

## CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, ZHAPAN REVILLA MICHAEL XAVIER, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN HOJAS DE VARIEDADES DE GUANÁBANA (ANNONA MURICATA) COMO FUENTE ANTIESTRÉS DE SISTEMA PRODUCTIVOS BANANEROS, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 22 de diciembre de 2020



ZHAPAN REVILLA MICHAEL XAVIER  
0706734829

## POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE HOJAS DE GUANÁBANA (*Annona muricata* L.) PARA SISTEMAS PRODUCTIVOS DE BANANO

### ANTIOXIDANT POTENTIAL OF GUANÁBANA LEAVES (*Annona muricata* L.) FOR BANANA PRODUCTIVE SYSTEMS

Autores

Michael Xavier Zhapan Revilla<sup>1</sup>

E-mail: [mzhapan\\_est@utmachala.edu.ec](mailto:mzhapan_est@utmachala.edu.ec)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5536-435X>

Kevin Lima Morales<sup>1</sup>

E-mail: [klima1@utmachala.edu.ec](mailto:klima1@utmachala.edu.ec)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2355-3604>

María de los Ángeles Bernal Pita Da Veiga<sup>2</sup>

E-mail: [angeles.bernal@udc.es](mailto:angeles.bernal@udc.es),

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3217-5986>

Alexander Moreno Herrera<sup>1</sup>

E-mail: [amoreno@utmachala.edu.ec](mailto:amoreno@utmachala.edu.ec)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8898-4195>

<sup>1</sup>Universidad Técnica de Machala

<sup>2</sup>Universidad de Coruña. España.

#### RESUMEN

La guanábana (*Annona muricata* L.) contiene un gran número de compuestos con potencial antioxidante estrechamente ligados a los compuestos fenólicos presente en el tejido vegetal, el extracto de Guanábana posee más de 200 compuestos bioactivos se han aislado de la hoja y la pulpa de la fruta, en su mayoría pertenecen a los grupos de alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, glicosidos, y acetogeninas. El presente trabajo propone el análisis de extractos acuosos de hojas de cinco cultivares, detallando puntos de muestreo como posición de hojas en copa y en rama, como posibles potenciales antioxidantes. En la cuantificación de biomoléculas antioxidantes se utilizó el método de Folin-Ciocalteu y DPPH como sustancias que promueven cambios de coloración en contacto con biomoléculas antioxidantes. El contenido de fenoles solubles totales permite identificar dos cultivares con valores que divergen entre las muestras, en el cultivar 2 en toda su sección baja y copa, en parte de rama inicial, media y final expresados en mg EAG/gMS con valores de 7,80; 6,64; 7,94 y en de 7,19; 7,80; 8,20 respectivamente, el cultivar 5 en la sección copa, en rama parte final de 6,72. La actividad antioxidante identifica dos cultivares con valores que se deriven dentro de todos los puntos muestrales, el cultivar 4 en su sección baja e iniciando la rama expresadas en mg ET/gMS con 179,45 y sección copa al inicio de rama 213,77, y el cultivar 5 en su sección copa al final de rama con 173,55. El punto más significativo está en cultivar 5, en la sección copa, parte final de la rama

**Palabras clave:** extracto, fenoles, guanábana, antioxidantes.

#### ABSTRACT

Soursop (*Annona muricata* L.) contains a large number of compounds with antioxidant potential that are closely linked to phenolic compounds present in plant tissue. Soursop extract has more than 200 bioactive compounds that have been isolated from the leaf and pulp of the fruit, mostly belong to the groups of alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, glycosides and acetogenins. The present work proposes the analysis of aqueous extracts of leaves of five cultivars, results points of as sampling position of leaves in crown and in branch, as possible potential antioxidants. In the quantification of antioxidant biomolecules, the Folin-Ciocalteu method and DPPH were used as substances that promote color changes in contact with antioxidant biomolecules. The content of total soluble phenols allows to identify two cultivars with values that diverge between the samples, in cultivar 2 in all its lower section and crown, in part of the initial, middle and final branch expressed in mg EAG / gMS with values of 7, 80; 6.64; 7.94 and at 7.19; 7.80; 8.20

respectively, cultivar 5 in the crown section, in the final branch of 6.72. The antioxidant activity identifies two cultivars with values that are derived within all the sample points, cultivar 4 in its lower section and starting the branch expressed in mg ET / gMS with 179.45 and crown section at the beginning of the branch 213.77, and cultivar 5 in its crown section at the end of the branch with 173.55. The most significant point is in cultivar 5, in the crown section of the plant, the final part of the branch.

**Keywords:** Extract, fenols, soursop, antioxidants.

## INTRODUCCIÓN

Las plantas de *A. muricata*, perteneciente a la familia (Annonaceae), también llamada guanábana, o graviola es una planta tropical que se encuentra ampliamente distribuida en parte de las Américas, Asia, Australia y África. Mide de 8 a 10 m de altura, posee hojas obovadas, oblongas o acuminadas en diferentes grados con peciolos cortos, y sus hojas gruesas que son brillantes en la parte superior, esto debido a sus diversas características fenotípicas (Sanusi & Abu Bakar, 2018). El cultivo de guanábana, en Ecuador tiene un aproximado de 800 ha dedicadas a la producción de esta fruta de acuerdo con el Programa de Fruticultura del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (Moreira et al., 2020), al ser una actividad con buena aceptación y alto realce, cuenta con una participación de 0.3% en la exportación de frutas no tradicionales del Ecuador, en comparación a otras frutas que llevan varios años en el mercado Internacional. (Zavala, 2017).

En la actualidad existe una clara tendencia a la aplicación de compuestos con propiedades antioxidantes. Debido a la acción de la actividad de agentes oxidativos exógenos o que se pueden generar a partir de reacciones metabólicas normales. Estos agentes oxidativos pertenecen a especies reactivas del oxígeno (ROS) y especies reactivas del nitrógeno (RNS), que son capaces de destruir biomoléculas como lípidos, proteínas, aminoácidos, y ADN (Gyesi et al., 2019). Los extractos de hoja de Guanábana han demostrado poseer propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Potencial uso en pesticidas botánicos), más de 200 compuestos bioactivos se han aislado de la hoja y la pulpa de la fruta, la mayoría perteneciente al grupo de los alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, glicosidos, y acetogeninas (Orak et al., 2019).

Estos potenciales de biomoléculas antioxidantes son demandadas por cultivos locales como banano, que están haciendo su conversión de sistemas productivos convencionales a orgánicos. El banano es uno de los productos de mayor importancia, siendo de los rubros económicos no petroleros de mayor significancia del país, producto de la exportación durante los años de auge en 1945 a 1960 en el Ecuador, la provincia de El Oro es uno de los más alusivos en el desarrollo agrícola bananero. (Palomeque, 2016). Una de las principales causas de la baja productividad son las plantaciones con más de 40 años de edad que requieren renovar estos sistemas convencionales (Ordoñez et al., 2019), el uso en altas concentraciones de fungicidas altera el hábitat de los microorganismos generadores de fertilidad del suelo (Cycoñ et al., 2010), y la incidencia de los factores abióticos, la disminución de la temperatura alterando los procesos metabólicos y fotosintéticos (Melo et al. 2009).

Ante esta realidad bananera, se identifican potencialidades vegetales locales como bioestimulantes y fortificantes como opción para las generaciones venideras para la producción agrícola sostenible y como alternativa a los productos químicos sintéticos (Hayat et al., 2018). Resultados previos confirman primeros avances con la utilización de extractos acuosos en el cultivo banano Williams, al aplicar diferentes concentraciones de extracto de *Moringa oleífera* Lam (MOL), en la fase aclimatación de las vitro-plantas (Ugarte et al., 2018).

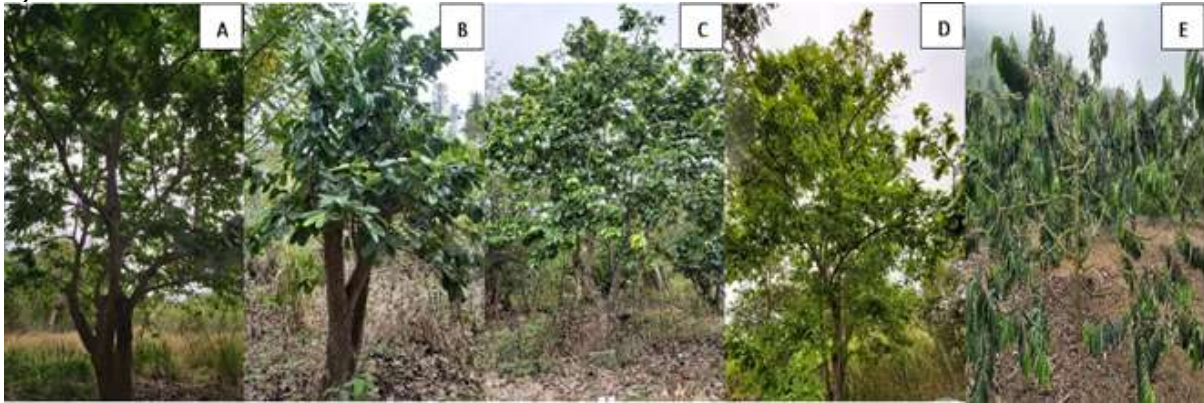
El objetivo del trabajo fue determinar la capacidad antioxidante de *A. muricata* por medio de análisis de extractos acuosos para indicar los cultivares potenciales como fuentes antiestrés de sistemas bananeros a través de técnicas y protocolos de espectrofotometría en cinco cultivares de Guanábana, cuatro a nivel local y una comercial del cantón Las Lajas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de investigación se realizó durante los meses de septiembre hasta noviembre de 2020 en el laboratorio de Micropropagación vegetal de la Granja Santa Inés de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Machala (UTMACH) ubicada a (3° 17' 30" S; 79° 54' 51" w) donde se obtuvo el material vegetal para análisis de cuatro cultivares de guanábana del banco de germoplasma local y un cultivar en producción en la Quinta "La Leticia", parroquia San Isidro en el cantón Las Lajas perteneciente a la provincia de El Oro ubicada a (3° 44' 39" S; 80° 00' 11" w). El presente trabajo contó con el apoyo de la compañía Biofábrica Montubia BIOMONT S.A.S para el análisis bioquímico de las muestras vegetales de guanábana y vitroplantas de banano expuestas a extractos vegetales.

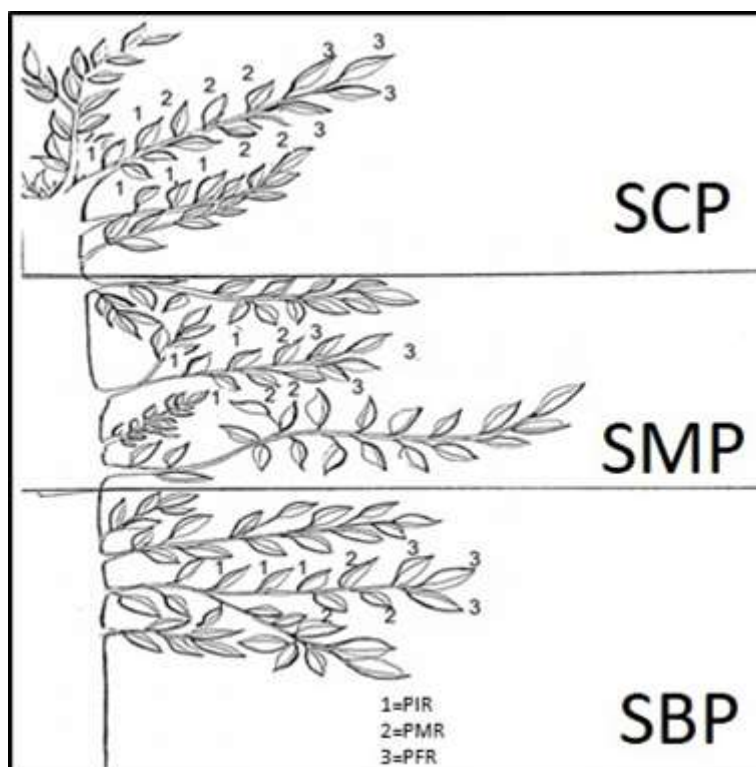
### Recolección de las muestras del material vegetal

Para llevar a cabo la investigación, se recolectaron hojas de *A muricata* de 5 cultivares (Figura 1), donde los cultivares A, B, C, D fueron recolectadas en UTMACH y seleccionadas por presentar mejores características fenotípicas, así como adaptabilidad al mostrar abundancia del follaje, este carácter como potencial para la producción de hojas destinadas a sistemas productivos fortificantes. En el caso del cultivar E recolectada en la Quinta "La Leticia", la selección tiene el rol de plantas en producción de fruto que requieren podas constantes y requiere de explotar valores agregados diversos al sistema productivo (Figura 1).



**Figura 1.** Fuente de material Vegetal. Diferentes cultivares utilizadas como fuente de material vegetal para extracción de muestras de hojas de Guanábana dentro de un entorno no controlado (A), (B), (C), (D), el cultivar recolectada en un sistema productivo situado en la parroquia San Isidro del cantón Las Lajas (E).

La selección de muestras en copa y ramas, responden a actividades de manejo del cultivo y del potencial de hojas en los cultivares. Las muestras seleccionadas fueron en la parte baja, media y la copa de la planta, así como de parte inicial, media y final de la rama (Figura 2).

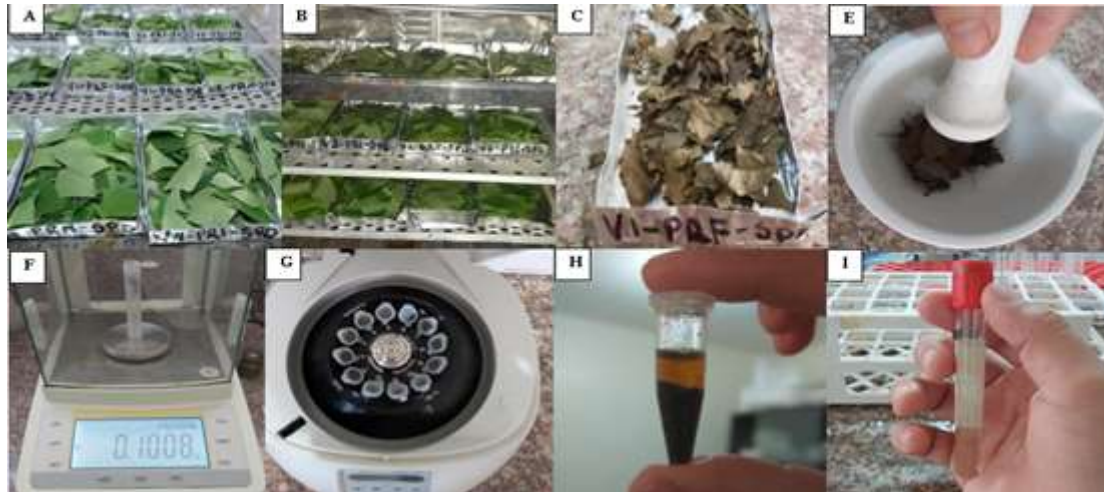


**Figura 2.** Puntos de muestreo. Bode de ubicación e identificación de los puntos muestra en distintas partes de la planta (SCP=Sección copa planta), (SMP=Sección media planta), (SBP=Sección baja planta) y distintas partes de la rama (PIR=Parte inicial rama), (PMR=Parte media rama), (PFR=Parte final rama).

### Proceso de extracción de muestras

El proceso de extracción es esencial para la separación y recuperación de compuestos bioactivos de plantas, convierte la matriz real en una muestra adecuada para el procedimiento analítico posterior (Belwal et al., 2018). El material vegetal, fue colocado en estufa a temperatura de 70 °C durante 24 horas, lo cual permitió obtener un secado homogéneo de las muestras. Con un mortero de porcelana se procedió a macerar hasta conseguir un polvo muy fino de las hojas, posteriormente se guardaron en bolsas de cierre Zip, envueltas en una capa de papel aluminio a temperatura ambiente, con el fin evitar la disminución de los componentes antioxidantes y fenólicos por la incidencia de la luz y la humedad del ambiente.

De cada tratamiento tuvimos tres muestras, las cuales se pesaron en 0.1 gramo directamente en eppendorf, en donde se agregó 1 mL de agua destilada hirviendo, reposando durante 5 minutos. Después de este tiempo de enfriamiento, se posicionaron en cada sitio de la centrífuga, teniendo en cuenta el peso con su contraparte de cada muestra, una vez listo centrifugamos a 10000 rpm durante 15 minutos en una centrífuga (MiniSpin plus-Eppendorf AG, Hamburg). Una vez finalizado los 15 minutos, es extraída la parte acuosa para ser depositada en un tubo graduado con punta cóncava, para enrasar a un volumen final de 5 mL y posteriormente ser almacenados en tubos Vacutainer™ a -4°C, hasta realizar la cuantificación de fenoles solubles y actividad antioxidante (Figura 3).



**Figura 3.** Proceso de extracción. Procedimiento secado (A, B, C), macerado (E), pesado (F) y centrifugado de las muestras (G), para su extracción y almacenamiento de la parte acuosa (H, I).

### **Contenido de Fenoles solubles del material vegetal**

Los fenoles vegetales son los metabolitos secundarios más abundantes de las plantas, han atraído cada vez más atención debido a sus potentes propiedades antioxidantes (Dai & Mumper, 2010). Las valoraciones de fenoles solubles se realizaron mediante el método de Folin & Ciocalteu (1927) modificado por (Kraujalyte et al., 2015).

Para valorar el contenido de fenoles, y optimizar el uso de reactivo se optó por realizar una recta de calibrado a proporción 1:10 de Folin-Ciocalteu (AG) de acuerdo al método modificado, la cual posibilita cuantificar el contenido de fenoles en muestras, en la preparación se requiere el empleo de diferentes soluciones de ácido gálico a distintas concentraciones: 0.01mg de AG/ml, 0.02 mg AG/ml, 0.05mg AG/ml, 0.1mg AG/ml, 0.2mg AG/ml de metanol. De las cuales se extrajo tres veces 100µl añadiendo a cada una, la alícuota de 1000 µl de Folin-Ciocalteu previamente disuelto 10 veces. Dejar en reposo durante 4 minutos en oscuridad, posterior al reposo se adicionaron 1000µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> concentrado al 7% y 400 µl de agua destilada a cada uno de los tubos. En segunda ocasión dejar en reposo por 90 minutos en oscuridad para ser efectuadas las lecturas en el espectrofotómetro. Como resultado de la recta de calibrado, se obtuvo como ecuación: Absorbancia 760 nm=3.8292 [equivalentes de ácido gálico]+0.0303 con R<sup>2</sup> = 0.997, para cuantificar la cantidad presentes de polifenoles solubles.

A partir de las muestras enrasadas a 5ml y almacenadas a - 4°C, se extraen 100 µl por triplicado de extracto vegetal, los cuales son dispensados en tres tubos diferentes, luego se agrega 1000 µl de Folin-Ciocalteu, se agita durante un minuto para tratar que se homogenice las muestras y dejar reposar por 4 minutos a oscuridad. Pasado este tiempo se adicionan 1000 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y por último 400 µl de agua destilada en cada uno de los tubos con muestras. Estas se agitaron nuevamente durante 1 minuto y llevadas a reposo durante 90 minutos a oscuridad para su posterior lectura. Las lecturas se realizaron en espectrofotómetros a 760 nm (Figura 4).

### **Contenido actividad antioxidante del material vegetal**

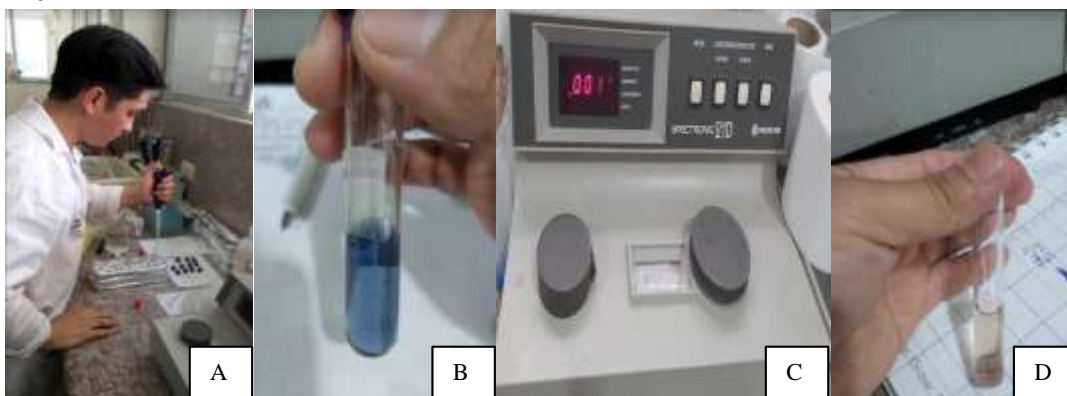
Se puede definir a un compuesto antioxidante como cualquier sustancia que, cuando está presente en concentraciones bajas, en comparación con las del sustrato oxidable, retrasa o inhibe significativamente la oxidación de ese sustrato (Halliwell & Gutteridge, 1989). La capacidad antioxidante se calculó empleando el método de (Brand et al., 1995) basado en la disminución de la absorbancia a 515 nm aplicando una solución metanólica DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo) que reacciona con las muestras (Ávila et al., 2019), la solución metanólica se presenta como la absorbancia de inicio (A<sub>0</sub>). El DPPH en presencia del radical oxidado presentando un color morado al inicio, y a medida que la reacción se va efectuando va reduciendo, tomando un color amarillo (Figura 4). La variación en la coloración posibilita medir el contenido de DPPH reducido empleando la siguiente fórmula:

$\% \text{ DPPH reducido} = ((A_0 - A_m) / A_0) \cdot 100$ , siendo  $A_m$  la absorbancia de la muestra.

Partiendo de esta ecuación, se elaboró una solución de DPPH (0.04 g en 100 ml de metanol), la cual se diluyó con metanol hasta alcanzar valores en absorbancia cercanos a 0,800 nm. El espectrofotómetro fue calibrado a 515 nm empleando metanol absoluto como blanco. De cada muestra se realiza tres lecturas, cada una se prepara dispensando en la cubeta de vidrio una solución de 2,375  $\mu\text{L}$  de DPPH ajustado y adicionando 135  $\mu\text{L}$  de muestra en cubetas de 2,5 ml empleando metanol absoluto como blanco, aplicando cuatro giros de campana a la cubeta y sin tiempo de incubación introducir en el espectrofotómetro y apuntar de una manera inmediata el primer dato que se muestra en la pantalla, debe ser menor al factor que resultó al ajustar el DPPH. Los resultados se obtuvieron como % DPPH reducido como insumos para expresarlos en equivalentes de las muestras evaluadas ante una recta de calibrado con patrón externo Trolox.

La recta de calibrado se realizó con el patrón externo Trolox (ácido 6-hydroxi-2.5.7.8-tetrametilchroman-2-carboxílico mediante la preparación de una disolución madre de 1Mm (25 mg de Trolox en etanol absoluto). A partir de esta disolución madre se preparó 5 disoluciones de concentraciones diferentes (100, 200, 300, 400 y 500  $\mu\text{L}$ ). Estas disoluciones permitieron valorar las 5 concentraciones por triplicado obteniendo equivalentes Trolox, se tomó la absorbancia inicial ( $A_0$ ) compuesto por disolventes de DPPH (950  $\mu\text{L}$  de metanol absoluto) y Trolox (50  $\mu\text{L}$  de etanol absoluto). Las lecturas de absorbancias a 515 nm fueron obtenidas utilizando 50  $\mu\text{L}$  de cada concentración trolox y 950  $\mu\text{L}$  de DPPH con lecturas fijas, para elaborar la recta de calibrado.

La recta de calibrado permitió obtener la ecuación: Absorbancia 515 nm = 0.0536 [equivalentes de Trolox] + 2.7577 con  $R^2 = 0,9596$ , como se muestra en la figura 3. Las lecturas de muestras fueron realizadas en espectrofotómetro (Spectronic21D, 1988, USA) (Figura 4).



**Figura 4.** Proceso de lectura de Fenoles y antioxidantes, Dispensar reactivos (A), contenido de fenoles (B), espectrofotómetro (C), contenido de antioxidantes (D).

#### **Determinación de extractos acuosos de sección copa de la planta parte final de la rama en vitroplantas de banano en condiciones controladas.**

Plántulas meristemo de banano *Musa x paradisiaca* sub grupo Cavendish clon Williams con edad de ocho semanas en invernadero, llevadas a condiciones controladas de laboratorio a 26°C y luz natural como fuente de luminosidad. Se procedió a separar las plantas del sustrato lavando la zona radicular y colocarlas en maceta, agregando una vez por semana una solución nutritiva ( $\text{KNO}_3$ ,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{H}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ,  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,

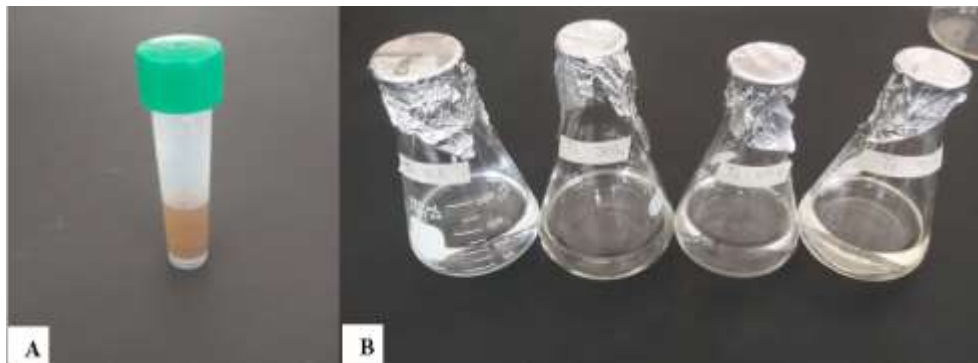
ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>(85%), Na<sub>2</sub>EDTA, Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub> estandarizada por la Universidad de La Coruña (Figura 5).



**Figura 5.** Establecimiento de plántulas en laboratorio. Proceso de establecimiento de plántulas de banana cv. Williams de 8 semanas en condiciones de invernadero a condiciones de laboratorio.

#### **Extracto acuoso de hoja de guanábana.**

El extracto acuoso se preparó partiendo de infusión de polvo de hoja de guanábana 0,1gr aplicando 5ml de agua destilada y colocar en baño María a 50°C por 15 min. Filtrar usando gaza (papel filtro) resultando un volumen 2,5 ml de extracto puro. Extraer una alícuota de 1ml por cada 100ml de volumen final, llevar a cada una de las concentraciones finales (0%,30%,60%, 90%). Los tratamientos fueron estructurado por bloques al azar, se procedió a aplicar 20ml/pl. de Té, esto se realizó a los 7 días de su establecimiento en laboratorio (Figura 6).

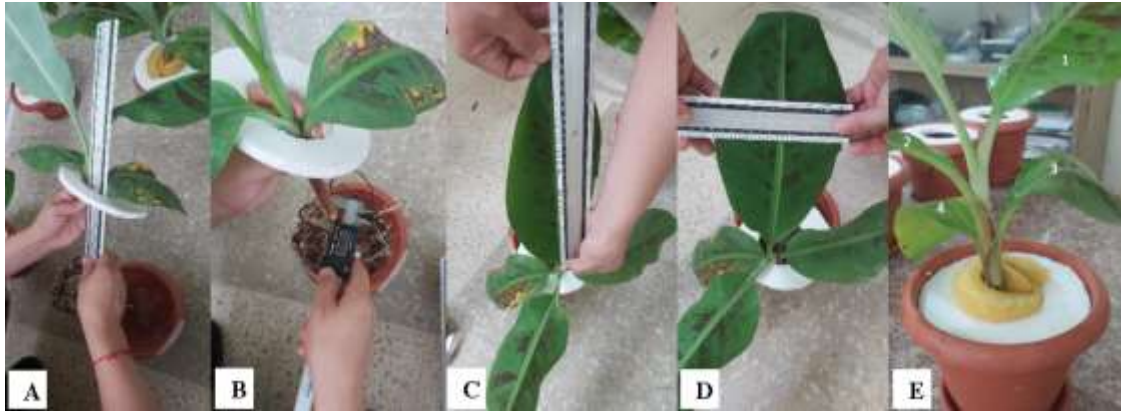


**Figura 6.** Extracto de hoja de guanábana (A), diferentes concentraciones de extracto de hoja (B).

#### **Momento inicial o aplicación extracto.**

Los datos morfológicos fueron recolectados a los 0, 7 días después de la aplicación del extracto de hoja de guanábana, tomando como variables a la altura del pseudotallo en cm, diámetro del pseudotallo en cm, número de hojas, longitud y ancho de hoja en cm. (Figura 7)





**Figura 7.** Recolección de datos morfológicos. Altura de pseudotallo (A), diámetro de pseudotallo (B), longitud de hoja (C), ancho de hojas (D), número de hojas (E).

Después de la recolección de datos, se divide la planta en hojas, pseudotallo y raíz, picando cada uno de sus órganos y llevando a estufa a 70°C durante 24 horas, procedemos a aplicar los métodos de espectrofotometría antes citados.

**Tabla 1.** Homogeneidad de plantas para valoración. NS (no significativo) valores no significativos entre descriptores perteneciente a cada uno de las diferentes concentraciones.

EXTRACTO DE HOJA DE GUANABANA (%)	ALTURA PSEUDOTALLO cm	DIÁMETRO PSEUDOTALLO cm	NUMERO DE HOJA u	LONGITUD DE HOJA cm	ANCHO DE HOJA cm
0% EXTRACTO	20,00±1,06	1,775±0,118	4,00±0,01	28,13±1,34	13,63±0,24
30 % EXTRACTO	22,50±0,61	1,803±0,067	4,00±0,01	30,63±0,66	15,13±0,52
60 % EXTRACTO	20,63±0,97	1,825±0,114	4,00±0,01	28,88±1,36	14,25±0,52
90 % EXTRACTO	22,25±1,11	1,908±0,059	4,25±0,25	28,38±0,66	14,00±0,41
ANOVA	NS	NS	NS	NS	NS

El material vegetal adquirido para la aplicación del extracto de guanábana presenta características homogéneas observadas al momento de la toma de datos de cada uno de los descriptores y confirmado por prueba de anova unifactorial, que determinó la no existencia de diferencias significativas (Tabla 1).

### Procedimiento estadístico

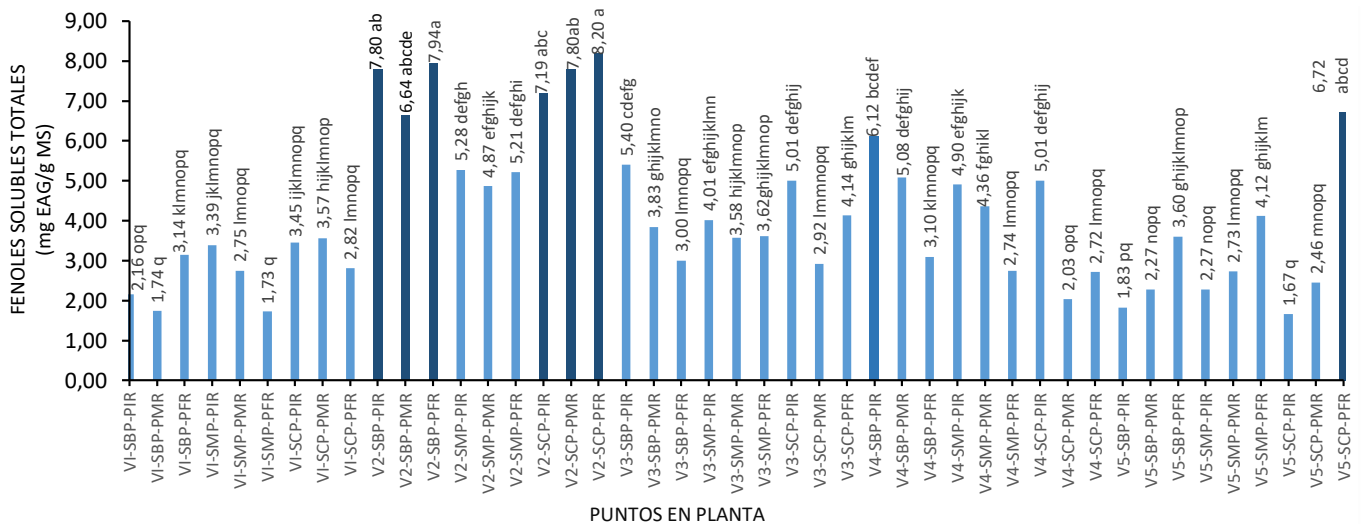
A fin de precisar de forma estadística la presencia de diferencias significativas entre los cinco cultivares de *guanábana*, tomando muestras en diferentes partes del área foliar, a razón del potencial fenólico soluble y el potencial de reducción del radical DPPH se llevó a cabo un ANOVA de un factor intergrupos. La misma prueba estadística se empleó entre los descriptores morfológicos (Longitud del pseudotallo, diámetro del pseudotallo, número de hojas, longitud de hojas, ancho de hojas) medidos en las plantas de clon Williams. Se realizaron pruebas de post hoc (HSD Tukey) para determinar entre qué grupos se encuentran diferencias o similitudes. Los procesos estadísticos antes mencionados se emplearon para escoger el mejor extracto. Los datos fueron analizados por el paquete estadístico SPSS Versión 21 de prueba para Windows, a una confiabilidad del 95% ( $\alpha=0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Potencial fenólico en hoja de guanábana

El cultivo de guanábana en sus hojas cuenta con una gran fuente de fenoles que difiere entre plantas de su misma especie. A razón de los resultados obtenidos, el contenido de fenoles solubles totales con mayor potencia se muestra en el cultivar 2, la cual presenta una homogeneidad entre sus resultados en toda la sección copa y la sección baja de planta con un resultando un valor promedio de 7,59 mg EAG/gMS. El cultivar 5 presenta un valor

que diverge de los demás puntos, en la sección copa parte final de rama de 6,72 mg EAG/gMS (Figura 8).



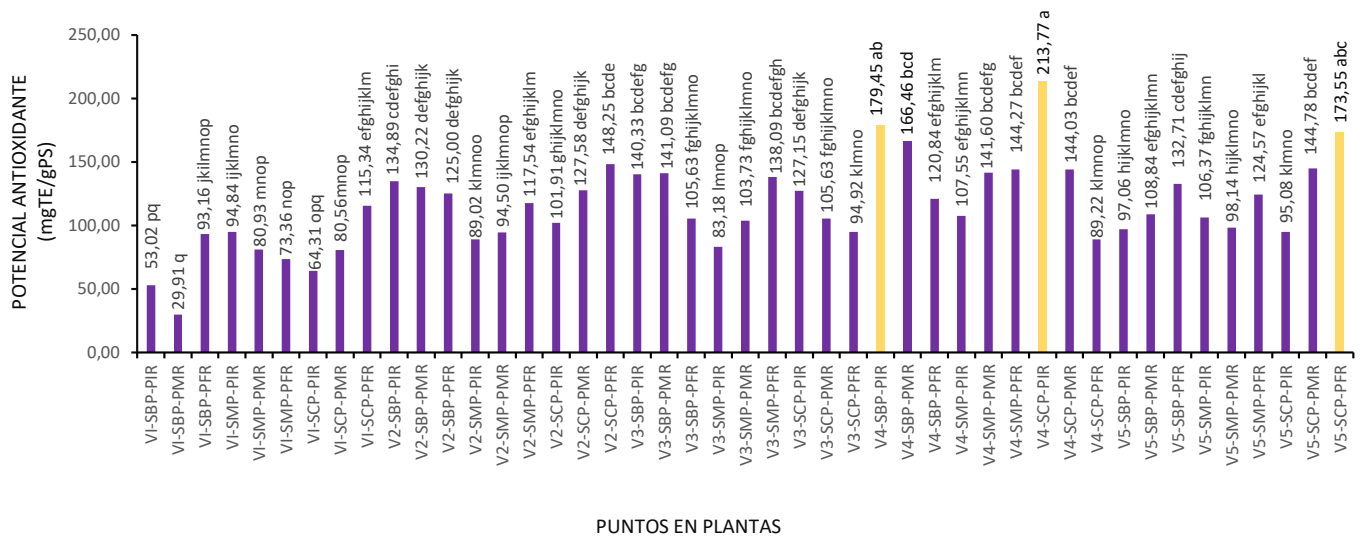
**Figura 8.** Los Fenoles solubles en hoja de guanábana expresado en (mg AG/gMS). N=9, Error estándar de la media=±0,101. \*Diferentes letras difieren estadísticamente para un p-valor<0,05 (Prueba HSD Tukey). (SCP=Sección copa planta), (SMP=Sección media planta), (SBP=Sección baja planta) y distintas partes de la rama (PIR=Parte inicial rama), (PMR=Parte media rama), (PFR=Parte final rama).

El cultivar 5 en sección copa parte final de la rama que pertenece a un sistema de producción obtuvo el resultado más significativo en contenido fenoles solubles y actividad antioxidantes. Afirmando a (Lopez-Laredo, 2012) que en un estudio sobre *Castilleja tenuiflora* Benth establecidas en vivero obtuvieron 37,95 mg de ácido gálico equiv. G<sup>-1</sup> peso seco, siendo este el mejor resultado.

El potencial fenólico presente en el cultivar 5 de plantas jóvenes, se puede correlacionar con los resultados que obtuvo la investigación de (Ordoñez et al., 2019) en plantas jóvenes de MOL, donde expone la incidencia de la edad del material vegetal en el contenido de fenoles solubles obteniendo como resultado 9.10 mg GAE g<sup>-1</sup> para peso seco.

### Potencial Antioxidante en hoja de guanábana

La hoja de guanábana posee una alta actividad antioxidante cuyas propiedades inhiben o retrasan la oxidación de la célula vegetal. En función a los resultados obtenidos, el contenido de antioxidantes presentó diferencias significativas expresadas en mgTE/gPS. entre todas los cultivares, resultando el cultivar 4 con mayor potencial, en la sección baja y copa de planta en su parte inicial, obteniendo un resultado promedio de 196,61. Por su parte, el cultivar 5 obtuvo un valor significativo, ubicado la sección copa de planta parte final de rama de 173,55 (Figura 9).



**Figura 9.** Actividad antioxidante en hoja de guanábana expresado en (mgTE/gPS). N=9, Error estándar de la media=±1,973. \*Diferentes letras difieren estadísticamente para un p-valor<0,05(Prueba HSD Tukey), y estadísticamente para un p-valor≤0,05(Prueba HSD Tukey). (SCP=Sección copa planta), (SMP=Sección media planta), (SBP=Sección baja planta) y distintas partes de la rama (PIR=Parte inicial rama), (PMR=Parte media rama), (PFR=Parte final rama).

De acuerdo al potencial antioxidante de la parte final de la rama, en sección copa del cultivar 5 expresó un valor significativo. Corroborando lo expuesto por (Gómez et al., 2012) en dos cultivares de *Psidium guajava* L. que determinó la mejor capacidad antioxidante en hojas tiernas con IC<sub>50</sub> 14,7745 µg/mL. Este potencial antioxidante confirma los resultados de (Laredo-López et al., 2012) en donde los compuestos fenólicos con la actividad antioxidantes presentan una correlación significativa.

**Efectos de extractos acuosos de sección copa de la planta parte final de la rama en vitroplantas de banano en condiciones controladas.**

La (Tabla 2) dispone los resultados obtenidos a los siete días de haber realizado la aplicación del extracto acuoso de hoja de guanábana, en donde presenta una mayor diferencia de 1,57 cm en la altura de pseudotallo al 30%. El mayor diámetro de pseudotallo se expresó con una diferencia de 0,16 cm al 30%. El número de hojas no presenta diferencia en ningún extracto, no así la longitud de hoja que al 90% tuvo una desemejanza de 1 cm comparada con todas las concentraciones. Y el ancho de hoja manifiesta una disparidad de 0,50 cm al 60% comparada entre las cuatro concentraciones.

**Tabla 2.** Efectos extractos acuosos en estado morfológico de vitroplantas de banano a los siete días de aplicación. NS (no significativo) valores no significativos entre descriptores perteneciente a cada uno de las diferentes concentraciones.

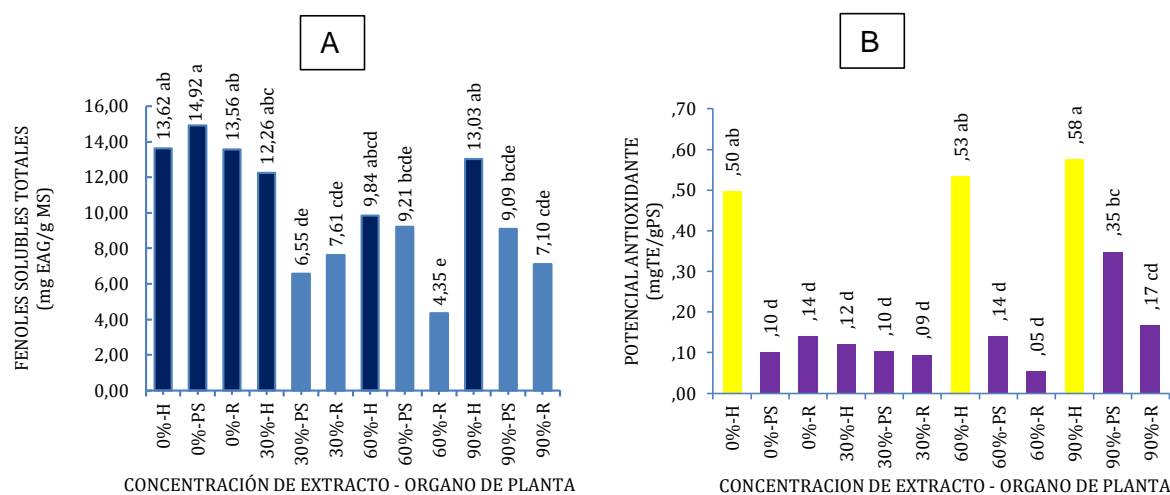
EXTRACTO DE HOJA DE GUANABANA (%)	ALTURA PSEUDOTALLO cm	DIÁMETRO PSEUDOTALLO	NÚMERO DE HOJA u	LONGITUD DE HOJA cm	ANCHO DE HOJA cm
0% EXTRACTO	20,70±1,14	1,92±0,11	4,00±0,01	29,00±1,23	13,98±0,17
30 % EXTRACTO	23,33±0,37	1,91±0,07	4,00±0,01	31,40±0,62	15,48±0,51
60 % EXTRACTO	22,20±0,59	1,99±0,04	4,00±0,01	29,73±1,34	14,75±0,47
90 % EXTRACTO	23,08±1,13	1,99±0,05	4,25±0,25	29,38±0,53	14,45±0,34
ANOVA	NS	NS	NS	NS	NS

De acuerdo a los resultados expuestos, el extracto de hoja de *Annona muricata* L. a los 7 días, expresó un efecto potencial de crecimiento para las vitroplantas de banano Williams en estado de desarrollo. Semejante a lo dicho por (Ugarte et al. 2018), un trabajo realizado en *Moringa oleifera* L. (MOL), se evaluaba el efecto fortificante de MOL en vitroplantas de banano, obteniendo las mejores concentraciones entre 60% a 75% de hojas de MOL. Otros resultados obtenidos en aplicación de extracto de MOL en distintas concentraciones en cereales para su óptimo crecimiento (Abusuwar & Bohassan, 2017). Se obtuvo una respuesta de hasta el 94,6% en todos los órganos de *Phaseolus vulgaris* L. analizados por la aplicación de extracto de MOL a una concentración de 1:20 (Elzaawely, 2017).

### Efecto de extractos acuosos de guanábana en fenoles solubles totales y antioxidantes totales de vitroplantas de banano.

La (Figura 10) imagen A, se puede apreciar que el potencial fenólico expresa valores significativos del extracto acuoso de hoja de guanábana, pero estadísticamente la concentración de testigo 0% expresa una homogeneidad entre sus órganos con valores promedio de 14,03 mg EAG/gMS. A diferencia de las concentraciones 30%, 60% y 90% mostró valores significativos en sus hojas que se alejan con un promedio de 11,71 mg EAG/gMS. de los bajos resultados que mostró el pseudotallo y raíz de 8,28 mg EAG/gMS, 6,35 mg EAG/gMS respectivamente. Estos resultados se obtuvieron a los 7 días de la aplicación del extracto.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el potencial antioxidante mostró resultados semejantes a la concentración testigo 0% de 0,50 mgTE/gPS en sus hoBas, las concentraciones 60% y 90% obtuvieron un valor promedio de 0,55 mgTE/gPS. Datos tomados a los 7 días de aplicación de extracto (Figura 10)



**Figura 10.** Efecto de extracto acuoso de guanábana en vitroplantas de banano Williams. (A) Fenoles solubles totales en mgGAE/gMS, (B) antioxidantes totales en mg TE/gPS.

El efecto del extracto acuoso de hoja de guanábana permite diferenciar datos altos que equivalen a fenoles solubles totales y actividad antioxidante totales, apreciando un mejor desarrollo óptimo de las vitroplantas de banano Williams. El potencial fenólico que se expresa en los resultados es secundado (Elzaawely et al., 2017) con los fenoles solubles totales (TCP) en el tratamiento de extracto de MOL (1:20) que fueron significativos sobre el testigo.

Los antioxidantes presentes en el extracto de hoja de guanábana, así como lo describe Abdel-Mageed (2017), en extracto de hoja de MOL mitigan y reparan el deterioro causado

por especies reactivas del oxígeno bajo estrés, promoviendo sistemas complejos de defensa antioxidante para apoyar las estrategias de defensa celular frente al estrés oxidativo en las plantas.

Glinicki *et al.* (2010), destacan la importancia del desarrollo de estimuladores naturales también llamados como biofertilizantes, biopreparados, bioestimuladores para el crecimiento, y desarrollo de los cultivos a partir de especies vegetales, y que además sean inofensivos para los seres humanos y el medio ambiente.

## CONCLUSIONES

La principal fuente fenólica es el cultivar dos en toda la sección baja y copa de la planta, así como principal fuente antioxidante el cultivar cinco en la sección copa de la planta y parte final de la rama. El resultado con valores significativos para ambas variables mostró este último cultivar con potencial extracto antioxidante para fortalecer plantas de banano y permite darle valor agregado a este último cultivar de guanábana proveniente de un sistema productivo.

De acuerdo con los valores obtenidos se concluye que a los siete días de aplicación del extracto en plántulas de banano cv. Williams el mayor potencial antioxidante estuvo en el contenido de fenoles solubles totales, donde las concentraciones de extracto acuoso de hoja de guanábana a 90 y 60% mostraron mayor contenido.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abd El-Mageed, T. A., Semida, W. M., & Rady, M. M. (2017). Moringa leaf extract as biostimulant improves water use efficiency, physio-biochemical attributes of squash plants under deficit irrigation. *Agricultural Water Management*, 193, 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2017.08.004>
- Abusuwar, A. O., & Abohassan, R. A. (2017). Effect of Moringa olifera leaf extract on growth and productivity of three cereal forages. *Journal of Agricultural Science*, 9(7), 236-243.
- Ávila, W. Á., Vargas, O. J. M., Bastidas, L. M. M. (2019). Aplicación de un diseño factorial 2<sup>3</sup> en la extracción asistida por microondas y evaluación de la actividad antioxidante de los compuestos presentes en frutos de *Vaccinium meridionale*. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 48(3), 643–661. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n3.84983>
- Belwal, T., Ezzat, S. M., Rastrelli, L., Bhatt, I. D., Daglia, M., Baldi, A., Devkota, H. P., Orhan, I. E., Patra, J. K., Das, G., Anandharamakrishnan, C., Gomez-Gomez, L., Nabavi, S. F., Nabavi, S. M., & Atanasov, A. G. (2018). A critical analysis of extraction techniques used for botanicals: Trends, priorities, industrial uses and optimization strategies. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 100, 82–102. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.12.018>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cycoń, M., Piotrowska-Seget, Z., & Kozdrój, J. (2010). Responses of indigenous microorganisms to a fungicidal mixture of mancozeb and dimethomorph added to sandy soils. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64(4), 316-323. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.03.006>
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>
- Elzaawely, AA, Ahmed, ME, Maswada, HF y Xuan, TD (2017). Mejora del crecimiento, rendimiento, contenido bioquímico y hormonal del frijol rojo (*Phaseolus vulgaris* L.) rociado con extracto de hoja de moringa. *Archivos de Agronomía y Ciencias del Suelo*, 63 (5), 687-699.
- Gómez, E. O., Arévalo, A. L., Días, D. R., & Chacón, M. S. (2012). Cuantificación de polifenoles totales y actividad antioxidante en hojas, corteza, flores y fruto de dos variedades de guayaba (*psidium guajava* L.). *Revista Investigación y Amazonía*, 1(2), 48-52.

- Glinicki, R., Sas-Paszt, L., & Jadczyk-Tobjasz, E. (2010). The effect of plant stimulant/fertilizer "resistim" on growth and development of strawberry plants. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 18(1), 111-124.
- Gyesi, J. N., Opoku, R., & Borquaye, L. S. (2019). Chemical Composition, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activities of the Essential Oils of the Leaves and Fruit Pulp of *Annona muricata* L. (Soursop) from Ghana. *Biochemistry Research International*, 2019, 4164576. <https://doi.org/10.1155/2019/4164576>
- Hayat, S., Ahmad, H., Ali, M., Hayat, K., Khan, M. A., & Cheng, Z. (2018). Aqueous garlic extract as a plant biostimulant enhances physiology, improves crop quality and metabolite abundance, and primes the defense responses of receiver plants. *Applied Sciences*, 8(9). <https://doi.org/10.3390/app8091505>
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1989). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Clarendon Press. <https://books.google.com.ua/books?id=Eok5AQAAIAAJ>
- Kraujalyte, V., Venskutonis, P. R., Pukalskas, A., Česonienė, L., & Daubaras, R. (2015). Antioxidant properties, phenolic composition and potentiometric sensor array evaluation of commercial and new blueberry (*Vaccinium corymbosum*) and bog blueberry (*Vaccinium uliginosum*) genotypes. *Food Chemistry*, 188, 583–590. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.031>
- López-Laredo, AR, Gómez-Aguirre, YA, Medina-Pérez, V., Salcedo-Morales, G., Sepúlveda-Jiménez, G., y Trejo-Tapia, G. (2012). Variación de las propiedades antioxidantes y concentración de fenoles en diferentes órganos de Castilleja tenuiflora Benth de cultivo silvestre y de invernadero. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34 (6), 2435-2442.
- Melo, A. S. De, Fernandes, P. D., Sobral, L. F., Eric, M., Brito, B., Dayanne, J., & Dantas, M. (2009). Alterações das características fisiológicas da bananeira sob condições de fertirrigação. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008005000101>
- Moreira Macías, R. G., Rodríguez, H., Héctor-Ardisana, E., Feicán-Mejía, C., Mestanza Velasco, S. A., Viera Arroyo, W. (2020). In situ morphological characterization of soursop (*Annona muricata* L.) plants in Manabí, Ecuador. *Enfoque UTE*, 11(2), 58–70. <https://doi.org/10.29019/enfoque.v11n2.536>
- Orak, H. H., Bahrisefit, I. S., & Sabudak, T. (2019). Antioxidant activity of extracts of soursop (*Annona muricata* L.) leaves, fruit pulps, peels, and seeds. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 69(4), 359–366. <https://doi.org/10.31883/pjfn/112654>
- Ordoñez C., F. M., Bernal Pita Da Veiga, M. A., Vidal Gonzalez., N. P., & Moreno Herra, A. (2019). Efectos antioxidantes de moringa oleifera lam en vitroplantas de banano clon williams enraizadas en sistemas de inmersión temporal rita. *Revista Científica Agroecosistemas*, 57–63. <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes>
- Palomeque Jaramillo, J. M., & Lalangui Ramírez, J. I. (2016). Propuesta de una ruta turística bananera en base a la historia regional, provincia El Oro, de Ecuador. *Revista Universidad y Sociedad*, 8(3), 141-150.
- Sanusi, S. B., & Abu Bakar, M. F. (2018). Soursop— *Annona muricata*. In *Exotic Fruits* (pp. 391–395). Academic Press. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00053-8>
- Ugarte Barco, F., Lima Morales, K., Bernal, M. A., & Moreno Herrera, A. (2018). Estudios preliminares del efecto fortificante de extractos de Moringa oleifera Lam. en vitroplantas del clon Williams en aclimatación. *Revista Científica Agroecosistemas*, 6(2), 47–55. <http://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/index%0A>
- Zavala F. G. (2017). Diseño de un plan de exportación de guanábana a la Unión Europea (Master's thesis, Universidad de Guayaquil Facultad de Ciencias Económicas) <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/22>