychu, khunanmanta
munaqtiykiqa qallariy.
Paqariypaq kawsayniyki, khunan ruwasqayki.
Aprende a surgir desde las penas,
sé más fuerte que el más fuerte de los dolores,
y tus problemas sin ahuyentarlos se alejarán.
No pienses mucho en tus fracasos,
cavila más en lo que obras,
y tus problemas sin ahuyentarlos se alejarán.
el resultado de tus obras eres tú.
debes vencer, ¡de ti depende!
No olvides, que ahora mismo puedes empezar
causa de tu porvenir será tu presente.*

Anónimo

APAZA ZELA, Herbert Jesús. **EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DEL EXTRACTO ETANOLICO DE GRANOS DE QUINUA (*Chenopodium Quinoa Willd*) SOBRE EL COMPORTAMIENTO, DESENVOLVIMIENTO Y ESTRÉS OXIDATIVO EN EL ORGANISMO MODELO *Caenorhabditis Elegans***. 2022. 53. Proyecto de Conclusión de Curso (Graduación en Biotecnología) – Universidad Federal de la Integración Latinoamericana, Foz de Iguazú, 2022.

RESUMEN

La quinua es un pseudocereal muy conocido por su alto valor nutricional debido a sus aminoácidos, caracterizados como esenciales. No obstante, los fitoquímicos también demostraron efectos beneficiosos para la reducción de riesgos de enfermedades relacionadas al estrés oxidativo. Los antioxidantes son de gran envergadura para la prevención de la actuación de los radicales libres sobre nuestro organismo y el estrés oxidativo es el resultado de un desequilibrio. Este estudio utilizó el nematodo *Caenorhabditis elegans* cepa N2 (tipo salvaje) como organismo modelo para probar el efecto antioxidante, el comportamiento y el desenvolvimiento reproductivo del extracto etanólico de granos de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) (EECQ) obtenido a través del método Soxhlet. Para ello se hizo un tratamiento al *C. elegans* con extracto a 100,200,400 y 800 µg/ml con un vehículo de 1% etanol en medio buffer M9 durante 1 h en la etapa de adulto joven del nematodo para evaluar los efectos sobre el comportamiento, desarrollo y parámetros de crecimiento reproductivo. Para investigar los efectos antioxidantes del extracto se utilizó H₂O₂ a 200 mM como agente oxidante en los gusanos pre-tratados con EECQ y se evaluó la tasa de supervivencia bajo estrés oxidativo. El análisis estadístico se hizo mediante el software GraphPad Prism 9. El estudio tuvo resultados significativos encontrando un aumento de 27.8 % en latidos faríngeos y 16.4% en flexión de cuerpo del tratamiento a 400 y 800 µg/ml con respecto al control. Para el desarrollo reproductivo, no se encontraron cambios en los grupos con el tratamiento EECQ. En relación al estrés oxidativo se destacó la sobrevivencia de 57.3% a diferencia del grupo control que tuvo una estimativa menor a 20% de supervivencia. En conclusión, se mostró que el extracto presenta actividad antioxidante in vivo en el modelo estudiado.

Palabras clave: estrés oxidativo, producto natural, *C. elegans*, extracto vegetal, *C. quinua*.

APAZA ZELA, Herbert Jesús. **AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO EXTRATO ETANOICO DE GRÃOS DE QUINOA (*Chenopodium Quinoa Willd*) SOBRE O COMPORTAMENTO, DESENVOLVIMENTO E ESTRESSE OXIDATIVO NO ORGANISMO MODELO *Caenorhabditis Elegans***. 2022. 53. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz de Iguazú, 2022.

RESUMO

A quinoa é um pseudocereal bastante conhecido por seu alto valor nutricional devido aos seus aminoácidos, caracterizados como essenciais. No entanto, os fitoquímicos também demonstraram efeitos benéficos na redução do risco de doenças relacionadas ao estresse oxidativo. Os antioxidantes são de grande importância na prevenção da ação dos radicais livres em nosso corpo e o estresse oxidativo é resultado de um desequilíbrio. Este estudo utilizou o nematódeo *Caenorhabditis elegans* cepa N2 (tipo selvagem) como organismo modelo para testar o efeito antioxidante, o comportamento e o desenvolvimento reprodutivo do extrato etanólico de grãos de quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*) (EECQ) obtido pelo método Soxhlet. Para isso, foi feito um tratamento para *C. elegans* com extrato a 100.200.400 e 800 µg/ml com veículo etanol 1% em meio tampão M9 por 1 h na fase adulta jovem do nematóide para avaliar os efeitos no comportamento, desenvolvimento e nos parâmetros de crescimento reprodutivo. Para investigar os efeitos antioxidantes do extrato, 200 mM H₂O₂ foi usado como agente oxidante nos vermes pré-tratados com EECQ e a taxa de sobrevivência sob estresse oxidativo foi avaliada. A análise estatística foi feita com o software GraphPad Prism 9. O estudo teve resultados significativos, encontrando um aumento de 27,8% nos batimentos faríngeos e 16,4% na flexão corporal do tratamento a 400 e 800 µg/ml em relação ao controle. Para o desenvolvimento reprodutivo, não foram encontradas alterações nos grupos com o tratamento EECQ. Em relação ao estresse oxidativo, destacou-se a sobrevida de 57,3%, ao contrário do grupo controle que teve estimativa de sobrevida inferior a 20%. Em conclusão, foi demonstrado que o extrato apresenta atividade antioxidante para o modelo estudado.

Palavras-chave: estresse oxidativo, produto natural, *C. elegans*, extrato vegetal, *C. quinoa*.

APAZA ZELA, Herbert Jesus. **EVALUATION OF THE EFFECTS OF THE ETHANOL EXTRACT OF QUINOA GRAINS (*Chenopodium Quinoa Willd*) ON THE BEHAVIOR, DEVELOPMENT AND OXIDATIVE STRESS IN THE MODEL ORGANISM *Caenorhabditis Elegans***. 2022. 53. Course Completion Project (Graduation in Biotechnology) – Federal University of Latin American Integration, Foz de Iguazú, 2022.

ABSTRACT

Quinoa is a pseudocereal well known for its high nutritional value due to its amino acids, characterized as essential. However, the phytochemicals also demonstrated beneficial effects in reducing the risk of diseases related to oxidative stress. Antioxidants are of great importance in preventing the action of free radicals on our body and oxidative stress is the result of an imbalance. This study used the nematode *Caenorhabditis elegans* strain N2 (wild type) as a model organism to test the antioxidant effect, behavior and reproductive development of the ethanolic extract of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) grains (EECQ) obtained through the Soxhlet method. For this, a treatment was made to *C. elegans* with extract at 100,200,400 and 800 µg/ml with a 1% ethanol vehicle in M9 buffer medium for 1 h in the young adult stage of the nematode to evaluate the effects on behavior, development and reproductive growth parameters. To investigate the antioxidant effects of the extract, 200 mM H₂O₂ was used as an oxidizing agent in the worms pre-treated with EECQ and the survival rate under oxidative stress was evaluated. The statistical analysis was done using the GraphPad Prism 9 software. The study had significant results, finding an increase of 27.8% in pharyngeal beats and 16.4% in body flexion of the treatment at 400 and 800 µg/ml with respect to the control. For reproductive development, no changes were found in the groups with the EECQ treatment. In relation to oxidative stress, the survival of 57.3% stood out, unlike the control group that had an estimate of less than 20% survival. In conclusion, it was shown that the extract presents antioxidant activity in vivo in the studied model.

Keywords: oxidative stress, natural product, *C. elegans*, plant extract, C. quinoa.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Morfología del grano de quinua	20
Figura 2 - Vista lateral (lado izquierdo) anatómica de un adulto <i>Caenorhabditis elegans</i> hermafrodita.....	24
Figura 3 - Ciclo de vida de <i>C. elegans</i>	25
Figura 4 - Sincronización de <i>C. elegans</i>	32
Figura 5 - Evaluación del comportamiento de latidos faríngeos en gusanos salvajes expuestos a EECQ durante 1h hora a 20°C.....	37
Figura 6 - Efectos de EECQ sobre la locomoción corporal de <i>C. elegans</i> tipo salvaje N2 en estadio joven adulto en 1 h a 20°C	38
Figura 7 - Comportamiento reproductivo del nematodo <i>C. elegans</i> después de la exposición de 24 horas al EECQ.....	39
Figura 8 - Efecto de diferentes concentraciones de EECQ sobre la tasa de supervivencia bajo estrés oxidativo inducido por H ₂ O ₂ en vermes de tipo salvaje N2.....	40

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 - Especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN)	22
Tabla 2 - Lista de reactivos y procedimiento para el Nematode Growth Medium (NGM)	29
Tabla 3 - Lista de reactivos y procedimiento para el Medio Luria Bertani el cual se utiliza en el mantenimiento y crecimiento de la <i>E. coli</i> OP50	30
Tabla 4 - Lista de reactivos y procedimiento para el M9 Buffer.....	31
Tabla 5 - Lista de reactivos de la solución Bleaching.....	31

LISTA DE ABREVIATURAS

- °C - grados centígrados
- C - Cotiledones
- CEUA - Formación de Comités de Ética para el uso de Animales
- CONCEA - Consejo Nacional para el Control de la Experimentación Animal
- DAF-16 - Ortólogo de FOXO em *C. elegans*
- DNA - Ácido Desoxirribonucleico
- DPPH - 1,1-difenil-2-picril-hidrazil
- EAG – Equivalente al ácido gálico
- EECQ – Extracto etanólico del grano *Chenopodium Quinoa*
- EN - Endosperma
- ERN - Espécies reativas de nitrogênio
- ERO – Espécies reativas de oxigênio
- f - funículo
- H - Hipocotilo
- H₂O₂ – Peróxido de Hidrogênio
- PM- Peso Molecular
- L1, L2, L3, L4 - Fases de crecimiento do nematoide *C. elegans*
- NGM – Medio de crecimiento para nematodos, de inglés “Nematode Growth Medium”
- O₂ - Radical superóxido
- OH- - Radical hidroxila
- P - Perisperma
- PE- Pericarpio
- R - Radícula
- rpm – Revoluciones por minuto
- SA - Ápice del meristemo
- Sc - Cubierta de la semilla

SUMARIO

1. INTRODUCCIÓN	17
1.1. QUINUA: ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN.....	17
1.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	18
1.3. CARACTERÍSTICAS FENOLOGICAS Y MORFOLOGICAS.....	18
1.4. PROPIEDADES MORFOLOGICAS DEL GRANO DE LA QUINUA.....	19
1.5. PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DEL GRANO DE QUINUA	20
1.6. ANTIOXIDANTES.....	21
1.6.1. Especies Reactivas De Oxigeno	21
1.6.2. Estrés Oxidativo	22
1.7. MODELO EXPERIMENTAL <i>Caenorhabditis elegans</i>	23
1.7.1. ASPECTOS GENERALES	23
1.7.2. ANATOMIA.....	24
1.7.3. CICLO DE VIDA	25
1.7.4. <i>Caenorhabditis elegans</i> COMO ORGANISMO MODELO	26
2. OBJETIVO	28
2.1. OBJETIVO GENERAL.....	28
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
3. METODOLOGIA	29
3.1. CRECIMIENTO Y MANUTENCIÓN DE CEPAS DEL <i>C. elegans</i>	29
3.2. SINCRONIZACION DEL <i>C. elegans</i>	30
3.3. EXTRACTO DE GRANO <i>Chenopodium Quinoa Willd</i>	32
3.4. ENSAYOS BIOLÓGICOS.....	32

3.4.1. TRATAMIENTO CON EL EXTRACTO ETANOLICO DEL GRANO DE <i>Chenopodium Quinoa Willd.</i>	32
3.4.2. PRUEBA DE LATIDO FARINGEO	33
3.4.3. PRUEBA DE BODY BENDS.....	33
3.4.4. PRUEBA DE CRECIEMINTO REPRODUCTIVO	34
3.4.5. PRUEBA DE RESISTENCIA AL ESTRÉS OXIDATIVO	34
.....	34
3.4.6. PRUEBA DE DESENVOLVIMIENTO Y DESARROLLO.....	34
3.4.7. ANALISIS ESTADISTICO.....	34
4. RESULTADOS	35
5. DISCUSION.....	41
4. CONCLUSION.....	44
5. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	45

1. INTRODUCCIÓN

1.1. QUINUA: ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN

En los Andes encontramos una diversidad de civilizaciones las cuales según la historia son artífices de fortificantes productos alimenticios. Uno de ellos es la quinua, considerada como un alimento mítico y sagrado por la cultura inca. La quinua constituye uno de los principales componentes de la dieta alimentaria de la familia de los Andes, fue base nutricional en las principales culturas americanas.

La quinua al menos tiene 500 años de antigüedad. Sin embargo, varios autores que se basan en los principios de Vavilov, indican que la quinua (*Chenopodium Quinoa Will*) tiene un origen en el altiplano andino entre los países de Perú y Bolivia (MÚJICA et al., 2002).

Su distribución se extiende desde el sur de Perú, atraviesa el altiplano de Bolivia, el norte de Chile y el noroeste de Argentina hasta la provincia de Mendoza, ocupando una faja latitudinal entre los 14° y 32° 40' Sur (MARTÍNEZ CARRETERO., 1995).

1.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Según varios autores indican que es un cereal y es perteneciente a la familia Chenopodiáceas. Se estima que el género *Chenopodium* es el principal y por el cual se tiene amplia distribución mundial, con 250 especies (GIUSTI., 1970).

La quinua pertenece a la siguiente clasificación taxonómica según Giusti, 1970:

Reino : Vegetal

Sub reino : Phanerogamae

División : Angiospermae

Clase : Dicotyledoneae

Sub clase : Archychlamydeae

Orden : Centrospermales

Familia : Chenopodiáceae

Género : *Chenopodium*

Sección : Chenopodia

Especie : *Chenopodium quinoa Willdenow*

1.3. CARACTERÍSTICAS FENOLOGICAS Y MORFOLOGICAS

El contenido de materia de los granos de quinua depende de la variedad de la planta, las condiciones climáticas durante el período de cultivo, recolección y condiciones de almacenamiento. (REPO, C. et al., 2011). Según Repo y Carrasco (2008), citado por Glorio., et al. (2003) indica que la quinua es una planta anual de tamaño entre 1 y 3,5 metros. La panoja tiene entre 15 y 70cm y puede llegar a un rendimiento de 200 g de granos por panoja. Las semillas pueden ser blancas, cafés, amarillas, grises, rosadas, rojas o negras y se clasifican según su tamaño en grandes (2,2-2,6mm), medianas (1,8-2,1mm) y 1 pequeñas (menos de 1,8mm).

Algunos factores como las diferencias en las condiciones de secado y almacenamiento, tiempo de cosecha y fertilización, vegetación, estructura del suelo, el clima y el riego también afectan el contenido nutricional. Por otro lado, en casos donde la tierra se mezcla con los granos durante la cosecha y procesamiento, el contenido nutricional puede ser mayor. (ÜKE Ö et al., 2017)

Muchos autores indicaron que existían diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes variedades de quinua en términos de contenido de nutrientes, este es correlacionado por factores fenológicos. (AYASAN., 2020) sin embargo, diferentes estudios demostraron que la especie *Chenopium Quinoa Willd.* Se encuentra en un rango de por lo que se podría decir que es parcialmente estandarizada.

El grano de quinua es libre de gluten, es compuesto por proteínas de alto valor biológico que se encuentran entre 12 - 21%, grasa 4 - 8%, carbohidratos 55-78% y fibra 4-10%. Adicionalmente, se destaca el contenido de omega 3 y omega 6, niacina, riboflavina vitamina B6, ácido fólico, fósforo, potasio, calcio, manganeso, hierro y selenio.

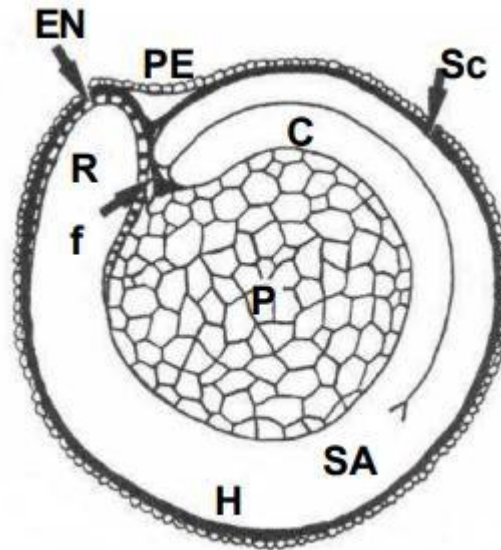
El grano de quinua presenta un rico contenido en compuestos fenólicos, betalaínas, camperol, ácido benzoico y saponinas. Según Repo Carrasco (2010) encontró que los compuestos fenólicos (71,7 mgEAG.100 g⁻¹ del extracto) son superiores en comparación con otros cereales andinos como Kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*), Kiwicha (*Amaranthus caudatus*).

1.4. PROPIEDADES MORFOLOGICAS DEL GRANO DE LA QUINUA.

El fruto de la quinua es un aquenio más conocido como el grano de la quinua que es derivado de un ovario supero unilocular y de simetría dorsiventral, tiene un cilindro lenticular (GALLARDO et al., 1997). El fruto está cubierto por completo por el perigonio que cubre una sola semilla, esta consta de dos capas (episperma exterior y perisperma interior) definidas y de diferentes colores según su variedad, con un diámetro aproximado de 1,5 a 4 mm. Asimismo, el perigonio es sencillo de retirar con el vapor o cuando se encuentra seco (TAPIA, 2007). El perisperma es fácilmente reconocido por cuatro partes definidas. Una capa externa que contiene una superficie rugosa, que contiene saponina (CHIPANA, 1992). La segunda capa contrasta con otro tipo de color. En la tercera

capa consta de una membrana delgada de color amarillo y la cuarta capa contiene gran cantidad de células que protegen el embrión (Figura 1).

Figura.1 Morfología del grano de quinua: PE: Pericarpio EN: Endosperma;Sc: Cubierta de la semilla; C: Cotiledones; H: Hipocotilo; SA: Ápice del meristemo; R: Radícula; P: Perisperma f: funículo.



Fuente: MÚJICA et al., 2001

1.5 PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DEL GRANO DE QUINUA

Chenopodium quinoa Willd. se considera un alimento con grandes propiedades funcionales porque contiene compuestos que están asociados con varios beneficios para la salud. En diferentes cereales existen gran cantidad de sustancias bioactivas naturales procedentes de metabolitos secundarios, como alcaloides, glucósidos, ácidos grasos, terpenoides y polifenoles (BIAZOTTO et al., 2019). Según Lee (2004) indica que estos fitoquímicos naturales actúan como antioxidantes al inhibir o retrasar la oxidación de otras moléculas mediante la inhibición de la propagación de la reacción de oxidación. Las propiedades beneficiosas de diferentes frutos autóctonos andinos están asociadas a sus componentes químicos que realizan actividades biológicas relevantes, tales como,

antimicrobiano (CARDOSO et al., 2010), antiproliferativo (ALVES et al., 2019), antiinflamatorio (LEUNG et al., 2008) y antioxidante (SCHIASI et al., 2018).

Los granos de quinoa dotan de compuestos con estructura fenólica de gran potencial benéfico para la salud entre ellos destacan la ácidos fenólicos (ácidos p-hidroxibenzoico, 3-4-dihidroxibenzoico, vanillico y protocatéquico) y flavonoides (quercetina y canfero). (HIROSE et al., 2010).

1.6. ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son moléculas capaces de prevenir o retardar la oxidación de moléculas biológicas como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. Son de vital importancia para la prevención de la actuación de los radicales libres sobre el organismo; disminuyendo los procesos oxidativos, retardando el proceso de envejecimiento y previniendo el desarrollo de diversas enfermedades.

1.6.1. ESPECIES REACTIVAS DE OXIGENO

Especies reactivas de oxígeno tiene como definición un conjunto de metabolitos del oxígeno parcialmente reducidos que poseen una fuerte capacidad oxidante en concentraciones altas. Sin embargo, en concentraciones bajas estas cumplen una serie de funciones de señalización complejas. (SCHMIDT et al., 2015).

Su función se centra en un conjunto de moléculas mensajeras que regulan una amplia variedad de procesos fisiológicos celulares incluyendo la proliferación, la diferenciación y la apoptosis. Además, los ROS son observados como reguladores fisiológicos de vías o cascadas de señalización intracelulares activadas por factores de crecimiento. (CHIARUGI et al., 2003). Cualquier cambio temporal en el estado redox de la célula se alteran las vías de señalización. (OTTUM et al., 2015).

En el ROS se constituyen dos especies más representantes entre especies radicales y no radicales al igual que en las especies reactivas de nitrógeno (RNS), las cuales poseen moléculas que son denominadas por radicales libres. (Tabla. 1). Asimismo, disponen de átomos o grupo de átomos con electrones desapareados en la última capa de valencia. (HALLIWELL, 2007).

Tabla 1. Especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN)

Especies reactivas de oxígeno (ERO)			
Radicales			
Superóxido	O_2^{*-}	Radical alcóxido	RO^*
Hidroxilo	$*OH$	Radical peróxido	ROO^*
No radicales			
Peróxido de hidrogeno	H_2O_2	Ozono	O_3
Oxígeno singuiente	1O_2	Peróxido orgánico	$ROOH$
Acido hipocloroso	$HOCL$	Ácido hipobromoso	$HOBBr$
Especies reactivas de nitrógeno (ERN)			
Radicales			
Oxido nítrico	NO^*	Dióxido de nitrógeno	NO_2^*
No radicales			
Peroxinitrito	$ONOO^-$	Catión nitrosonio	NO^+
Trióxido de dinitrógeno	N_2O_3	Anión nitroxilo	NO^-
Tetraóxido de dinitrógeno	N_2O_4	Ácido peroxinitroso	$ONOOH$
Ácido nitroso	HNO_2	Peroxinitrilos alquílicos	$ROONO$

Fuente: PHANIENDRA ET AL., 2015; BISWAS, S. 2016

1.6.2. ESTRÉS OXIDATIVO

El estrés oxidativo es una condición biológica en desequilibrio causado por la producción de especies reactivas al oxígeno y su capacidad de neutralizar por un sistema de defensas antioxidantes. (JIANG et al., 2016)

El mecanismo de ataque al ERO se fundamenta en un sistema de defensa antioxidante que tiene por finalidad mantener el proceso oxidativo dentro de los parámetros fisiológicos y sujetos a regulación. Asimismo, se impide que el daño oxidativo se aumente y consecuentemente causen un perjuicio sistemático irreparable. (KUNDU & SURH, 2010)

Según Finkel (2000) indica que las especies reactivas de oxígeno se pueden generar de forma endógena durante el metabolismo celular, o de forma exógena, como por exposición a fármacos y alimentos (xenobióticos). Estos radicales dañan importantes macromoléculas celulares como ADN, lípidos, carbohidratos y proteínas.

1.7. MODELO EXPERIMENTAL *Caenorhabditis elegans*

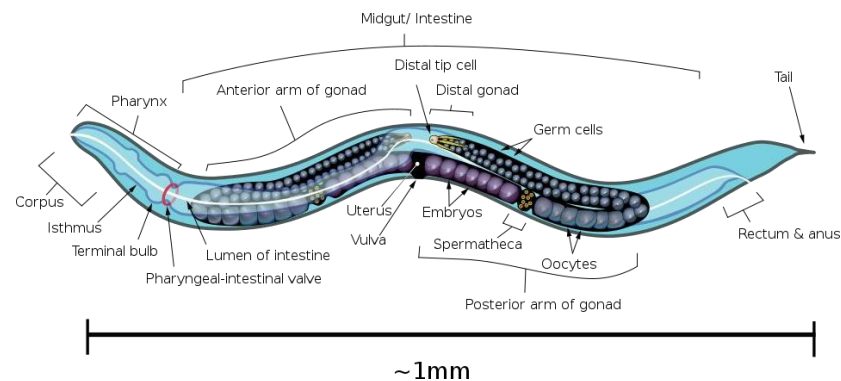
1.7.1. ASPECTOS GENERALES

El *Caenorhabditis elegans* es una especie de gusano saprofito que vive en la tierra, usualmente encontrado en un amplio rango de temperaturas que pueden ser templados o húmedos (BARRIÈRE & FÉLIX, 2005) y se alimenta de microorganismos tales como *Escherichia coli*. Este nematodo perteneciente a la familia Rhabditida, fue caracterizada en 1900 y fue el primer organismo multicelular del cual se obtuvo la secuencia completa de su genoma (HODGKIN & HERMAN, 1998). En muchas investigaciones utilizan la cepa Bristol N2, que actualmente es la cepa considerada como selvagem o silvestre (ALTUN et al., 2012).

1.7.2. ANATOMIA

El nematodo tiene un comprimento de 1,3 mm aproximadamente y 80 μm de diámetro. El adulto presenta una estructura bilateral simétrica, vermiforme, con un cuerpo cilíndrico tubular (ALTUN et al., 2012). Su estructura está formada por una boca, faringe, intestino, gónadas y una cutícula de colágeno. En el extremo anterior de la cabeza se presenta el orificio bucal, el cual permite ingerir las bacterias con las que se alimenta. En la parte posterior, se ubica el ano (Figura 2). El nematodo consta de dos sexos, macho y hermafrodita. Estudios demostraron que existe gran cantidad de hermafroditas a comparación de machos. Es decir, en condiciones naturales el porcentaje de ocurrencia de especímenes masculinos es menos del 0,05% del total.

Figura 2. Vista lateral (lado izquierdo) anatómica de un adulto *Caenorhabditis elegans* hermafrodita.



Fuente: Schroeder K.D. (2010)

C. elegans posee 5 cromosomas somáticos diploides (I, II, III, IV, V) y un cromosoma sexual. Este último determina el sexo; en hermafroditas es diploide (XX) y en machos es haploide (XO) (Hodgkin et al., 1979). El hermafrodita adulto tiene 959 células somáticas y el macho 1031.

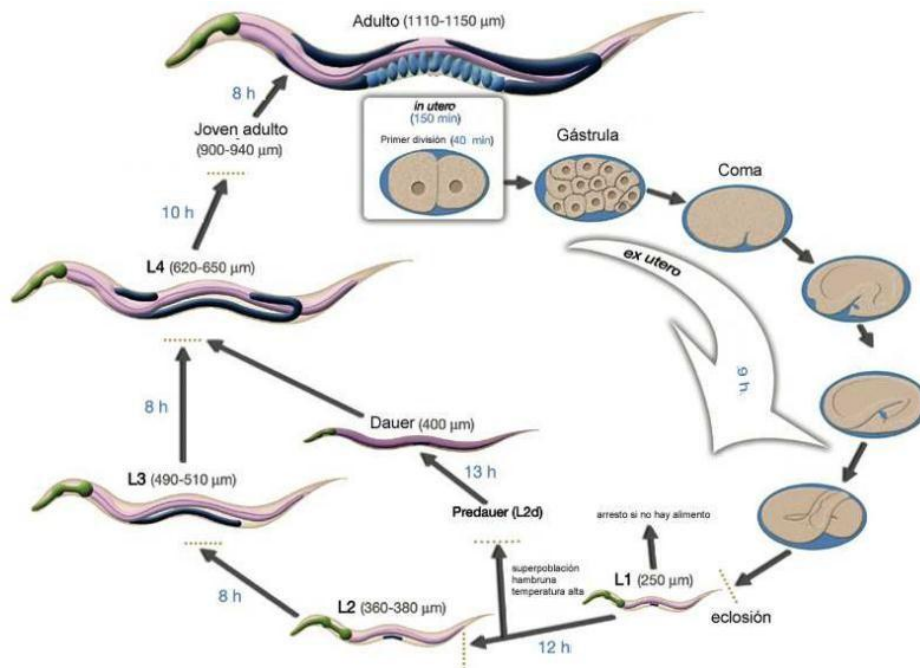
1.7.3. CICLO DE VIDA

El ciclo de vida completo del nematodo *C. elegans* hasta la formación del individuo adulto, dura aproximadamente 3 a 5 días a 20 °C y contiene un estado embrionario y 4 estados larvarios (L1-L2-L3-L4) (BRENNER, 1974). Varios estudios indicaron que al presentar variaciones de temperatura pueden llegar a acelerar o retrasar su desarrollo, pasando a completarse el ciclo en 3 días a 25 °C y en 6 días a 10 °C (BYERLY et al., 1976). Sin embargo, varios autores optimizaron su temperatura a 20°C siendo la temperatura más adecuada para trabajar en un laboratorio (GONZALEZ et al., 2013).

Su ciclo de vida del nematodo *C. elegans* inicia de una sola célula, la cual va originando varias células a través de divisiones celulares repetidas llegando a 558 células aproximadamente. Después de la eclosión, las divisiones dan como resultado el crecimiento y maduración sexual del gusano. Posteriormente de la muda final, el gusano hermafrodita adulto comienza a producir sus propios huevos. Cabe destacar que, a condiciones adversas al estrés oxidativo o escasez de alimentos, la larva L1 del *C. elegans* puede entrar en una etapa alternativa de diapausa. En este estado, los animales se vuelven hipometabólicos y muy resistentes al estrés, el cual es capaz de sobrevivir durante largos períodos de varias semanas a meses. (EISENMANN et al., 2015)

El ciclo de vida del animal consiste en un período de desarrollo embrionario dentro del huevo, cuatro estadios larvarios y finalmente el adulto. El gusano adulto llega a medir un milímetro de largo.

Figura 3. Ciclo de vida de *C. elegans* a 22 °C. Se indica en azul el tiempo entre cada muda larval y la longitud corporal (μm) para cada etapa de desarrollo.



Fuente: ALTUN et al.,2012.

1.7.4. *Caenorhabditis elegans* COMO ORGANISMO MODELO

Este gusano fue empleado por primera vez por Brenner, descubriendo la muerte celular programada y su respectivo linaje celular. Como consecuencia de su importante labor ganó el premio Nobel del 2002, lo que acarrió gran expectativa de varios investigadores. Consecuentemente el uso fue más frecuente ya que por su simplicidad, manejo, reproducción y similitud es trazado como un organismo experimental adecuado para múltiples estudios principalmente genéticos y nerviosos.

Varios estudios demostraron que se han identificado gran similitud entre *C. elegans* y los mamíferos, tanto a nivel celular como molecular.

Aproximadamente el 60-80% de los genes homólogos a humanos (KALETTA, 2006).

Hoy en día muchas investigaciones lograron desarrollar innumerables avances en campos como la biología celular, neurofisiología y envejecimiento (CORSI et al., 2015). Sin embargo, el avance de la ciencia hace que se abran nuevas áreas que colocan al gusano como un modelo eje llegando así a tener varias publicaciones.

Es por ello que el nematodo *Caenorhabditis elegans* es un excelente modelo para la identificación rápida de compuestos con características biológica. En comparación con el cultivo celular, tiene grandes beneficios porque es un organismo multicelular y puede evaluar sistemáticamente los efectos de los compuestos en el organismo. Asimismo, en comparación con ratones u otros modelos de mamíferos, el cultivo y los experimentos con este organismo son mucho más económicos. Esto se debe principalmente a que, en lo que respecta a *C. elegans*, no existe restricción en la demanda de animales, ya que crece rápidamente en un sistema simple, económico y puede producir miles de animales en pocos días. Además, se conoce su genoma, y la disponibilidad de la mayoría de sus mutantes genéticos, es por ello que *C. elegans*, permite estudiar fácilmente el mecanismo de respuesta al estrés oxidativo in vivo.

Cabe indicar que para su uso de *Caenorhabditis elegans* la legislación reguladora del uso de animales para fines científicos no dificulta distinguiéndose en complejidad y extensión por ser un invertebrado. Así mismo, no necesita la aprobación del Consejo Nacional para el Control de la Experimentación Animal (CONCEA) y la Formación de Comités de Ética para el uso de Animales (CEUA), normativas que rigen en Brasil.

2. OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar los efectos del extracto etanolico de granos de quinua (*Chenopium quinoa Willd*) sobre el comportamiento, desenvolvimiento y estrés oxidativo en el organismo modelo *Caenorhabditis elegans*

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Producir el extracto extracto etanolico del grano (*Chenopodium quinoa willd.*).
- Evaluar los efectos del extracto etanolico del grano (*Chenopodium quinoa willd.*) en la locomoción de *C. elegans* bajo condiciones normales.
- Evaluar los efectos del extracto etanolico del grano (*Chenopodium quinoa willd.*) sobre el desenvolvimiento reproductivo de *C. elegans*
- Evaluar los efectos del tratamiento dosis-respuesta de extracto de *Chenopodium quinoa* sobre la supervivencia de *C. elegans* en condiciones y de estrés oxidativo
- Determinar las concentraciones óptimas del extracto de *Chenopodium quinoa*, para las cuales se obtiene una mayor sobrevida en *C. elegans*.

3. METODOLOGIA

3.1. CRECIMIENTO Y MANUTENCIÓN DE CEPAS DEL *C. elegans*

Para el crecimiento y manutención se utilizó el método de Brenner (1974), el cual se obtuvo cepas donadas por la Universidad Federal de Santa Maria – UFSM. Se utilizó la cepa de tipo selvagem N2 Bristol y la bacteria *E. coli* OP50.

Esta cepa fue mantenida y cultivada en Placas Petri de 9 cm que contenían el medio de agar NGM (Nematode Growth Medium) en un estado sólido a una temperatura de 20 °C (Tabla 2). La mezcla se esterilizó en un autoclave durante 15 min a 1 atm.

Para su alimentación fue cultivado la bacteria *E. coli* OP50 en un medio liquido de agar Luria Bertani a 37°C por 24 horas y luego guardado en la refrigeradora para su posterior uso (Tabla 3). Cabe destacar que la *E.coli* OP50 muestra un crecimiento desacelerado por ser una cepa auxotrofa de uracilo.

Tabla 2. Lista de reactivos y procedimiento para el Nematode Growth Medium (NGM) el cual se utiliza en el mantenimiento y crecimiento del nematodo.

Reactivo	Cantidad
NaCl(g)	3
Agar (g)	17
Peptona (g)	2,5
H ₂ Od (ml)	1000
Autoclavar	
Colesterol (ml)	1
MgSO ₄ 1M (ml)	1

CaCl ₂ 1M (ml)	1
Tampón PO ₄ (ml)	25
Nistatina (UI)	12500
Estreptomicina(ml)	1
Total (ml)	500

Fonte: EISENMANN et al., 2015.

Tabla 3. Lista de reactivos y procedimiento para el Medio Luria Bertani el cual se utiliza en el mantenimiento y crecimiento de la *E. coli OP50*.

Reactivo	Cantidad
NaCl(g)	0,25
Extracto de levadura (g)	0,25
Triptona (g)	0,5
H ₂ O (ml)	50
Autoclavar	
Sulfato de estreptomicina(ul)	50

Fuente: EISENMANN et al., 2015.

3.2. SINCRONIZACION DEL *C. elegans*

Con la finalidad de obtener una uniformidad los vermes en mismo estadio larvario fueron sincronizadas. Para lo cual se llevó la selección de la placa con alto número de nematodos en su edad fértil. Los vermes fueron recogidos con la ayuda de una pipeta Pasteur en un tubo Falcon con buffer M9 (Tabla 4). Luego se dejó decantar los vermes por 3 minutos y se procedió a retirar el sobrenadante hasta llegar a 2ml. Luego se agrega Buffer M9 y se centrifugo el tubo Falcon durante 45 segundos a bajas revoluciones para que los huevos de los vermes

decenten. Culminado la centrifugación se extrae el sobrenadante a través de una pipeta Pasteur.

Luego se agregó 5 ml de solución de *Bleaching* (Tabla 5) con el objetivo de destruir a todas las larvas y liberar los huevos. Para conseguirlo fue necesario agitar durante 3 min en un agitador Vortex. Para verificar se utilizó un microscopio óptico a 3x. Luego de verificar se agregó solución buffer M9 hasta llenar el tubo Falcon y se centrifugó durante 3 min a 3000 rpm y 20°C. Este proceso fue repetido tres veces.

Finalmente, se retiró el sobrenadante hasta 2ml y se almacenó a 20°C en una placa Petri de 9 cm por 24 horas. Cabe resaltar que teniendo estas condiciones óptimas los huevos eclosionaran en 1 día a larva L1, su siguiente fase del *C. elegans* hasta que reciban alimentación.

Tabla 4. Lista de reactivos y procedimiento para el M9 Buffer.

Reactivo	Cantidad
KH ₂ PO ₄ (g)	3
Na ₂ HPO ₄ (g)	6
NaCl (g)	5
H ₂ O (ml)	1000
Autoclavar	
MgSO ₄ 1M (1ml)	1

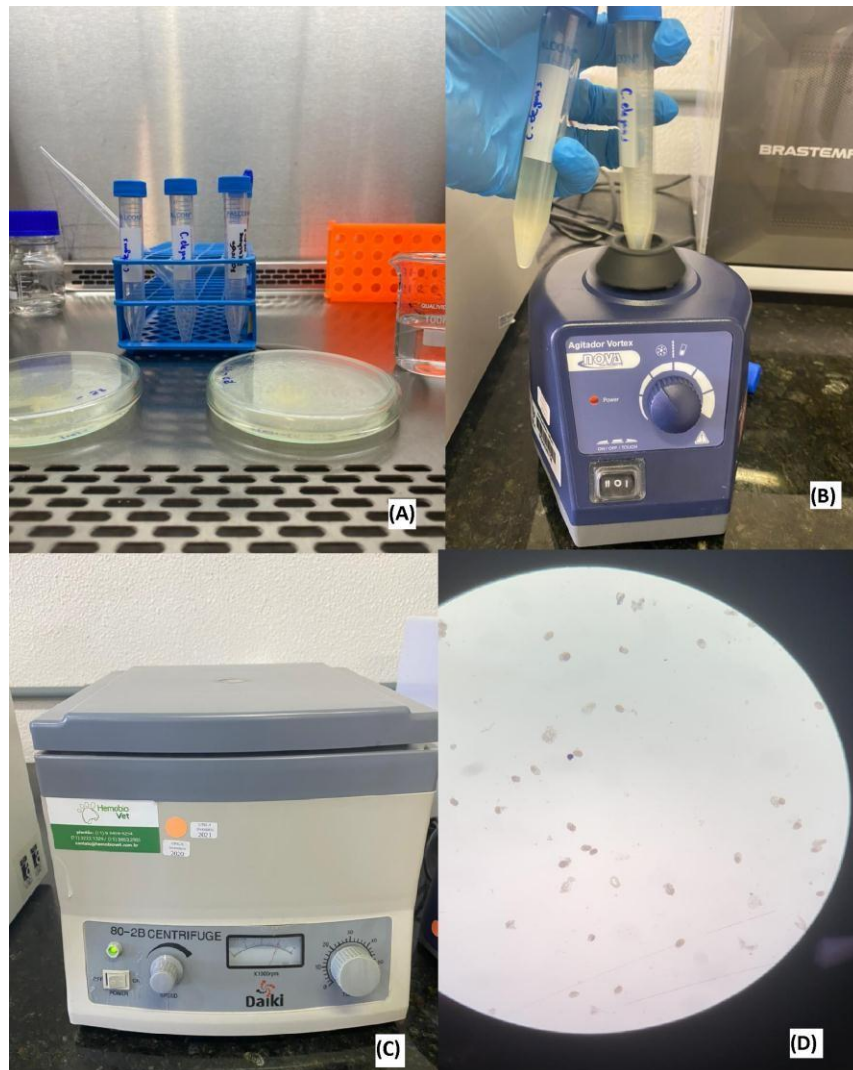
Fuente: EISENMANN et al., 2015.

Tabla 5. Lista de reactivos de la solución Bleaching.

Reactivo	Cantidad
Hipoclorito de Sodio (ml)	1,5
NaOH 10M (ml)	0,25
H ₂ O (ml)	3,25

Fuente: Autor, 2021.

Figura 4. Sincronización de *C. elegans*. (A) Preparo de solución Bleaching y decantación de vermes. **(B)** Destrucción de larvas y liberación de huevos en solución Bleaching con ayuda de un Agitador Vortex **(C)** Proceso de centrifugación a 3000 rpm x 3 min. **(D)** Huevos de *C. elegans* post-sincronización.



Fuente: Autor, 2021.

3.3. EXTRACTO DE GRANO *Chenopodium Quinoa Willd*

La muestra de quinua se obtuvo a partir de una tienda de granos “Mayerd Comercio e Industrias de Especerías EIRELI”. Los granos fueron procedentes por el grupo Ser Levi con el LOTE: 1435674 Cultivo marzo 2020.1

Para la extracción de compuestos bioactivos se utilizó granos de Quinoa de una industria brasilera y para optimizar se procedió a desaponificar por vía húmeda siguiendo los parámetros de la AOAC (Association of Official Analytical Chemists) que indica el valor definido de humedad final de 12%, el cual es necesaria para evitar algún daño por microorganismos. Luego se utilizó un triturador marca Black Decker con el fin de obtener la quinua molida.

Teniendo la quinua molida se procedió a realizar la extracción por Soxhlet por la metodología de Nsimba et al., (2008) que fue adaptado por Souza (2018), en el cual se utilizó un primer solvente apolar con 140 gramos de quinua molida desaponificada con un tiempo de 2 horas y a una temperatura de 70°C. Luego, la muestra fue extraída por un solvente polar por un tiempo de 3 horas a 60 °C. A continuación, el extracto fue rotaevaporado a una temperatura controlada para la eliminación del disolvente y almacenado en etanol a una refrigeración de - 4° C hasta su uso.

3.4. ENSAYOS BIOLÓGICOS

3.4.1. TRATAMIENTO CON EL EXTRACTO ETANOLICO DEL GRANO DE *Chenopodium quinoa Willd*

Para el tratamiento con los extractos del grano de quinua se colocó los nematodos sincronizados en estado larval L1 en placas con agar NGMe *E. coli* OP50 y se dejó por 48 horas a 20°C en la estufa para dejarlos crecer. El experimento se realizó en el estadio adulto. Luego de las 48 horas se colectó las vermes de las placas con agar NGM Y *E.coli* OP50 con tampón buffer M9 en un

tubo Falcon y se dejó decantar por 3 minutos. Posteriormente se retiró y descartó el sobrenadante. Este proceso se repitió por tres veces. En la última decantación se retiró el sobrenadante y se procedió a contar los vermes colocando 10 μ l de la solución en una lámina de microscopio. Teniendo en cuenta el número de vermes se procedió a calcular el volumen necesario para cada experimento.

Para el experimento se utilizó 15 tubos de eppendorfs esterilizados de 1,5 ml. Se agregó 1000 nematodos en la etapa de adulto joven por eppendorfs y se incubaron con EECQ en concentraciones de 100, 200, 400 y 800 μ g/ml con un vehículo de 1% EtOH en medio buffer M9 y se dejó durante 1 h a 20°C. En este lapso del tiempo fue necesario mover continuamente para una mezcla homogenizada.

Después de concluir el tiempo se lavó la solución con la finalidad de retirar la quinua dejando los eppendorfs en pie por 3 minutos y quitando 800 μ l del sobrenadante con ayuda de una pipeta y agregando 800 μ l de tampón buffer M9 en el eppendorf. Este proceso se repitió 3 veces.

3.4.2. PRUEBA DE LATIDO FARINGEO

El ensayo siguió un protocolo basado en la literatura (Wang et al., 2008). Se evaluó el latido faríngeo a 20 °C en 10 vermes por grupo expuestas al EECQ en placas Petri con agar NGM y *E. coli* y un control. Para su adaptación se esperó 30 minutos y el número de conteo de contracciones se observó a través de un microscopio óptico (Nikon modelo Eclipse E200) el bulbo faríngeo posterior de cada gusano durante un período de 10 segundos, por tres veces, y la media se multiplicó por seis, lo que da como resultado el número de contracciones/minuto. Cabe resaltar que se analizó 10 animales por grupo.

3.4.3. PRUEBA DE BODY BENDS

El ensayo de locomoción se basó en el protocolo de Nawa et al., 2012. Se realizó transfiriendo 20 µl de gusanos en placas Petri con agar NGM sin *E.coli* OP50 permitiéndoles aclimatar por 30 minutos y evaluando la locomoción. Se conto el número de ondas sinusoidales completas para adelante o para atrás a cada 10 animales por tratamiento en un periodo de 20 segundos. El ensayo se repitió por tres veces y la media se multiplico por tres, para dar como resultado el número de curvatura corporal completa/minuto.

3.4.4. PRUEBA DE DESENVOLVIMIENTO Y DESARROLLO

Para determinar si EECQ causa alteraciones en eldesenvolvimiento del verme se utilizó el protocolo de Nawa et al., 2012, fueron monitoreados los mismos vermes de la prueba del latido faríngeo, estas se guardaron en la incubadora a 20 °C. La evaluación se realizó después de 24 horas haciendo un conteo de verificación de huevos en el útero de los vermes de cada tratamiento usando 5ml de solución *Bleaching* y lavando por tres veces con tampón Buffer M9.

3.4.5. PRUEBA DE RESISTENCIA A LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Para verificar si el EECQ protege contra la muerte causada por estrés oxidativo inducido se realizó la prueba después del tratamiento con EECQ y el lave para la retirada del extracto, se adicionó 100 µl de peróxido de hidrogeno con una concentración final de 200mM en todos los eppendorfs que anteriormente fueron pretratados con EECQ y 800 µl de tampón buffer M9. Posteriormente se agitó por 1 hora a 20°C envuelto en papel de aluminio para tener una mezcla homogenizada. Pasado el tiempo se retiró el peróxido de hidrogeno dejando reposar por 3 minutos y quitando 800 µl de sobrenadante, luego se adicionó tampón buffer M9. Este proceso se repitió por 3 veces. Concluido el proceso se colocó 100 µl en una placa Petri con agar NGM y *E. coli* OP50 para cada

tratamiento y se dejó en la incubadora a 20°C por 24 horas. Después del tiempo finalizado se contó la cantidad de vermes vivos y muertos. La concentración del H₂O₂ fue basado en referencia al DL50 encontrada en el estudio del extracto de *L. divaricata*. (ARANTES, 2014).

3.5. ANALISIS ESTADISTICO

Para realizar el análisis estadístico se utilizó el software GraphPad Prism 9.3 y Bioestat 5.3. Los datos se expresan como la media \pm error estándar de la media (SEM). Las diferencias significativas entre los grupos se determinaron utilizando la prueba t de Student para la comparación entre dos grupos y el análisis de varianza de una vía (ANOVA) mayor a 2 grupos, seguido del método de Bonferroni (post hoc). Se consideraron estadísticamente diferencias significativas a partir de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1. EVALUACION DEL EXTRACTO ETANOLICO *Chenopodium quinoa Willd* EN EL LATIDO FARINGEO

Los resultados mostraron que los animales de tipo salvaje N2 tratados en estadio larval L4 joven adulto exhibieron un aumento significativo en intensidad de latidos faríngeos por minuto de los grupos (400 y 800 μ l/ml) tratados por EECQ, con una media de $224.3 \pm 6.993\%$ y $213.5 \pm 8.596\%$ respectivamente en comparación al control con una meda de $175.5 \pm 4.736\%$. Además de presentar otra diferencia significativa en relación al tratamiento con concentración de (100 y 200 μ l/ml). Por el contrario, se encontró que los nematodos expuestos a la concentración más elevada (800 μ l/ml) tuvieron una disminución 4.9% en relación a el tratamiento con (400 μ l/ml). Estos resultados mostraron que el tratamiento fue capaz de aumentar la frecuencia de latidos faríngeos en la verme.

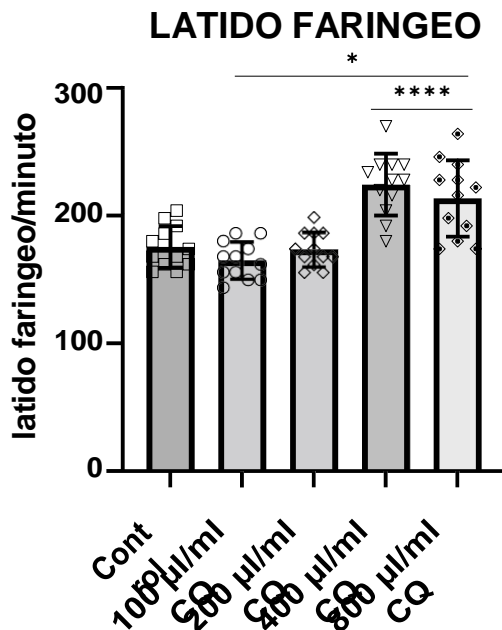


Figura 5. Evaluación del comportamiento de latidos faríngeos en gusanos salvajes expuestos a EECQ durante 1h hora a 20°C. Se observaron los latidos faríngeos por minuto de los vermes. El tratamiento con EECQ (100, 200, 400 y 800 µl/ml) con vehículo (1% EtOH) comenzó en la etapa larvaria L4 joven adulta y duró 1 hora hasta la etapa adulta cuando se determinaron los comportamientos. Se encontraron diferencias significativas entre los gusanos tratados y el control. (medias, SEM, n=10). Los experimentos se realizaron dos veces en días diferentes. La media ± desviación estándar. * p < 0,005 y **** p < 0,0001 por la prueba de una vía ANOVA.

4.2. EVALUACION DEL EXTRACTO ETANOLICO *Chenopodium quinoa* Willd EN EL COMPORTAMIENTO CORPORAL

El efecto del EECQ sobre la capacidad locomotora de los vermes, representa un indicativo muy importante de toxicidad en estadios diferentes a lo largo de su ciclo de vida. Los resultados mostraron un pequeño aumento deflexión corporal en relación al grupo de control en las diferentes concentraciones de forma ascendente. En el estadio joven adulto, la frecuencia de flexión corporal por minuto de los vermes en el grupo de control fue de $58.20 \pm 1.5621\%$ mientras

que de los vermes con tratamiento de EECQ fueron $60.60 \pm 2,088$ (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$), $66,60 \pm 2,272$ (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$), $67,80 \pm 3,80$ (400 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y $70,80 \pm 3,80$ (800 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Respectivamente, estos resultados expresan un aumento de 4.12%, 14.4%, 16,4% y 21,65% en el número de flexiones corporales en comparación con el grupo control.

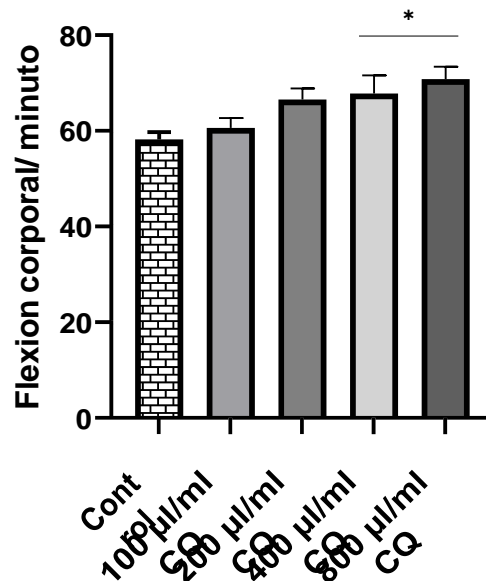


Figura 6. Efectos de EECQ sobre la locomoción corporal de *C. elegans* tipo salvaje N2 en estadio joven adulto en 1 h a 20°C. Se observaron las flexiones corporales por minuto de los vermes. El tratamiento con EECQ (100, 200, 400 y 800 $\mu\text{l}/\text{ml}$) con vehículo (1% EtOH) en etapa joven adulta y durante 1h. Se encontró expresivas diferencias significativas entre los gusanos tratados con 800 y 400 $\mu\text{l}/\text{ml}$ en relación al control. (medias, SEM, n=10). Los experimentos se realizaron dos veces en días diferentes. Los valores son expresos como media \pm SEM * $p < 0,05$ en el teste de una vía ANOVA cuando el grupo tratado fue comparado con el grupo de control.

4.3. EFECTOS DEL EXTRACTO ETANOLICO *Chenopodium quinoa* Willd EN EL DESENVOLVIMIENTO DE HUEVOS EN EL UTERO

Evaluar el efecto de EECQ en el número de huevos de sobrevivientes de nematodos N2 es un indicador de toxicidad reproductiva. El gráfico muestra que ninguna de las concentraciones probadas de EECQ promovió cambios en la descendencia sobreviviente o en el número total de huevos sobrevivientes. Estos resultados sugieren que el tratamiento con EECQ a diferentes concentraciones no promueve efectos tóxicos que interfieran con los patrones fisiológicos del desempeño reproductivo de los nematodos.

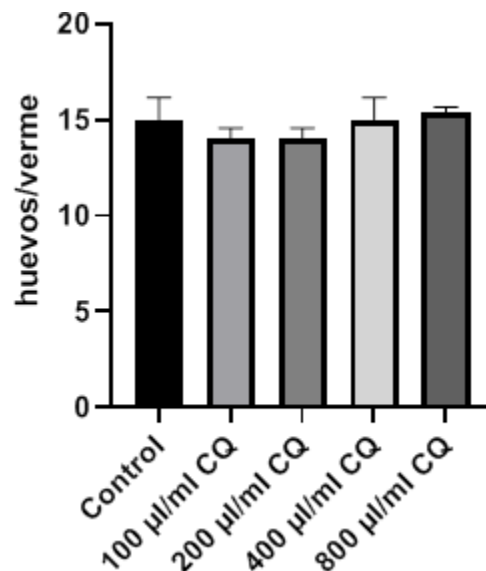


Figura 7. Comportamiento reproductivo del nematodo *C. elegans* después de la exposición de 24 horas al EECQ. Producción de ovos en el útero de *C. elegans* tipo salvaje N2 en estadio adulto después de 24 h. a 20°C cultivados en placa Petri con agar NGM y *E. coli*. Los resultados representan la media de huevos encontrados en el interior del nematodo. Los valores son expresos como media ± DP, n=10 * p < 0,05 en el teste de una vía ANOVA.

4.4. EFECTO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE GRANO DE *Chenopodium quinoa Willd* CONTRA EL ESTRÉS OXIDATIVO INDUCIDO POR PEROXIDO DE HIDROGENO

En el ensayo de protección contra el estrés oxidativo, los nematodos tratados con EECQ fueron resistentes a los efectos de los oxidantes durante todo el período de evaluación.

Solo el 18.67 % de los vermes sobrevivieron después de ser tratados con peróxido de hidrogeno (H_2O_2) 200 mM. Sin embargo, el pretratamiento de los vermes con extractos en vehículo de EtOH al 1% (100, 200, 400 y 800 $\mu g/ml$) mejoró significativamente las tasas de supervivencia. Entre las concentraciones probadas, el extracto de 400 $\mu g/ml$ mostró el mayor porcentaje de supervivencia ($57,33 \pm 4,17$ %) en comparación con el control de peróxido de hidrogeno ($18,67 \pm 4,72$ %).

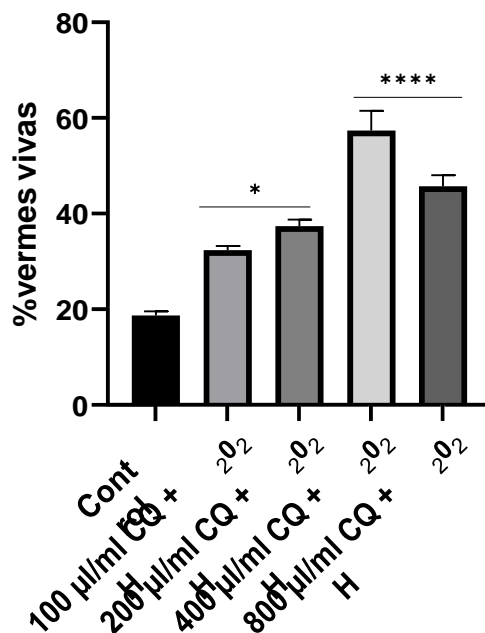


Figura 8. Efecto de diferentes concentraciones de EECQ sobre la tasa de supervivencia bajo estrés oxidativo inducido por H_2O_2 en vermes de tipo salvaje N2. La tasa de supervivencia aumentó significativamente después del tratamiento con extracto etanolico de grano de *Chenopodium quinoa* Willd. Los

valores son la media \pm SEM de al menos 3 experimentos independientes diferentes del control (**** $p < 0.001$, * $p < 0.05$).

5. DISCUSIÓN

Actualmente debido a su alto valor nutricional el grano de quinua ha adquirido una atención considerable por sus beneficios potenciales para la salud. Muchos estudios indicaron gran cantidad de fitoquímicos y antioxidantes naturales, lo que conlleva como un potencial con fines terapéuticos.

Curiosamente, la quinua contiene todos los aminoácidos esenciales, fibra, hierro, antioxidantes y bajos inhibidores de fitato y enzimas incluso a 9 días de su germinación. Muchos estudios in vitro analizaron la cantidad de fitoquímicos y la cantidad antioxidante indicando ser uno de los alimentos con gran potencial antioxidante natural en todos.

Sin embargo, los efectos de los antioxidantes de las sustancias in vitro no son directamente relacionados con su efectividad in vivo. Por lo tanto, es de prioridad caracterizar e investigar los parámetros de los compuestos fenólicos totales, DPPH, AOL para tener un mejor parámetro de comparación.

Para evaluar los posibles efectos de EECQ en su comportamiento, desenvolvimiento y estrés, utilizamos el *C. elegans*. En el estudio actual, quedó demostrado que la exposición de *C. elegans* a una concentración ascendente de EECQ resultó un cambio significativo de la dosis en la evaluación de los latidos faríngeos (Figura 5), destacando la concentración de 400 $\mu\text{g/ml}$ y 800 $\mu\text{g/ml}$ respecto a otros tratamientos indicando la mejor respuesta – adaptación.

También se resolvió que utilizando concentraciones mínimas y acrecentando hasta 800 $\mu\text{g/ml}$ de EECQ, la respuesta fue de manera proporcional directa en cuanto a la evaluación de la flexión del cuerpo, esto es un indicativo de buena adaptación y salud. Cabe mencionar que el bombeo faríngeo y la flexión del cuerpo están regulados por redes neuronales y grupos musculares complejos, y

los estados motores anormales podrían reflejar defectos de la función neurológica o muscular.

Por otro lado, el resultado del comportamiento reproductivo después del tratamiento con EECQ no alteró la sobrevivencia y desarrollo de huevos en el interior de los vermes, indicando que no interfieren en el desenvolvimiento reproductivo o en el costo de reproducción. Teniendo en cuenta que, en el proceso de reproducción, los animales movilizan sus reservas energéticas como forma de supervivencia del organismo y mantenimiento de las actividades reproductivas, por lo que este proceso fisiológico demanda un costo, que comúnmente se conoce como “costo de reproducción” (AVERY, 2003).

En el presente estudio, se demostró que el tratamiento de *C. elegans* con EECQ aumentó su supervivencia bajo estrés oxidativo en condiciones normales. Si bien los antioxidantes pueden actuar directamente, ya que son capaces de eliminar los radicales libres de las sustancias, o actuar indirectamente al modular diferentes vías de señalización que aumentan la resistencia al estrés oxidativo, este trabajo también buscó dilucidar la actividad protectora EECQ en *C. elegans*. Teniendo en cuenta que diferentes artículos donde evaluaban al *C. elegans*, mostraron gran significancia de resistencia al estrés oxidativo como el extracto de Ginkgo biloba, complejo rico en glucósidos y terpenoides (KAMPKÖTTER et al., 2007), aumentó la resistencia al estrés oxidativo en un 33% (WU et al., 2002). Resveratrol, un polifenol abundante en la piel de la uva (BASS et al., 2007), vida útil prolongada de manera dependiente de la dosis (VISWANATHAN, 2005). La quercetina, un flavonoide abundante en las plantas comestibles, aumentó la resistencia al estrés oxidativo y la esperanza de vida media en un 18 % en *C. elegans* (PIETSCH et al., 2009). La cantidad de fenólicos totales en el extracto de *L. divaricata* que obtuvo resistencia del organismo completo al estrés e incluso aumento el tono colinérgico y es un gran potencial de para varios trastornos de salud (ARANTES et al., 2014). Las solanáceas son una fuente de carotenoides, las rosáceas son una fuente de elagitaninos y antocianinas y las zingiberáceas proporcionan compuestos derivados de fenilpropanoides exhibieron una respuesta favorable promoviendo la

salud y prolongando la vida en *C. elegans*, correspondientes a mejoras funcionales en la movilidad.

Esta respuesta protectora puede explicarse no solo por las propiedades de eliminación de radicales libres de EECQ, sino también por un mecanismo indirecto que activa las vías de señalización de desintoxicación en respuesta al estrés.

El factor de transcripción DAF-16/FOXO está regulado por la vía de señalización de la insulina y se considera un regulador clave de muchos procesos biológicos importantes, incluida la vida útil, el metabolismo y la respuesta al estrés. En *C. elegans*, dos factores de transcripción, DAF-16 y SKN-1, promueven la expresión de enzimas antioxidantes o desintoxicantes.

De esta manera, sugerimos que EECQ puede interactuar con DAF-16 y aumentar su actividad teniendo en cuenta que en estudios con extracto de hoja de *Caesalpinia mimosoides* exhibieron la activación de DAF-16 que da como resultado la activación de otros genes de respuesta al estrés. Por otro lado, también se encontró que la expresión más alta del factor transaccional DAF-16 se ubicó en la región intermedia de las células. Por lo tanto, se infirió que la extensión de la vida útil y la activación de la expresión de proteínas antioxidantes no depende estrictamente de DAF-16 y que otras vías pueden estar relacionadas con la sinergia de los constituyentes químicos y sus respuestas biológicas. (LAURA, 2020). Proponemos que EECQ regula la resistencia al estrés oxidativo a través de mecanismos directos e indirectos. (MUKHOPADHYAY; OH; TISSENBAUM, 2006).

Es posible establecer que gracias al aumento de resistencia sobre la condición de estrés oxidativo podrían presentar un efecto de pro-longevidad, esta correlación fue observada por Pun et al. (2009), donde extractos como *Cratogeomys cochinchinense* (hojas), *Cortex magnoliae officinalis* (cascara), *Curculigo orchioides Gaertn* (rizoma), *Glycyrrhiza uralensis Fisch* (cascara), *Psoralea corylifolia L.* (fruta) aumentaron la longevidad del verme. Otros estudios verificaron que la activación de las vías de señalización relacionadas al estrés

interfiere en la patofisiología de la enfermedad de Huntington. Nuestro estudio destaca las propiedades antioxidantes del EECQ *in vivo*.

6. CONSIDERACIONES FINALES

El presente estudio mostro los efectos que EECQ presenta actividad antioxidante *in vivo*. Indicando un aumento significativo en los latidos faríngeos. Así como también una relación proporcional directa como en las flexiones del cuerpo. Además, la exposición a EECQ no altera al desarrollo y desenvolvimiento del crecimiento reproductivo en el interior del verme. Por otro lado, el tratamiento con EECQ no es toxico para el modelo *C. elegans* tipo salvaje N2.

Sin embargo, el mecanismo exacto por el que funciona el EECQ aún siguen siendo esquivos. Existe una probabilidad de que las vías de señalización del factor de transcripción DAF- 16 y SKN- 1 estén involucradas en respuesta ante el estrés oxidativo. Se necesita más trabajo para explorar estos mecanismos complejos, que actualmente está más allá del alcance de esta investigación.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ALIA M, RAMOS S, MATEOS R, BRAVO L, GOYA L. **Response of the antioxidant defense system to tert-butyl hydroperoxide and hydrogen peroxide in a human hepatoma cell line (HepG2)**. J. Biochem. Mol. Toxic. 19: 119–128. 2005. Disponible en: < <https://doi.org/10.1002/jbt.20061> >

ALTUN, Z.F., HERNDON, L.A., CROCKER, C., LINTS, R., HALL, D.H., **A database of behavioral and structural anatomy of *Caenorhabditis elegans***. Wormatlas. 2012. Disponible en: <http://www.wormatlas.org>

ARANTES, LETICIA & COLLE, DIRLEISE & MACHADO, MARINA & ZAMBERLAN, DANIELE & TASSI, C.L.C. & CRUZ, R.C. & MANFRON, MELANIA & LINDE ATHAYDE, MARGARETH & SOARES, FÉLIX. **Luehea divaricata Mart. anticholinesterase and antioxidant activity in a *Caenorhabditis elegans* model system**. *Industrial Crops and Products*. 62. 265-271. 2014
Disponible en: <10.1016/j.indcrop.2014.08.038.>

AVERY L, SHTONDA BB. **Food transport in the *C. elegans* pharynx**. *J Exp Biol*. 2003;206(Pt 14):2441-2457. Disponible en: <doi:10.1242/jeb.00433>

AYASAN, TUGAY. **Determination of nutritional value of some quinoa varieties**. Turkish journal of veterinary and animal sciences, 2020.
Disponible en :
<https://www.researchgate.net/publication/344942866_Determination_of_nutritional_value_of_some_quinoa_varieties>.

BARRIÈRE, ANTOINE; FÉLIX, MARIE-ANNE. **Variación natural y genética de poblaciones de *Caenorhabditis elegans*. WormBook** , vol. 2005, pág. 1-19. Disponible en: ftp://brie4.cshl.edu/pub/wormbook/mirror/wormbook-live/html/chapters/www_naturalvariationgenetics/naturalvariationgenetics.pdf

BASS, T. M. et al. Effects of resveratrol on lifespan in *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans*. *Mechanisms of Ageing and Development*, v. 128, n. 10, p. 546-552, 2007.

BIAZOTTO, KATIA REGINA, et al. **Brazilian biodiversity fruits: discovering bioactive compounds from underexplored sources.** *Journal of agricultural and food chemistry*, 2019. Disponible en : < <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jafc.8b05815>>

BISWAS, S. K. **Does the interdependence between oxidative stress and inflammation explain the antioxidant paradox?** *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2016/5698931>

BRENNER S. **The genetics of *Caenorhabditis elegans*.** *Genetics*, 77(1), 71-94. 1974. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/genetics/77.1.71>

CARRETERO, E. Martínez. **La Puna Argentina: delimitación general y división en distritos florísticos.** *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 1995. Disponible en: <<http://www.geobotanica.net/PUBLICACIONES/ARTICULOS/Biogeografia/Bol.Soc.Arg.Bot.%201995.pdf>>

CHIARUGI, P., PANI, G., GIANNONI, E., TADDEI, L., COLAVITTI, R., RAUGEI, G., ET AL. **Reactive oxygen species as essential mediators of cell adhesion: the oxidative inhibition of a FAK tyrosine phosphatase is required for cell adhesion.** J Cell Biology, 933-944. 2003 Disponible en: < <https://doi.org/10.1083/jcb.200211118>>

CHIPANA, N. **Estudio de características de calidad en la producción de semilla básica de quinua dulce (*Chenopodium quínoa Willd.*).** Facultad de Agronomía, UMSA. 96p. 1992

FINKEL, T.; HOLBROOK, N.J. **Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing.** Nature, v. 408, n. 6809, p. 239-247, 2000. Disponible en: < <https://doi.org/10.1038/35041687>>

GALLARDO, MIGUEL LEBRÓN, JUAN ANTONIO SUÁREZ GONZÁLEZ Y GRACIELA I. PONESSA. **Morfología del fruto y semilla de *Chenopodium quinoa Willd* (quinua). *Chenopodiaceae*** 1997. Disponible en:< <http://www.lillo.org.ar/node/651>>

GIUSTI, L. **El genero *Chenopodium* en la Argentina I.** Número de cromosomas. Darwiniana. Vol 16 . 1970

GLORIO, P.; REPO-CARRASCO, R. Y VELEZMORO, C. **Almidón y fibra dietética en alimentos. Experiencia de Perú. Libro CYTED Carbohidratos en alimentos regionales iberoamericanos,** Capítulo 25 16.12.05 18:49. Pag. 607-630. 2003.

HALLIWELL, B. **Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies?**. Archives of Biochemistry and Biophysics. 2008. Disponible en : <https://doi.org/10.1016/j.abb.2008.01.028>

HIROSE, YUKO & FUJITA, TOMOYUKI & ISHII, TOSHIYUKI & UENO, NAOYA. **Antioxidative properties and flavonoid composition of *Chenopodium quinoa* seeds cultivated in Japan.** Food Chemistry. 2010. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.008>>

HODGKIN, J., BARNES, T.M., **More is not better: brood size and population growth in a selffertilizing nematode.** Proc. R. Soc. Lond. 1991. Disponible en: <<https://doi.org/10.1098/rspb.1991.0119>>

HODGKIN, JONATHAN; HERMAN, ROBERT K. **Cambio de estilos en la genética de *C. elegans*.** Trends in Genetics , 1998, vol. 14, no 9, pág. 352-357. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(98\)01543-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(98)01543-1)

Hughes, S., Kolsters, N., van de Klashorst, D., Kreuter, E., & Berger Büter, K. **An extract of Rosaceae, Solanaceae and Zingiberaceae increases health span and mobility in *Caenorhabditis elegans*.** BMC nutrition, 8(1), 5. 2022. <https://doi.org/10.1186/s40795-022-00498-8>

JIANG, T., SUN, Q., & CHEN, S. **Oxidative stress: A major pathogenesis and potential therapeutic target of antioxidative agents in Parkinson's disease and Alzheimer's disease.** Progress in Neurobiology, 147, 1-19, 2016. Disponible en : <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2016.07.005>

KALETTA, T.; HENGARTNER, M. O. **Finding function in novel targets: *C. elegans* as a model organism.** Nature Reviews Drug Discovery, v. 5, n. 5, p. 387-399, 2006. Disponível em: < <https://doi.org/10.1038/nrd2031>>

KAMPKÖTTER, A. et al. **The Ginkgo biloba extract EGb761 reduces stress sensitivity, ROS accumulation and expression of catalase and glutathione S-transferase 4 in *Caenorhabditis elegans*.** Pharmacological Research, v. 55, p. 139-147, 2007.

KUNDU, J.; SURH, Y.-J. **Nrf2-Keap1 Signaling as a Potential Target for Chemoprevention of Inflammation-Associated Carcinogenesis.** Pharmaceutical Research, v. 27, n. 6, p. 999-1013, 2010. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s11095-010-0096-8>>

LEE JM, JOHNSON JA. **An important role of Nrf2-ARE pathway in the cellular defense mechanism.** J. Biochem. Mol. Biol. 37: 139-143. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2004.37.2.139>

LEUNG MC, WILLIAMS PL, BENEDETTO A, AU C, HELMCKE KJ, ASCHNER M, ET AL. ***Caenorhabditis elegans*: an emerging model in biomedical and environmental toxicology.** Toxicological sciences: an official journal of the Society of Toxicology. 2008.

LITHGOW GJ, WHITE TM, MELOV S, Y JOHNSON TE. **Thermotolerance and extended life-span conferred by single gene mutations and induced by thermal stress.** Proc. Natl. Acad. Sci. 1995. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC41375/>

MITTAL, M., SIDDIQUI, M. R., TRAN, K., REDDY, S. P., & MALIK, A. B.. **Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants & redox signaling*, 2014.** Disponible en: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s12291-014-0446-0.pdf>

MUJICA, A.; ISQUIERDO, J. Y MARATHEE, J. P. **Origen y descripción de la quinua. En: Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*). Ancestral cultivo andino, alimento del presente y futuro.** 2001.

MUKHOPADHYAY A, OH SW, TISSENBAUM HA. **Worming pathways to and from DAF-16/FOXO.** *Exp Gerontol.* 2006;41(10):928-934. doi:10.1016/j.exger.2006.05.020

OLIVEIRA, ANA BEATRIZ ALMEIDA DE et al. **Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão.** *Revista HCPA. Porto Alegre.* Vol. 30, n. 3 (Jul./set. 2010), p. 279- 285, 2010. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10183/157808>

OTTUM, MONA S., AND ANAHITA M. MISTRY. **"Advanced glycation end-products: modifiable environmental factors profoundly mediate insulin resistance."** *Journal of clinical biochemistry and nutrition.* 2015 Disponible en : > <https://doi.org/10.3164/jcbrn.15-3>>

PIETSCH, K. et al. **Quercetin mediated lifespan extension in *Caenorhabditis elegans* is modulated by age-1, daf-2, sek-1 and unc-43.** *Biogerontology*, v.10, n. 5, p. 565-578, 2009

RAMOT D, JOHNSON BE, BERRY TL JR., CARNELL L, GOODMAN MB. **The Parallel Worm Tracker: a platform for measuring average speed and drug-induced paralysis in nematodes.** PLoS ONE. 2008; 3: e2208
Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80849-1](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80849-1)>

Rangsinth P, Prasansuklab A, Duangjan C, Gu X, Meemon K, Wink M, Tencomnao T. **El extracto de hoja de *Caesalpinia mimosoides* mejora la resistencia al estrés oxidativo y prolonga la vida útil en *Caenorhabditis elegans*.** BMC Complemento Alterno Med. 8 de julio de 2019; 19 (1): 164. <doi: 10.1186/s12906-019-2578-5>

REPO DE CARRASCO, Ritva; ENCINA ZELADA, Christian Rene. **Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de cereales andinos: quinua (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) y kiwicha (*Amaranthus caudatus*).** Rev. Soc. Quím. Perú, Lima , v. 74, n. 2, p. 85-99, abr. 2008 . Disponível em: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2008000200002&lng=es&nrm=iso

REPO-CARRASCO-VALENCIA, RITVA ANN-MARI AND SERNA, LESLI ASTUHUAMAN. **Quinoa (*Chenopodium quinoa, willd.*) as a source of dietary fiber and other functional components.** Food Science and Technology, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000100035>.

SCHIASSI, MARIA CECÍLIA EVANGELISTA VASCONCELOS, et al. **Frutos de la región del Cerrado brasileño: caracterización físico-química, compuestos bioactivos, actividades antioxidantes y evaluación sensorial.** *Química de los alimentos*, 2018, vol. 245, pág. 305-311. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.104>>

SCHMIDT H. H., STOCKER, R., VOLIBRACHT, C., PAULSEN, G., RILEY, D. DAIBER, A. AND CUADRADO, A. **Antioxidants in Translational medicine.** *Antioxidants and Redox Signaling*. 2015 Disponible en: <<https://doi.org/10.1089/ars.2015.6393>>

TAPIA, M. E. Y FRIES, A. M. **Guía de campo de los cultivos andinos.** Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación - FAO y Asociación Nacional de Productores Ecológicos del Perú - ANPE. 2007. Disponible en: <<http://www.fao.org/publications/card/es/c/f28ebc93-3410-5973-bffa-122099a5711e/>>

TAPIA, M.; GANDARILLAS, H.; ALANDIA, S.; CARDOZO, A. Y MUJICA, A. **La Quinoa y la Kañiwa: Cultivos andinos.** CIID – Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. 1979. Disponible en: <<https://idl-bnc-idrc.dspacedirect.org/handle/10625/4118>>

ÜKE Ö, KALE H, KAPLAN M, KAMALAK A. **Effects of maturity stages on hay yield and quality, gas and methane production of quinoa (*Chenopodium quinoa willd.*).** *Kahramanmaraş Sütçü İmam University Journal of Nature Sciences* 2017. Disponible en: <https://doi.org/10.18016/ksujns.51209>.

VISWANATHAN, M. et al. **A role for SIR-2.1 regulation of ER stress response genes in determining *C. elegans* life span.** *Developmental Cell*, v. 9, p. 605-615, 2005.