



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**Determinación del contenido fenólico y capacidad antioxidante, en plantas de arvejas  
(*Pisum sativum* L.) sanas y afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi**

Narváez Morocho, Janis Anabella

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Trabajo de Integración Curricular, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga

Ph.D. Mihai, Raluca Alexandra

13 de marzo del 2024



## Plagiarism report

Escrito\_Narváez Morocho Janis Anab...



## Scan details

Scan time:  
March 1th, 2024 at 17:13 UTC

Total Pages:  
52

Total Words:  
12898

## Plagiarism Detection



Types of plagiarism		Words
Identical	0.6%	77
Minor Changes	0.9%	118
Paraphrased	1.1%	139
Omitted Words	2.9%	368

## AI Content Detection



Text coverage

- AI text
- Human text

### Plagiarism Results: (20)

[INTA\\_CRBsAsNorte\\_EEASanPedro\\_Mitidieri\\_Francescangeli\\_eds\\_Curso\\_San...](#) 0.7%

[https://repositorio.inta.gob.ar/bitstream/handle/20.500.12123/2692/inta\\_crbsasnorte\\_eeasanpedro\\_mitidieri...](https://repositorio.inta.gob.ar/bitstream/handle/20.500.12123/2692/inta_crbsasnorte_eeasanpedro_mitidieri...)  
ISBN 978-987-521-443-9 Sanidad en cultivos intensivos 2013 Módulo 3 - Batata, arveja, hortalizas de hoja y aromáticas: no hay sencillez ...

[2021-02-12-183231-Libro de Memorias Congreso Produccion Pecuaria.pdf](#) 0.6%

<http://cimogsys.esPOCH.edu.ec/direccion-publicaciones/public/docs/books/2021-02-12-183231-libro%20de%2...>  
LIBRO DE MEMORIAS \_\_\_\_\_ COMPILADORES: Ing. MsC. Vicente Trujillo V.  
Ing. MsC. Iván Salgado T....

[Redalyc.Actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica de...](#) 0.3%

<https://www.redalyc.org/pdf/856/85617461007.pdf>

GAVIRIA MONTOYA, Carlos; OCHOA OSPINA, Clara; SÁNCHEZ MESA, Nelly; MEDINA CANO, Clara; LOBO ARIAS, Mario; GALEANO GARCÍA, Paula; MOSQUERA MARTÍNEZ, Ana; TAMAYO TENORIO, Angélica; LOPERA PÉREZ, Yasmin; ROJANO, Benjamín

Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas ISSN: 0717-7917

[Determinación de actividad antioxidante de extractos y fracciones de Ch...](#) 0.3%

<https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/591/determinaci%c3%b3n%20de%20actividad%20an...>

Gabriel

DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE HOJAS DE *Diplostegium phyllicoides* (Kunth) Wedd RICARDO BOHORQUEZ FAJARDO UNIVE...



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**

**Carrera de Biotecnología**

**Certificación**

Certifico, que el trabajo de integración curricular: **Determinación del contenido fenólico y capacidad antioxidante, en plantas de arvejas (*Pisum sativum* L.) sanas y afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi** fue realizado por la señorita **Narváez Morocho Janis Anabella**, el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

**Sangolquí, 04 de marzo del 2024**



.....  
**Mihai Raluca Alexandra Ph.D.**

C.C.: 1757487507



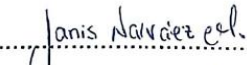
**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**

**Carrera de Biotecnología**

**Responsabilidad de Autoría**

Yo, **Narváz Morocho, Janis Anabella**, con cédula de ciudadanía n°1718400433, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Determinación del contenido fenólico y capacidad antioxidante, en plantas de arvejas (*Pisum sativum* L.) sanas y afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

**Sangolquí, 04 de marzo del 2024**

  
.....  
**Narváz Morocho, Janis Anabella**  
C.C.: 1718400433



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**

**Carrera de Biotecnología**

**Autorización de Publicación**

Yo, **Narváez Morocho Janis Anabella**, con cédula de ciudadanía n° 1718400433, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Determinación del contenido fenólico y capacidad antioxidante, en plantas de arvejas (*Pisum sativum* L.) sanas y afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

**Sangolquí, 04 de marzo del 2024**

**Narváez Morocho, Janis Anabella**

C.C.: 1718400433

## Dedicatoria

A mis padres, Julio César Narváez y Yessenia Morocho, por ser mi apoyo incondicional, que con su amor y comprensión han sabido criar a cuatro grandiosos seres humanos, aguerridos y llenos de buenos valores.

A mis hermanos, Natasha, Stephano y Jahir, por ser mi motivo y mi mayor inspiración a ser mejor persona y científica cada día, por estar para mi y consolarme en los peores momentos.

A mis abuelos, que con su sabiduría me han dado los mejores consejos de vida, y me han impulsado a sacar lo mejor de mí en cada circunstancia de la vida, por inculcarme y recordarme que Dios ha estado en cada instante de mi vida.

A mis tíos, por sacarme muchas sonrisas y por estar allí para escucharme y apoyarme cuando lo he requerido.

A mis tres angelitos conejunos, por llenarme de tanto amor y alegría cada día que permanecieron a mi lado, por ser mis fieles amigas y acompañarme en esas noches de desvelo.

*-Janis Anabella Narváez Morocho-*

## Agradecimientos

A Dios,

por permitirme llegar a este mundo y trazarme grandes metas para mi futuro, porque ha obrado sobre mi familia y mi carrera universitaria grandemente, además, por poner a las personas correctas en el momento adecuado, porque cada tropiezo me ha servido para corregir y ser mejor cada día, por no permitir que su hija se rinda tan fácilmente.

A mis amados padres Julio y Yessenia,

por ser el pilar de esta familia, por estar presente para todos nosotros en los buenos y malos momentos, hoy en día les agradezco la manera en que fui criada porque eso sirvió mucho ya que formaron una mujer de bien, que hace las cosas de la mejor manera, que lucha mucho por lo que desea y que no descansa hasta conseguirlo. De sobremanera agradezco su ardua labor como padres y amigos, porque sin ustedes nada de esto fuera posible, gracias por su apoyo económico y emocional, todos mis logros siempre serán dedicados a ustedes, les debo mi vida y no descansaré hasta compensarles y darles todo lo que se merecen.

A mis queridos hermanos Natasha, Stephano y Jahir,

porque son los seres humanos que más amo en este planeta, por sacarme millones de risas y estar allí para limpiar cada lágrima derramada y hacerme sentir de la mejor manera, se que nos han dicho que debo ser un ejemplo que ustedes puedan seguir, pero cada uno tiene su esencia, sus propios planes a futuro y metas que cumplir, y no deben cambiar eso por nada ni nadie, siempre tendrán mi apoyo, nunca estarán solos, los amo mucho.

A mis abuelitos mami Luli, mami Magola y papi Óscar,

por estar en las buenas y malas, gracias por inculcarme grandes valores desde pequeña, les agradezco cada muestra de amor incondicional que solo los abuelos pueden ofrecer a sus nietos, y también por recalcarme la importancia de poner en manos de Dios cada situación en mi vida, así como mi carrera universitaria y mi próxima vida profesional.

A mis tíos, por cada consejo y por acompañarme en mi vida universitaria.

A mi tía Mayri, por ser un gran apoyo en mi vida, por ser cariñosa y porque se que puedo confiar en ti para lo que sea.

A mi tío Xavi, porque a pesar de la distancia, se ha hecho presente con un mensaje o llamada, por el amor tan grande que nos tienes a tus sobrinas y por querer siempre lo mejor para nosotras.

A mi profesora y tutora de tesis Raluca Mihai, por abrirme las puertas de su laboratorio y confiar en mí, en que podemos sacar adelante cada tema planteado, además, agradezco la paciencia y sabiduría con la que ha sabido llegar a cada uno de nosotros, gracias por su experiencia y por cada saber que impartió, gracias porque me inspira a ser una gran mujer científica y sobrellevar cada adversidad con mi inteligencia.

A mis conejitas, Cloe, Bolita y Ramona, porque a pesar de que hoy en día son mis angelitos, en su paso por la vida, siempre estuvieron llenándome de amor, fueron mis fieles amigas, aquellas que me acompañaron cada vez que me desvelaba haciendo deberes y estuvieron haciendo cualquier travesura. Gracias por cada sonrisa que me sacaron mis pequeñas siempre estarán en mi corazón.

A mis amigos, Marilyn, Luis y Ayrton, por ser mi apoyo desde el día uno de nuestra carrera, gracias porque a pesar de las cuestiones del destino, nuestros corazones no se separaron y nuestra amistad permanece a lo largo de los años. Gracias por demostrarme que la amistad incondicional aún existe.



## Índice de contenidos

Dedicatoria.....	6
Agradecimientos .....	7
Índice de Tablas .....	13
Índice de Figuras .....	15
Índice de abreviaturas.....	17
Resumen .....	18
Abstract.....	19
Capítulo I: Introducción .....	20
Antecedentes .....	20
Justificación e importancia.....	22
Objetivos del proyecto .....	25
Objetivo General.....	25
Objetivos Específicos.....	25
Hipótesis .....	25
Capítulo II: Fundamentación teórica y referencial .....	26
Origen .....	26
Taxonomía.....	26
Descripción Botánica.....	27
Semilla.....	27
Raíz .....	27
Tallo .....	28
Hojas .....	28
Flores.....	28
Condiciones Edafoclimáticas para el cultivo de arveja.....	28
Temperatura.....	28
Suelo .....	29

Humedad y Precipitaciones .....	29
Valor nutricional.....	30
Principales plagas del cultivo de arveja .....	31
Barrenador de la vaina ( <i>Helicoverpa armigera</i> ) .....	32
Mosca del tallo ( <i>Melanagromyza</i> ) .....	33
Pulgones ( <i>Acyrtosiphon pisum</i> ).....	33
Principales enfermedades del cultivo de arveja .....	34
Septoriosis ( <i>Septoria pisi</i> ) .....	34
Complejo <i>Asochyta</i> ( <i>Asochyta pisi</i> , <i>Mycosphaerella pinodes</i> , <i>Asochyta pinodella</i> ).....	34
Antracnosis ( <i>Colletotrichum pisi</i> ).....	35
Cultivo de arveja en Ecuador.....	35
Composición fitoquímica y capacidad antioxidante de la arveja .....	36
Capacidad antioxidante.....	36
Especies reactivas de oxígeno.....	37
Métodos para la determinación del Carácter Antioxidante .....	38
DPPH.....	38
FRAP .....	38
ABTS .....	39
Compuestos fenólicos .....	40
Folin-Ciocalteu.....	41
Volcán Cotopaxi .....	42
Capítulo III: Metodología.....	43
Obtención y manejo del material vegetal .....	43
Extracción de principios activos.....	43
Determinación de actividad antioxidante total (TAC).....	44
Método de Ensayo de Actividad de Eliminación de Radicales DPPH .....	44
Método de Ensayo de Poder Antioxidante Reductor Férrico FRAP .....	44

Método de Ensayo de Actividad de Eliminación de Radicales ABTS.....	45
Determinación de contenido fenólico total (TPC).....	46
Método colorimétrico Folin-Ciocalteu .....	46
Análisis Estadístico.....	46
Factores de estudio .....	46
Unidad experimental .....	47
Tratamientos .....	47
Análisis de varianza.....	47
Supuestos del análisis de varianza.....	48
Normalidad .....	48
Homocedasticidad .....	49
Comparación de medias.....	49
Capítulo IV: Resultados.....	50
Adquisición de las muestras .....	50
Evaluación de la capacidad antioxidante .....	52
Método DPPH .....	56
Método FRAP .....	57
Método ABTS.....	59
Análisis de varianza para capacidad antioxidante .....	61
Método DPPH .....	61
Método FRAP .....	65
Método ABTS.....	69
Evaluación del contenido fitoquímico.....	72
Método Folin-Ciocalteu .....	73
Análisis de varianza para contenido fitoquímico .....	74
Método Folin-Ciocalteu .....	74
Capítulo V: Discusión.....	79

Capítulo VI: Conclusiones .....	83
Capítulo VII: Recomendaciones .....	84
Bibliografía .....	85
Apéndices .....	99

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1</b> <i>Clasificación taxonómica de Pisum sativum L.</i> .....	26
<b>Tabla 2</b> <i>Composición nutricional de la arveja por c/100 g de grano comestible</i> .....	30
<b>Tabla 3</b> <i>Diseño experimental factorial para la evaluación del carácter antioxidante de la arveja (Pisum sativum L.), mediante el ensayo de DPPH.</i> .....	47
<b>Tabla 4</b> <i>Estructura del análisis de varianza (ANOVA) aplicado al diseño factorial 2x2 propuesto para evaluar cada de una de las pruebas empleadas en la medición de la capacidad antioxidante y contenido fenólico.</i> .....	48
<b>Tabla 5</b> <i>Nomenclatura de las muestras analizadas correspondientes a los distintos ejemplares analizados, provenientes de la provincia de Cotopaxi-Ecuador</i> .....	52
<b>Tabla 6</b> <i>Respuestas experimentales para la determinación de Capacidad Antioxidante.</i> .....	53
<b>Tabla 7</b> <i>Respuestas experimentales promedio para la determinación de Capacidad Antioxidante.</i> .....	53
<b>Tabla 8</b> <i>Medias descriptivas de la capacidad antioxidante de los diferentes tipos de muestras evaluadas mediante DDPH.</i> .....	57
<b>Tabla 9</b> <i>Medias descriptivas de la capacidad antioxidante de los diferentes tipos de muestras evaluadas mediante FRAP.</i> .....	58
<b>Tabla 10</b> <i>Medias descriptivas de la capacidad antioxidante de los diferentes tipos de muestras evaluadas mediante ABTS.</i> .....	61
<b>Tabla 11</b> <i>Medias y Error Estándar de las concentraciones obtenidas mediante el ensayo de capacidad antioxidante de DPPH.</i> .....	63
<b>Tabla 12</b> <i>Análisis no paramétrico de a pares de Kruskal-Wallis de acuerdo a las respuestas obtenidas en el ensayo DPPH.</i> .....	65
<b>Tabla 13</b> <i>Medias y Error Estándar de las concentraciones obtenidas mediante el ensayo de capacidad antioxidante de FRAP.</i> .....	67

<b>Tabla 14</b> <i>Análisis no paramétrico de a pares de Kruskal-Wallis de acuerdo a las respuestas obtenidas en el ensayo FRAP.</i> .....	68
<b>Tabla 15</b> <i>Medias y Error Estándar de las concentraciones obtenidas mediante el ensayo de capacidad antioxidante de ABTS.</i> .....	70
<b>Tabla 16</b> <i>Análisis no paramétrico de a pares de Kruskal-Wallis de acuerdo a las respuestas obtenidas en el ensayo ABTS.</i> .....	71
<b>Tabla 17</b> <i>Respuestas experimentales para la determinación de Contenido Fenólico.</i> .....	72
<b>Tabla 18</b> <i>Medias y Error Estándar de las concentraciones obtenidas mediante el ensayo de contenido fenólico Folin-Ciocalteu.</i> .....	76
<b>Tabla 19</b> <i>Análisis no paramétrico de a pares de Kruskal-Wallis de acuerdo a las respuestas obtenidas en el ensayo Folin-Ciocalteu.</i> .....	77

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> <i>Mecanismo de barrido del DPPH por un antioxidante. Tomado de: (Munteanu &amp; Apetrei, 2021)</i> .....	38
<b>Figura 2</b> <i>Estructura química de los complejos que intervienen en la reacción química del ensayo FRAP y cambios de color. Tomado de: (Munteanu &amp; Apetrei, 2021)</i> .....	39
<b>Figura 3</b> <i>Variación de color en el ensayo (a); esquema de la reacción (b). Tomado de: (Munteanu &amp; Apetrei, 2021)</i> .....	40
<b>Figura 4</b> <i>Reacciones entre compuestos fenólicos y derivados en medio alcalino (a); variación de color observada en el ensayo (b). Tomado de: (Munteanu &amp; Apetrei, 2021)</i> .....	41
<b>Figura 5</b> <i>Plantas de arveja (Pisum sativum L.) en terreno de Cotopaxi.</i> .....	50
<b>Figura 6</b> <i>Hojas recolectadas de plantas de arveja (Pisum sativum L.)</i> .....	51
<b>Figura 7</b> <i>Frutos recolectados de plantas de arveja (Pisum sativum L.)</i> .....	51
<b>Figura 8</b> <i>Métodos para la evaluación de la capacidad antioxidante vs Actividad antioxidante de los frutos de arveja (Pisum sativum L.)</i> . .....	54
<b>Figura 9</b> <i>Ausencia/Presencia de ceniza en los frutos de arveja (Pisum sativum L.) vs Actividad antioxidante de los frutos de arveja (Pisum sativum L.)</i> .....	54
<b>Figura 10</b> <i>Métodos para la evaluación de la capacidad antioxidante vs Actividad antioxidante de las hojas de arveja (Pisum sativum L.)</i> .....	55
<b>Figura 11</b> <i>Ausencia/Presencia de ceniza en las hojas de arveja (Pisum sativum L.) vs Actividad antioxidante de los frutos de arveja (Pisum sativum L.)</i> .....	55
<b>Figura 12</b> <i>Tipo de muestra vs Porcentaje de inhibición del radical DPPH, en los frutos y hojas en ausencia y presencia de ceniza, originarias de la provincia de Cotopaxi en Ecuador</i> .....	56
<b>Figura 13</b> <i>Potencial reductor del ión Férrico (<math>Fe^{3+}</math>) en frutos y hojas en ausencia y presencia de ceniza, originarias de la provincia de Cotopaxi en Ecuador</i> .....	59

<b>Figura 14</b> Tipo de muestra vs Porcentaje de inhibición del radical ABTS, en los frutos y hojas en ausencia y presencia de ceniza, originarias de la provincia de Cotopaxi en Ecuador.....	60
<b>Figura 15</b> Prueba gráfica de normalidad (Q-Q plot) para DPPH. ....	62
<b>Figura 16</b> Prueba gráfica de homocedasticidad (diagrama de dispersión) para DPPH.....	63
<b>Figura 17</b> Prueba gráfica de normalidad (Q-Q plot) para FRAP.....	66
<b>Figura 18</b> Prueba gráfica de homocedasticidad (diagrama de dispersión) para FRAP.....	67
<b>Figura 19</b> Prueba gráfica de normalidad (Q-Q plot) para ABTS.....	69
<b>Figura 20</b> Prueba gráfica de homocedasticidad (diagrama de dispersión) para ABTS.....	70
<b>Figura 21</b> Órganos de la planta de arveja ( <i>Pisum sativum</i> L.) vs contenido fenólico promedio, y su interacción en cuanto a la presencia o ausencia de ceniza. ....	73
<b>Figura 22</b> Ausencia/Presencia de ceniza en los dos órganos de las plantas de arveja ( <i>Pisum sativum</i> L.) vs Contenido fenólico promedio.....	73
<b>Figura 23</b> Tipo de muestra vs Concentración de compuestos fenólicos en los frutos y hojas en ausencia y presencia de ceniza, originarias de la provincia de Cotopaxi en Ecuador.....	74
<b>Figura 24</b> Prueba gráfica de normalidad (Q-Q plot) para Folin-Ciocalteu. ....	75
<b>Figura 25</b> Prueba gráfica de homocedasticidad (diagrama de dispersión) para Folin-Ciocalteu. ....	76



## Índice de abreviaturas

**ROS:** especies reactivas de oxígeno

**L:** litros

**mL:** mililitros

**g:** gramos

**mg:** miligramos

**DPPH:** radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

**ABTS:** catión radical 2,2'-azino-bis-ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico

**FRAP:** poder antioxidante reductor férrico

**TPC:** Contenido de fenoles totales

**GAE:** equivalentes de ácido gálico

**QE:** equivalentes de quercetina

**TRX:** trolox

**Fw:** fresh weight - peso fresco (muestra fresca)

**Dw:** dry weight – peso seco (muestra seca)

## Resumen

La arveja (*Pisum sativum* L.) es un cultivo destacado en Ecuador, especialmente en provincias como Bolívar, Cotopaxi y Pichincha, con aproximadamente 22 mil hectáreas cultivadas a altitudes de 2400 a 3200 msnm, este cultivo es rico en nutrientes esenciales y sus compuestos fenólicos como la quercetina y resveratrol, proporcionan beneficios antioxidantes y fortalecen el sistema inmune, previniendo enfermedades degenerativas y envejecimiento prematuro. Por lo que es de importancia el estudio de este tipo de plantas y sus componentes. El presente proyecto tiene como objetivo la evaluación de la capacidad antioxidante mediante los métodos DPPH, FRAP y ABTS, además del contenido total de fenoles (TPC) por medio del ensayo Folin-Ciocalteu de los frutos y hojas de plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) sanas y afectadas por la ceniza del volcán Cotopaxi en Ecuador. Los resultados obtenidos mostraron que tanto los frutos como las hojas que han estado expuestas a la ceniza, presentan mayor capacidad antioxidante en cada una de los ensayos realizados, de esta manera mediante el ensayo DPPH se obtuvieron valores de 16,98 y 70,39  $\mu\text{mol Trolox/g fw}$ , para el ensayo FRAP: 4,87 y 31,67  $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g fw}$  y en el ensayo ABTS: 7,10 y 31,24  $\mu\text{mol Trolox/g fw}$ . Además, en la evaluación de compuestos fenólicos totales se demostró el mismo patrón que en el ensayo anterior, es decir, los frutos y hojas en presencia de ceniza sintetizan mayor cantidad de fenoles, arrojando resultados de 1,53 mg GAE/g dw y 4,48 mg GAE/g dw, respectivamente. Finalmente, se confirmó que hay una relación positiva entre el contenido de compuestos fitoquímicos y capacidad antioxidante, ya que, a medida que la concentración de metabolitos secundarios aumenta, se incrementa la capacidad de inhibir especies reactivas de oxígeno.

*Palabras clave:* *Pisum sativum* L., actividad antioxidante, contenido fenólico, ceniza, órganos.

### Abstract

The pea (*Pisum sativum* L.) is a prominent crop in Ecuador, especially in provinces like Bolivar, Cotopaxi, and Pichincha, with approximately 22 thousand hectares cultivated at altitudes ranging from 2400 to 3200 meters above sea level. Rich in essential nutrients, its phenolic compounds such as quercetin and resveratrol provide antioxidant benefits, strengthening the immune system and preventing degenerative diseases and premature aging. Hence, studying these plants and their components is crucial. This project aims to evaluate antioxidant capacity using DPPH, FRAP, and ABTS methods, along with total phenolic content (TPC) through the Folin-Ciocalteu assay in the fruits and leaves of healthy and ash-affected pea plants (*Pisum sativum* L.) from the Cotopaxi volcano in Ecuador. Results showed that both ash-exposed fruits and leaves exhibited higher antioxidant capacity in each test. In the DPPH assay, values were 16,98 and 70,39  $\mu\text{mol Trolox/g fw}$ ; for the FRAP assay: 4,87 and 31,67  $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g fw}$ ; and in the ABTS assay: 7,10 and 31,24  $\mu\text{mol Trolox/g fw}$ . Furthermore, the assessment of total phenolic compounds demonstrated the same pattern as in the previous assay, with ash-exposed fruits and leaves synthesizing higher amounts of phenols, yielding results of 1,53 mg GAE/g dw and 4,48 mg GAE/g dw, respectively. Finally, it was confirmed that there is a positive correlation between the content of phytochemical compounds and antioxidant capacity, indicating that as the concentration of secondary metabolites increases, the ability to inhibit reactive oxygen species also increases.

*Keywords:* *Pisum sativum* L., antioxidant activity, phenolic content, ash, organs.

## Capítulo I: Introducción

### Antecedentes

La arveja (*Pisum sativum* L.) comúnmente llamada guisante verde, guisante seco o guisante de campo se reconoce como un cultivo significativo de leguminosas, que proporciona buena fuente de proteínas, vitaminas, minerales y compuestos bioactivos, contribuyendo así a la salud humana. Por esta razón, se cultiva extensamente en la mayor parte de países del mundo, considerando como parte esencial en la dieta (Han et al., 2023).

De esta manera, Canadá se ha posicionado como el mayor productor de guisantes del mundo, seguido de China, Rusia e India (Wu et al., 2023). Aunque es importante destacar que Ecuador no forma parte de los países con una producción destacada de este tipo de alimentos, la arveja aquí es considerada como el cultivo más importante luego del cultivo de fréjol, dentro del grupo de leguminosas de grano comestibles que se hallan en el país, en este contexto, se cosechan alrededor de 11600 ha de grano seco y 10435 ha en vaina verde como grano tierno (Peralta I. et al., 1997).

Dada la variedad de propiedades beneficiosas, la arveja ha sido objeto de numerosos estudios a lo largo de los años. Se ha observado que esta leguminosa posee un potencial antioxidante gracias a los fenoles presentes en su composición, lo que puede contribuir a la reducción de la incidencia de enfermedades degenerativas. Sin embargo, las leguminosas procesadas no poseen un carácter antioxidante alto y tampoco niveles elevados de contenido de fenoles, tal es el caso que algunos extractos de diferentes ejemplares de arveja tanto fresca como procesada, fueron realizados con metanol al 80% y acetona al 70% por separado y fueron analizados por medio de los ensayos FRAP, ABTS, DPPH para carácter antioxidante y Folin-Ciocalteu para determinar el contenido fenólico total. La información recopilada proporcionó detalles sobre las muestras de arveja fresca con valores más altos en comparación

con las muestras procesadas. Concluyendo que este tipo de alimentos siendo procesados pierde las propiedades antioxidantes (Nithiyantham et al., 2012).

Además, en el estudio llevado a cabo por Nemanja et al. (2015), señalan que la extracción de principios activos de diferentes muestras de arveja se realizó con una mezcla de metanol/agua/ácido acético en una relación 80:19:1, y a partir de ello se determinó el contenido fenólico total y capacidad antioxidante, por diferentes métodos. Obteniendo que las variedades de colores en los guisantes resulta ser una interferencia en cuanto al contenido de antioxidantes, así, los colores más oscuros mostraron mayor actividad antioxidante frente a los colores claros en las semillas. En contraste, el contenido fenólico total, confirmando que las semillas con cubiertas oscuras poseen valores mayores de TPC.

Según la investigación realizada por Nweze et al. (2018), se evidencia que el extracto metanólico de guisante verde (*Pisum sativum* L.) contiene terpenoides, resinas, glucósidos, esteroides, saponinas, fenoles y flavonoides. En cuanto a las actividades de radicales libres evaluadas mediante el ensayo DPPH, los resultados fueron expresados como el porcentaje de inhibición en el extracto metanólico, revelando una relación proporcional a la concentración del mismo. Por lo que, a 5 mg/ml (57,1%), 2 mg/ml (41,7%), 1 mg/ml (31%), 0,5 mg/ml (26,4%), 0,1 mg/ml (21,3%) y 0,05 mg/ml (16,9%). Finalmente, se ratifica que esta planta posee algunos metabolitos secundarios con propiedades nutricionales y farmacológicas, demostrando efectos antioxidantes, anticancerígenos, antiinflamatorios y antilipidémicos significativos.

Existen diversos factores a los que se exponen las plantas por el hecho de coexistir con diversos seres bióticos y componentes abióticos, tal es el caso de los volcanes y como pueden llegar a afectar a la vida vegetal, por la emisión de su ceniza. Es así que en su investigación sobre la evaluación del impacto de la ceniza volcánica emitida por el volcán Tungurahua sobre los suelos destinados a la explotación agrícola, Jacome Mogro (2011) descubrió que la arveja fue uno de los cultivos afectados. Este hallazgo se basó en la evidencia de daño foliar en cada

planta analizada como muestra. Aún cuando el porcentaje de afectación no fue elevado (0,66%), las consecuencias son severas para la agricultura y por ende para el consumo humano, teniendo como consecuencia que, la población optó por no sembrar *Pisum sativum* L. luego del evento volcánico. Además, todo esto se ve reflejado en la reducción de la seguridad alimentaria en un 85,71% debido a la pérdida de cultivos diversos en la localidad.

Finalmente, en un estudio reciente, se evalúa la problemática relacionada con la composición mineral de la ceniza volcánica sobre los cultivos. Se señala la presencia de una potencial toxicidad que afecta la salud humana, al tiempo que ejerce un impacto adverso en el desarrollo de las plantas, especialmente durante la fase de germinación de las semillas, no obstante, esta influencia puede manifestarse en cualquier etapa de desarrollo, también da lugar a una baja polinización de los cultivos, daños en los frutos y reducción de la respiración foliar dependiendo del cultivo. Cabe destacar que todos estos efectos están vinculados al tiempo de exposición a la ceniza (Mihai, Espinoza Caiza, et al., 2023).

### **Justificación e importancia**

El cultivo y la producción de arveja (*Pisum sativum* L.) en Ecuador se ven favorecidos por las condiciones geográficas y climáticas del país. La actividad agrícola de este cultivo en específico se destaca principalmente en las provincias de Bolívar, Cotopaxi, Azuay, Chimborazo, Cañar, Carchi, Imbabura, Loja, Pichincha y Tungurahua, en donde, la fase más productiva comprende los meses de marzo a junio. De forma general, se cultivan aproximadamente 22 mil hectáreas de tierras, situadas a altitudes que oscilan entre los 2400 y 3200 metros sobre el nivel del mar (Toro Zurita, 2022).

La arveja (*Pisum sativum* L.) es considerada como el cultivo más importante luego del cultivo de fréjol, dentro del grupo de leguminosas de grano comestibles que se hallan en el país, en este contexto, se cosechan alrededor de 11600 ha de grano seco y 10435 ha en vaina verde como grano tierno (Peralta I. et al., 1997).

En la actualidad, este cultivo experimenta una elevada valoración y demanda en el mercado, tanto a nivel nacional como internacional, considerando más a las provincias del altiplano ecuatoriano, resultando vital para numerosas familias que dependen de sus rendimientos. Además, desempeña un papel fundamental en la seguridad alimentaria de la comunidad al aportar nutrientes esenciales a la dieta diaria, como proteínas, fibra, carbohidratos, vitaminas y minerales, es baja en grasa y buena fuente de fibra, por lo que, favorece la digestión, evita el estreñimiento y controla los niveles de azúcar y colesterol (Minchala G. & Guamán I., 2004). Es importante destacar que, la arveja se caracteriza por su bajo contenido en sodio, ausencia de colesterol y carencia de gluten (Leica Córdova, 2023).

Posee compuestos fenólicos como la quercetina, el ácido protocatecúico y resveratrol (Dueñas et al., 2004), que son las sustancias bioactivas antioxidantes más importantes en los cultivos de este tipo de leguminosas, asimismo, tiene poder antioxidante, por lo que es útil en la protección de la retina y previene enfermedades de la vista como las cataratas (Amarowicz & Shahidi, 2017). Aporta gran cantidad de polifenoles tales como alcaloides, saponinas, flavonoides, taninos y triterpenos, los cuales son capaces de fortalecer el sistema inmune, conserva el organismo de los radicales libres (causantes de destruir las células), evitando las enfermedades degenerativas y el envejecimiento prematuro, así como la inflamación (Shahrajabian et al., 2021; Thi et al., 2021).

A pesar de su capacidad de adaptabilidad a diversos sistemas agrícolas y prosperar en condiciones de lluvia o riego limitado, el cultivo de arveja puede verse afectado por eventos naturales, como erupciones volcánicas y la emisión de ceniza. En este sentido, la presencia de este último puede conllevar efectos positivos y negativos para la agricultura, dependiendo de la cantidad de ceniza y duración de exposición a la misma. Es así que, a corto plazo, la ceniza puede causar daños en el suelo y en la vegetación, mientras que, a largo plazo puede contribuir a la fertilidad del suelo debido al contenido de nutrientes esenciales para las plantas

pudiendo neutralizar la acidez del suelo y mejorar el pH, favoreciendo un crecimiento óptimo. No obstante, cuando los niveles de ceniza son grandes se puede producir un aumento del pH del suelo a niveles tóxicos, resultando en daños a las raíces y hojas de las plantas. Estos impactos están influidos por la época del año, la cual afecta la actividad metabólica de las plantas y su respuesta ante la interacción con la ceniza volcánica (Arequipa Giler, 2018; Mihai, Melo Heras, et al., 2023).

Las zonas ecuatorianas más impactadas por la actividad volcánica comprenden Pichincha, Cotopaxi, Napo, Tungurahua, Chimborazo y Cañar. La ceniza emitida por el volcán Cotopaxi exhibe elevadas concentraciones de aluminio, azufre, hierro, calcio, magnesio y titanio, así como un significativo contenido de feldespatos en su composición mineralógica. El aluminio en altas concentraciones resulta ser un agente tóxico afectando la división celular y crecimiento de las raíces (Mihai, Espinoza Caiza, et al., 2023). Paralelamente, la acumulación de ceniza en las hojas obstaculiza el proceso de fotosíntesis y altera la dinámica de fijación de carbono, generando una pérdida continua de energía y desequilibrio en la fisiología de la planta, provocando disminuciones considerables en las cosechas y defoliación de los cultivos (Coto Cedeño, 2019).

Por tanto, el propósito de la actual investigación es establecer un referente en la evaluación de la capacidad antioxidante y del contenido fitoquímico de las plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) cultivadas en áreas cercanas al volcán Cotopaxi, ubicado en la provincia de Cotopaxi, Ecuador. Este análisis se llevará a cabo mediante la aplicación de la metodología del ensayo de Folin-Ciocalteu y la evaluación de la actividad antioxidante con las técnicas de captura de los radicales libres, tales como DPPH, ABTS y FRAP.



## **Objetivos del proyecto**

### ***Objetivo General***

Determinar el contenido fenólico y capacidad antioxidante, en plantas de arvejas (*Pisum sativum* L.) sanas y afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi.

### ***Objetivos Específicos***

- Recolectar muestras de plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) sanas y afectadas por la ceniza volcánica proveniente del volcán Cotopaxi de Ecuador.
- Examinar la concentración de compuestos fenólicos implicados en la defensa de las plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) tanto sanas como afectadas por la ceniza volcánica, cultivadas en la provincia de Cotopaxi en Ecuador.
- Determinar el carácter antioxidante a través de los métodos DPPH, FRAP y ABTS de plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) sanas y afectadas por la ceniza del volcán Cotopaxi en Ecuador.

## **Hipótesis**

Los cultivos de *Pisum sativum* L. adyacentes al volcán Cotopaxi son perjudicados debido a la presencia de la ceniza, resultando en una alteración en la producción de contenido fenólico y su capacidad biológica.

## Capítulo II: Fundamentación teórica y referencial

### Origen

El guisante o arveja es un cultivo que fue domesticado hace bastantes años, incluso anterior a los cereales, siendo el Mediterráneo específicamente en Oriente Medio el centro de domesticación inicial, además, formaban parte de la dieta diaria de los cazadores-recolectores al final de la última Edad del Hielo (Oriente Medio y Europa) (Smýkal et al., 2012).

Es de carácter desconocido tanto su centro de origen como el progenitor silvestre, sin embargo, según últimas investigaciones, se revela que el centro de origen del cultivo de arveja comprende zonas que van desde la región Mediterránea hasta el sur oeste de Asia, abarcando también el Medio Oriente, y luego se expandió a regiones con climas templados y zonas altas de los trópicos (Suasnabar Astete et al., 2021).

### Taxonomía

#### Tabla 1

*Clasificación taxonómica de Pisum sativum L.*

<b>Categoría</b>	<b>Taxón</b>
<b>Reino</b>	<i>Plantae</i>
<b>División</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Clase</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Orden</b>	<i>Fabales</i>
<b>Familia</b>	<i>Fabaceae</i>
<b>Subfamilia</b>	<i>Faboideae</i>

<b>Categoría</b>	<b>Taxón</b>
<b>Género</b>	<i>Pisum</i>
<b>Especie</b>	<i>Pisum sativum</i>

*Nota.* Adaptado de *Origin and variation of polymeric gynoecia in Fabaceae: evidence from floral mutants of pea (Pisum sativum L.)* por Sinjushin, 2014.

### **Descripción Botánica**

La arveja (*Pisum sativum* L.) posee un número cromosómico de  $2n = 14$  y abarca diversidad de variedades y sistemas de cultivo que se distribuyen globalmente en entornos que van desde subtropicales hasta zonas templadas y elevadas (R. J. Singh & Jauhar, 2005).

#### **Semilla**

La semilla de la arveja tiene una forma globulosa angular con un diámetro aproximado de 5 mm y un peso medio de 0,20 g por unidad. Es dicotiledónea, por lo que respalda el crecimiento inicial del embrión, acompañado de una raíz primordial o radícula, tejido de tallo y plúmula. Poseen una germinación epigea y está cubierta por un tejido esclerenquimático (Sopla Cotrina, 2023).

La semilla se adhiere al tejido de la vaina materna durante su desarrollo, mediante un hilio y cerca a este se halla un micropilo, por donde emerge la radícula durante la germinación (Yavuz, 2019).

#### **Raíz**

La raíz principal de la arveja se extiende hasta una profundidad de 50 cm, presentando una estructura pivotante, e incluye raíces secundarias y terciarias, estas últimas, forman

nódulos debido a la asociación simbiótica con las bacterias del género *Rhizobium*, este proceso ocurre de manera natural cuando se siembre la leguminosa en el campo (Gregory, 1988).

### **Tallo**

Las plantas de arveja exhiben tallos de crecimiento erecto, con 12 a 16 nódulos aproximadamente, la longitud oscila entre 0.5 y 0.75 cm en cultivos precoces, 0.8 y 1.2 cm en cultivos semitardíos, y más de 1.5 cm en cultivos tardíos. Son tallos trepadores y angulosos (Sopla Cotrina, 2023).

### **Hojas**

Poseen dos estípulas que encierran la base del tallo en la parte basal, además, tienen pares de folíolos opuestos o alternos, mientras que, en la parte terminal se evidencian de 3 a 5 zarcillos, mismos que cumplen la función de trepar y brindar apoyo a la planta. Cabe recalcar que, las estípulas suelen ser de mayor tamaño que los folíolos (Galindo & Clavijo, 2007).

### **Flores**

Se presenta en forma de racimo con brácteas foliáceas, insertadas a través de un largo pedúnculo en la axila de las hojas, donde cada racimo lleva de 1 a 2 flores, pero también se han registrado casos en donde se hallan de 4 y 5 flores. Las flores poseen una morfología característica papilionácea con simetría zigomorfa, compuestas por 5 sépalos (Weller et al., 1997).

## **Condiciones Edafoclimáticas para el cultivo de arveja**

### **Temperatura**

Este tipo de cultivos se desarrollan idealmente en zonas que tienen cierta transición del clima frío al cálido, para la germinación requiere una temperatura que oscila entre los 18 a 22°C, sin embargo, puede germinar incluso a 4-5°C pudiendo tolerar heladas que sean leves en los primeros estadios de la planta. Cuando se tienen temperaturas mayores a 25°C la

probabilidad de germinación de las semillas va disminuyendo. Existe marchitez y formación de la mosca del tallo cuando las temperaturas altas prevalecen en el momento de la siembra, provocando pérdidas en el cultivo y rendimiento del mismo (Dhall, 2017).

Por lo general, aquellas variedades que poseen un grano liso son más resistentes al frío que las de grano rugoso, así como, aquellos cultivos que tienen hojas verdes oscuras a diferencia de las de hojas claras (Maxted & Ambrose, 2001).

### ***Suelo***

La arveja se desarrolla perfectamente en suelos franco limosos a franco arcillosos, además, debe poseer una profundidad considerable, bien drenados, ricos en humus y con un pH que puede variar entre 5.5 a 6.5 (Sarmiento Moreno & Zárate Galindo, 2019). De esta manera Tulbek et al. (2017) menciona que, la salinidad del suelo y acidez extrema puede perjudicar la producción de arveja.

También se debe tomar en cuenta que, los guisantes prefieren desarrollarse en suelos de textura ligera o media, donde el contenido de caliza no se encuentre en exceso (Vigliola, 2003).

### ***Humedad y Precipitaciones***

El rango deseable de precipitaciones está entre 14 y 40 pulgadas, mientras que en la etapa de germinación requiere más humedad que cualquier otro cultivo de cereal (Tulbek et al., 2017) o requiere de 250 a 380 mm distribuidos durante todo el ciclo del cultivo (Sarmiento Moreno & Zárate Galindo, 2019).

Por otro lado Condori Cueva (2006) indica que, la arveja requiere mantener un nivel de humedad que fluctúe entre el 50% y 60%, siendo el rango óptimo para el buen desarrollo de la planta. Los rendimientos más elevados se logran cuando el suelo mantiene un alto grado de humedad durante el periodo que comprende desde la floración hasta la formación de vainas.

## Valor nutricional

Las semillas de arveja contienen niveles elevados de proteínas, carbohidratos, fibra dietética, vitaminas y minerales, y pueden transformarse en ingredientes triturados como proteínas, almidones, harinas y fibras. Los componentes derivados de los guisantes ofrecen atributos distintivos, llegando incluso a funcionar como sustituto de pastas, pasteles, galletas, entre otros. De esta manera, la ingesta de este tipo de legumbres, ha demostrado la reducción de niveles de glucosa en sangre, el fomento de la salud gastrointestinal y el aumento de la sensación de saciedad (Dahl et al., 2012).

**Tabla 2**

*Composición nutricional de la arveja por c/100 g de grano comestible.*

<b>Tipo</b>	<b>Componentes</b>	<b>Cantidad</b>
	Agua (%)	78
	Grasas (g)	0.4
Otros	Hidratos de carbono (mg)	14.4
	Fibra (mg)	2.0
	Vitamina A (U.I.)	640
	Albúmina (%)	15 – 25
Proteínas (%)	Globulina (%)	49 – 70
14 - 31	Glutelina (%)	11
	Prolamina (%)	5
	Calcio (mg)	26.0
Minerales (mg)	Hierro (mg)	1.9 – 8.0
	Magnesio (mg)	130.0 – 172.0
	Fósforo (mg)	219.0 – 291.0

<b>Tipo</b>	<b>Componentes</b>	<b>Cantidad</b>
	Zinc (mg)	3.0 – 3.4
	Sodio (mg)	2.0
	Potasio (mg)	316.0
Aceites totales (%)	Palmítico (%)	13
	Estearico (%)	3
	Oleico (%)	25
	Linoleico (%)	48
Ácidos Fenólicos (mg)	Cafeico (mg)	0.2 – 0.3
	Clorogénico (mg)	8.3 – 16.1
	Cumárico (mg)	3.8 – 4.2
	Gálico (mg)	8.1 – 9.1
	Hidrogenbenzoico (mg)	0.3 – 5.0
	Ácido Protocatéquico (mg)	0.2 – 22.1
	Aldehído Rotocatéquico (mg)	0.3
	Sinápico (mg)	0 – 0.3
	Vainilla (mg)	0.2 – 0.3

*Nota.* Adaptado de *Composition, Nutritional Value and Health Benefits of Pulses*, por Hall et al., 2017.

### **Principales plagas del cultivo de arveja**

De acuerdo a Hill (1997), la plaga causa daño a los humanos, su ganado, sus cultivos y posesiones, siendo medidos de forma cuantitativa que se equiparan en pérdidas económicas.

Desde que inició la agricultura, hace aproximadamente 10.000 años, los agricultores se han visto en la necesidad de enfrentar a aquellos organismos perjudiciales para los cultivos, los

cuales incluyen plagas de animales (insectos, ácaros, nemátodos, roedores, babosas, caracoles y pájaros), patógenos de plantas (virus, bacterias, hongos, cromistas), así como las plantas competitivas (Oerke, 2006).

Las plagas de los guisantes incluyen: el barrenador de la vaina (*Helicoverpa armigera*), la mosca del tallo (*Melanagromyza*), los pulgones (*Acyrtosiphon pisum*) (Yadav et al., 2020).

### ***Barrenador de la vaina (Helicoverpa armigera)***

Es un gusano cogollero que deposita sus huevos en la planta durante la fase de plántula, aunque su comportamiento puede ser afectado por condiciones climáticas y geográficas adversas. En el período entre octubre a abril la hembra deposita los huevos (740 huevos en 5 días) de forma individual en las partes tiernas de la planta; posteriormente, estos eclosionan en 6 días. Las larvas aparecen en las hojas jóvenes principalmente, pero en el caso de infestación intensa, los brotes jóvenes también son atacados, lo cual debilita a la planta. Asimismo, las larvas jóvenes se alimentan de las hojas por un tiempo y luego perforan las vainas y consumen los granos en desarrollo; se desplazan de vaina en vaina, completando su alimentación en un lapso de 13 a 19 días (G. Singh et al., 2020).

Con relación al manejo integrado de este tipo de plagas, el control químico es el más usado, usando insecticidas sintéticos como Indoxacabo, Metoxifenoazida, Benzoato de Emamectina, Novalurón, entre otros. Aunque se han reportado casos de resistencia a insecticidas en muchos países, para evitar la selección de poblaciones resistentes, se ha optado por rotar insecticidas de grupos químicos y modos de acción diferentes (Laurentis, 2017).

Pero, no existe un mejor tratamiento que el control biológico, usando parasitoides que pertenecen principalmente a las familias *Braconidae*, *Ichneumonidae*, *Platygastridae*, *Tachinidae*, *Eulophidae* y *Trichogrammatidae* (Pereira et al., 2019).



### ***Mosca del tallo (Melanagromyza)***

Son moscas pequeñas negras que poseen un característico brillo, el ciclo de plaga inicia cuando las hembras ovipositan en las lenticelas de la planta, dando origen a las larvas de color blanco que se sitúan en los tallos y ramas. Estas últimas se alimentan de la médula, xilema y floema y cuando están a punto de pupar, forman un orificio en la pared del tallo, dejando únicamente la epidermis para facilitar la salida del adulto. Este tipo de plagas provoca el amarillamiento de las hojas y posterior marchitez (Camargo Benavides, 2019).

En cuanto al control químico de la plaga, debe realizarse de manera oportuna, previo a la penetración de las larvas al tallo, y los productos usados con Triametoxan, Benforacarb, Thiodicarb, Profenofos y Lufenorum (Jaramillo Chafuel, 2021).

Sin embargo, también se puede realizar un control biológico, que es mucho más económico y sin generación de riesgos, valiéndose de enemigos naturales, parásitos como *Trichogramma pretiosum*, *Paratheresia claripalpis*, depredadores y agentes causales de enfermedades (Camargo Benavides, 2019).

### ***Pulgones (Acyrtosiphon pisum)***

Los pulgones tienen la capacidad de destruir hasta el 100% de los cultivos en desarrollo, en el caso en que no se los controle. El mecanismo de acción de estos insectos es por medio de la succión de la savia de hojas, tallos, flores y vainas, resultando en el debilitamiento de la planta asimismo afecta la producción debido a la disminución del tamaño y número de vainas y semillas (Mitidieri & Francescangeli, 2013).

Si bien el control biológico incluyendo depredadores y parasitoides atacan a estos organismos, por lo general su presencia no es representativa si se compara con las poblaciones de pulgones existentes en la planta, debido a su rápida reproducción. En muchos

casos, los pulgones producen individuos alados que migran de una especie a otra en el caso de las leguminosas, permaneciendo activos durante el invierno (Gemmeda & Ayalew, 2016).

### **Principales enfermedades del cultivo de arveja**

Las patologías vegetales se manifiestan como respuesta de las células y tejidos de las plantas frente a la exposición a microorganismos patogénicos o condiciones ambientales desfavorables (Koutouleas et al., 2023).

Guerrero C. (1989), señala que las enfermedades que afectan los cultivos de guisantes son originadas por hongos, virus y bacterias, presentando una jerarquía en términos de importancia. Además, depende de las condiciones climáticas y predisposición genética, la incidencia de éstas. De esta manera, las afecciones más frecuentes son la septoriosis, complejo *Ascochyta* y antracnosis, sin embargo, la arveja también se ve afectada por enfermedades fungosas como muldiú (*Peronospora pisi*), oidio (*Erysiphe polygoni*), botritis (*Botrytis cinerea*) y roya (*Uromyces pisi*).

#### ***Septoriosis (Septoria pisi)***

Se desarrolla como manchas foliares, afectando inicialmente la parte inferior y avanzando de manera progresiva hacia la parte superior de la planta. La propagación se lleva a cabo mediante los conidios que se dispersan por la lluvia o el agua de riego, sin embargo, la presencia de una alta humedad favorece el desarrollo de infecciones severas (Condori Cueva, 2006).

#### ***Complejo Ascochyta (Ascochyta pisi, Mycosphaerella pinodes, Ascochyta pinodella)***

Es una enfermedad donde los agentes causales son *Ascochyta pisi*, *Mycosphaerella pinodes* y *Ascochyta pinodella*, los cuales pueden actuar simultáneamente, o en ocasiones, de manera independiente, aunque los síntomas son similares en los casos. Por lo general, la

temperatura óptima para el desarrollo de esta enfermedad es 20 °C, sin embargo, la etapa de infección se puede dar entre los 5 y 30 °C. La sintomatología abarca lesiones en las partes aéreas, lesiones circulares de color castaño claro y alargadas con un centro gris en los nudos (Grünwald et al., 2004; Tiaiba et al., 2018).

### ***Antracnosis (Colletotrichum pisi)***

Es un hongo que causa lesiones necróticas de tonalidad rojiza en hojas, tallos y especialmente vainas, las plantas son propensas a que la enfermedad se desarrolle más cuando hay una alta humedad relativa, lluvias, rocíos frecuentes y temperaturas altas. Además, se denotan grandes manchas de color amarillo pálido sin bordes definidos en las hojas inferiores y tallos, las cuales posteriormente son recubiertas por unos corpúsculos pequeños negros, o bien, se manifiestan como manchas necróticas de forma redonda de tonalidad marrón. Conlleva también a la defoliación y necrosis de hojas (Aguilar et al., 2021; Mitidieri & Francescangeli, 2013).

Para el manejo y prevención de esta enfermedad, se aconseja el empleo de semillas sanas, procedentes de zonas relativamente secas o en siembras realizadas durante la primavera. Del mismo modo, se debe eliminar los residuos de arveja luego de la cosecha y recurrir al uso de fungicidas como benomilo, carbendazima, clorotalonilo, mancozeb (Guerrero C., 1989).

### **Cultivo de arveja en Ecuador**

La arveja o guisante constituye uno de los productos básicos en la dieta de diversos grupos sociales en Latinoamérica. En el contexto específico de Ecuador, es la leguminosa más consumida luego del fréjol. La arveja presenta un considerable potencial de mercado, especialmente cuando se halla en estado de grano tierno, siendo un producto de consumo masivo en Ecuador, así, el 96% de su consumo proviene de las familias de la Sierra, seguido por el Oriente con un 94% y, por último, la Costa con 82% (Molina et al., 2020).

En cuanto a la producción a nivel nacional, las provincias que cultivan arveja incluyen Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar, Chimborazo, Azuay y Loja. La provincia del Carchi lidera en términos de producción, alcanzando alrededor de 9462 hectáreas por año, con un rendimiento promedio de 8 toneladas por hectárea, representando el 47,46% de la producción total del país (Angulo Pérez, 2019).

### **Composición fitoquímica y capacidad antioxidante de la arveja**

La capacidad antioxidante de *Pisum sativum* L. demuestra un significativo potencial en la eliminación de radicales libres, debido a su alto contenido de fenoles, el cual puede verse influenciado por la variedad que sea evaluada. La presencia de compuestos fenólicos y actividad antioxidante es de carácter importante para todos los alimentos, especialmente aquellos vegetales verdes, debido a que tienden a deteriorarse. Debido a esto, la presencia de estos compuestos puede ser beneficiosa para preservar los metabolitos primarios de las semillas de guisantes (Devi et al., 2019).

La actividad antioxidante de esta planta viene dado por algunos compuestos como los flavonoides (catequina, kaempferol y quercetina) (Fahim et al., 2019), carotenoides (luteína hallada en las vainas y zeaxantina) (Marles et al., 2013), compuestos fenólicos (ácido hidroxibenzoico, floroglucinol, ácido cafeico, ácido clorogénico y ácido ferúlico) (Stanisavljević et al., 2016).

#### ***Capacidad antioxidante***

La capacidad antioxidante se define como la habilidad de una sustancia o compuesto para inhibir o retardar la oxidación de un sustrato en cantidades mínimas, < 1%, generalmente en un rango de 1 – 1000 mg/L, tomando en cuenta que esta capacidad se relaciona directamente con la capacidad de una molécula para evitar la oxidación biológica (Benítez-Estrada et al., 2020).

De tal manera, la oxidación da lugar a la formación de radicales libres, (característica propia de la estructura electrónica del oxígeno que puede reducirse y formar los radicales), que son moléculas que tienen un electrón desapareado, que al interactuar con las membranas celulares pueden desencadenar degeneración, envejecimiento y diversas enfermedades (Chaki et al., 2020).

### ***Especies reactivas de oxígeno***

Las especies reactivas de oxígeno comprenden una serie de moléculas que son altamente reactivas y que se derivan del oxígeno, abarcando tanto radicales libres como no radicales (Averill Bates, 2024).

Así, los radicales libres se caracterizan por tener un electrón desapareado en su orbital externo, razón por la que son altamente reactivos e indiscriminados en sus reacciones; entre los radicales libres derivados del oxígeno se hallan el anión superóxido ( $O_2^{\cdot -}$ ), radical perhidroxilo ( $HO_2^{\cdot}$ ), radical hidroxilo ( $HO^{\cdot}$ ), radical peroxilo ( $ROO^{\cdot}$ ) y el radical alcoxilo ( $RO^{\cdot}$ ), siendo R un lípido o proteína. Mientras que, los no radicales incluyen el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), oxígeno molecular singlete ( $O_2$ ), ácido hipocloroso (HOCl) e hidroperóxidos orgánicos (ROOH) (Halliwell, 2011).

Las ROS se generan de manera normal durante el crecimiento, no obstante, el estrés abiótico extremo, induce la sobreproducción de estas especies, alterando los componentes celulares y moleculares, tal como la oxidación del ADN, proteínas, carbohidratos, lípidos y enzimas, provocando la muerte celular programada (Kesawat et al., 2023).

Con la finalidad de evitar lesiones, las plantas regulan de manera precisa la producción de ROS usando diversos antioxidantes enzimáticos (peroxidasa: POD, superóxido dismutasa: SOD, glutatión reductasa: GR, catalasa: CAT, dehidroascorbato reductasa: DHAR, ascorbato

peroxidasa: APX y monodehidroascorbato reductasa: MDHAR) y no enzimáticos (ascorbato: AsA, flavonoides, carotenoides, estilbenos, tocoferoles y otras vitaminas) (Kaur et al., 2019).

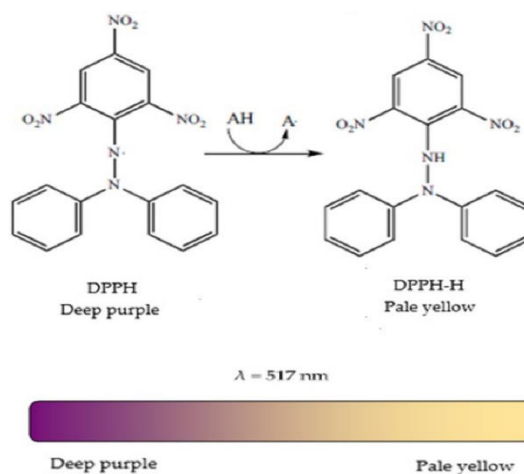
## Métodos para la determinación del Carácter Antioxidante

### DPPH

El ensayo utiliza el radical libre estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) que tiene la capacidad de aceptar un electrón o hidrógeno donado por el agente antioxidante para así reducirse a 2,2-difenil-1-picril-hidracina. La metodología de neutralización DPPH se fundamenta en la transferencia de electrones por parte de los antioxidantes con el propósito de contrarrestar el radical DPPH, lo que conlleva un cambio de coloración del DPPH medido a 517 nm, siendo la pérdida de color, un indicador de la actividad antioxidante (Figura 1) (Olszowy & Dawidowicz, 2018).

### Figura 1

*Mecanismo de barrido del DPPH por un antioxidante. Tomado de: (Munteanu & Apetrei, 2021)*



### FRAP

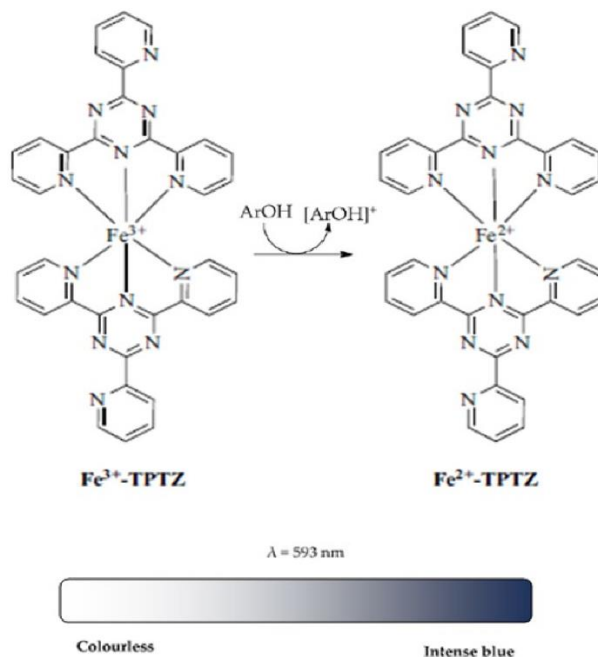
Este método es sencillo y rápido, sin embargo, no puede detectar antioxidantes que actúan mediante la extinción de los radicales. Es un ensayo colorimétrico que se basa en la capacidad de los antioxidantes para reducir el complejo férrico tripiridil triazina ( $\text{Fe}^{3+}$  - TPTZ)

que presenta un color amarillento, a la forma ferrosa a un pH bajo, siendo el producto final ( $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ) que tiene un color azul intenso (Figura 2), y se puede monitorear con un espectrofotómetro a una absorción de 593 nm (Silvestrini et al., 2023).

El reactivo se prepara con una solución de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  20 mM, solución de TPTZ 10 mM en tampón acetato 40 mM y 300 mM en una proporción 1:1:10, v/v/v, y tiene algunas limitaciones debido a su modo de preparación y no es estable durante un largo período de tiempo (Fejér et al., 2021).

## Figura 2

*Estructura química de los complejos que intervienen en la reacción química del ensayo FRAP y cambios de color. Tomado de: (Munteanu & Apetrei, 2021)*



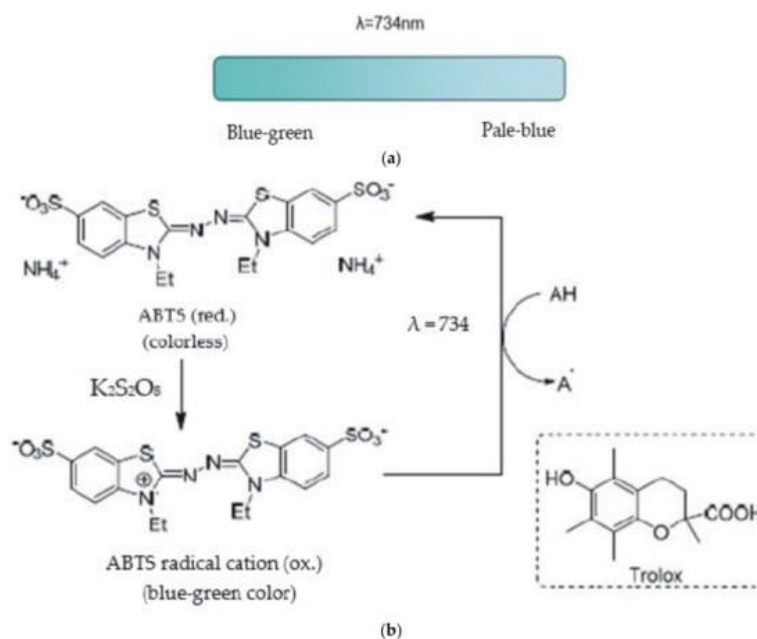
## ABTS

Con frecuencia se usa el radical ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) para evaluar la actividad antioxidante de los alimentos (Zhen et al., 2016). Consiste en la conversión de ABTS (incolore) a  $\text{ABTS}^+$  (azul), mediante la adición de  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ . En

presencia de compuestos antioxidantes, tales como compuestos fenólicos, tioles y vitaminas C y E, el catión vuelve a convertirse en ABTS neutro. La evaluación de la actividad antioxidante se realiza midiendo la disminución de la coloración azul de la solución, siendo esta medida mediante espectrofotometría a 734 nm (Figura 3). Por lo que, cuanto mayor sea la reducción de la intensidad del color azul, mayor será la actividad antioxidante (Diniz do Nascimento et al., 2020).

### Figura 3

Variación de color en el ensayo (a); esquema de la reacción (b). Tomado de: (Munteanu & Apetrei, 2021)



### Compuestos fenólicos

Se sintetizan en las plantas como respuesta a las presiones ecológicas y fisiológicas, ataque de patógenos e insectos, radiación ultravioleta y heridas. Este tipo de compuestos posee un anillo aromático que lleva uno o más grupos hidroxilo y se pueden clasificar como fenoles simples o polifenoles dependiendo de las unidades de fenol que se hallen en la molécula (Khoddami et al., 2013).



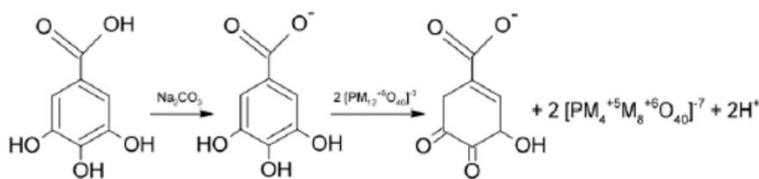
### **Folin-Ciocalteu**

Se usa para cuantificar el contenido fenólico total de varios productos naturales, los valores de contenido fenólico total (TPC) se expresan como equivalentes de ácido gálico u otro compuesto fenólico, como ácido cafeico, catequina, ácido ferrúlico, etc. El reactivo de Folin-Ciocalteu posee complejos de ácido fosfomolibdico/fosfotúngstico, con adiciones de sulfato de litio y bromo, en un medio fuerte (5-10% de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  acuoso a un pH de 10-12) para generar el anión fenolato. Este ensayo se basa en la medición del cromóforo de color azul a una longitud de onda de 765 nm (Figura 4). El sitio de reducción se considera el centro de molibdeno en el complejo, donde el ion  $\text{Mo}^{6+}$  se reduce a  $\text{Mo}^{5+}$  mediante los fenoles (Danet, 2021).

Algunos compuestos no fenólicos como el ácido ascórbico, aminas aromáticas, dióxido de azufre, algunos iones metálicos ( $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ) pueden interferir al reducir el reactivo de Folin-Ciocalteu (Sánchez-Rangel et al., 2013).

### **Figura 4**

*Reacciones entre compuestos fenólicos y derivados en medio alcalino (a); variación de color observada en el ensayo (b). Tomado de: (Munteanu & Apetrei, 2021)*



M = Mo or W

(a)

$\lambda = 765 \text{ nm}$



(b)

## **Volcán Cotopaxi**

El volcán Cotopaxi es un estratovolcán activo ubicado en la Cordillera Real de los Andes ecuatorianos, a 35 km al noreste de Latacunga y 45 km al sureste de Quito, a 5897 msnm, está cubierto por una decadente capa glacial y es considerado uno de los volcanes más peligrosos del mundo, teniendo un intervalo de recurrencia promedio para erupciones entre 117 y 147 años (Gomez-Zapata et al., 2021; Pistolesi et al., 2021).

La ceniza volcánica se forma como resultado de una erupción que se genera cuando los gases dentro de la cámara de magma de un volcán se expanden con violencia, impulsando el magma hacia arriba y fuera del volcán. Esta ceniza cubre gran área y afecta tanto a la población como a sus actividades, la misma está compuesta por pequeños fragmentos de roca, minerales y vidrio volcánico (óxido de silicio amorfo). Además, contiene una variedad de elementos altamente tóxicos, entre los que se incluye el azufre, aluminio y, en ocasiones, elementos radiactivos (Sánchez et al., 2018).

### **Capítulo III: Metodología**

#### **Obtención y manejo del material vegetal**

Se recolectaron alrededor de 150 g de frutos frescos de arveja, así como 50 g de hojas de aquellas plantas que estuvieron expuestas a la ceniza del volcán Cotopaxi y otras que se mantuvieron alejadas del sector afectado por la ceniza.

Esta recolección fue realizada de forma completamente al azar, en Mulaló siendo una parroquia rural del cantón Latacunga Provincia de Cotopaxi, específicamente en los barrios de Chinchil de Robayos, Macaló Grande y Macaló Chico.

Cada ejemplar fue almacenado en fundas ziploc, cada una con su etiqueta, se resguardó manteniendo la cadena fría y fueron transportadas hasta los laboratorios del CICTE, ubicado en la Universidad de las Fuerzas Armadas- ESPE en Sangolquí, para su análisis.

#### **Extracción de principios activos**

Los extractos se prepararon utilizando como base la metodología descrita por Lima et al. (2021) con modificaciones.

Para la preparación del extracto etanólico, el método empleado fue la maceración, donde el material vegetal (1,0 g de fruto o de hoja) fue macerado usando un mortero y añadiendo 5 mL de etanol absoluto (96%), seguidamente se transfirió a tubos Falcon de 15 mL y se procedió a colocar 5 mL adicionales del solvente. Finalmente, se dejó reposar por 72 horas a una temperatura de 5°C.

En el caso de las muestras de hojas, previo a la realización de los análisis respectivos, se realizaron diluciones con relación 1:2 usando el mismo solvente, debido que los extractos obtenidos fueron concentrados.

## Determinación de actividad antioxidante total (TAC)

### ***Método de Ensayo de Actividad de Eliminación de Radicales DPPH***

Para la realización de este ensayo se adaptó el protocolo de Gulcin & Alwasel (2023) con ligeras modificaciones. En un principio se preparó la solución stock de DPPH con una concentración de 0,15 mM, usando etanol al 96% como solvente. La mencionada solución fue diluida con el mismo solvente hasta alcanzar una absorbancia de  $0,7 \pm 0,05$ , medida a una longitud de onda de 517 nm con ayuda de un espectrofotómetro.

A continuación, se llevó a cabo el ensayo, se adicionaron 0,1 mL de muestra, seguido se incorporaron 2,9 mL de la solución reactante a cada tubo Falcon, realizando tres repeticiones. Los tubos fueron incubados en la oscuridad durante 30 minutos y la absorbancia se registró a 517 nm, además, se prepararon dos blancos de referencia, utilizando etanol en lugar de la muestra, sirviendo como referencia en el análisis antioxidante. Es relevante señalar que se realizaron tres lecturas por cada tubo con el propósito de asegurar la precisión de los resultados.

La evaluación de la capacidad antioxidante se llevó a cabo mediante el cálculo del porcentaje de inhibición del radical DPPH usando la ecuación 1. Mientras que, para cuantificar los resultados, se generó una curva de calibración utilizando Trolox como estándar, y los resultados fueron expresados en unidades de  $\mu\text{mol Trolox/g fw}$  (peso fresco).

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(A_{\text{blanco}} - A_{\text{muestra}})}{A_{\text{blanco}}} * 100 \quad (1)$$

### ***Método de Ensayo de Poder Antioxidante Reductor Férrico FRAP***

Se utilizó la metodología propuesta por Shah & Modi (2015), aplicando pequeñas alteraciones. La solución de trabajo FRAP fue preparada mediante la combinación de 100 mL de buffer acetato (300mM) a pH de 3,6, 10 mL de TPTZ (10 mM), 10 mL de  $\text{FeCl}_3$  en agua (20 mM) y 12 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada, obteniendo así una solución homogeneizada en una proporción

1:10:1:1,2, misma que se dejó reposar a temperatura ambiente con precaución de no ser expuesta a la luz.

La ejecución de la reacción se llevó a cabo en tubos Falcon, a los que se les agregó 0,1 mL de muestra, seguido de 0,3 mL de H<sub>2</sub>O destilada y 3 mL de solución de trabajo FRAP. Se prepararon tres réplicas y se llevó a incubación en oscuridad durante 4 minutos, para luego medir la absorbancia a una longitud de onda de 593 nm. Al igual que en la prueba anterior, se prepararon dos blancos, usando etanol en lugar de la muestra; y se registraron tres lecturas por cada tubo (blancos y muestras).

Para el análisis de los resultados, se elaboró una curva de calibración utilizando una solución acuosa de sulfato ferroso como patrón. La capacidad reductora de las muestras se expresó en  $\mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{g fw}$  (peso fresco).

#### ***Método de Ensayo de Actividad de Eliminación de Radicales ABTS***

Se siguió el procedimiento desarrollado por Xiao et al. (2020). con ligeros cambios. La solución madre de radicales catiónicos ABTS<sup>•+</sup> se generó mediante la combinación de persulfato de potasio (2,45 mM) en agua con una solución de ABTS (7 mM) en agua, mediante una proporción 1:1, se dejó reposar por un período de 12 a 48 horas, para posteriormente ser diluido con etanol absoluto hasta obtener una absorbancia de  $0,7 \pm 0,05$ , la cual fue medida con un espectrofotómetro a una longitud de onda correspondiente a 734 nm.

En relación a la determinación de la capacidad antioxidante, se dispusieron 20  $\mu\text{L}$  de cada muestra en los tubos Falcon de 15 mL, los cuales reaccionaron con 2 mL de la solución ABTS obtenida, es relevante señalar que, siguiendo la metodología mencionada anteriormente, se llevaron a cabo réplicas y se incluyeron blancos. Posteriormente, se llevó a oscuridad para dejar actuar por 7 minutos y transcurrido ese tiempo se midieron las absorbancias a una longitud de onda de 734 nm.

La cuantificación de los resultados se realizó mediante la elaboración de una curva de calibración utilizando Trolox como estándar, y los resultados fueron expresados en unidades de  $\mu\text{mol Trolox/g fw}$  (peso fresco).

### **Determinación de contenido fenólico total (TPC)**

#### ***Método colorimétrico Folin-Ciocalteu***

Se aplicó la metodología según la descripción de Chaves et al. (2020). En los tubos Falcon se añadieron 0,4 mL de muestra, 0,4 mL del reactivo Folin-Ciocalteu (1N) y 2 mL de agua destilada, se dejaron reposar en oscuridad por 5 minutos. Luego, se agregaron 0,4 mL de carbonato de sodio al 20% y 0,8 mL de agua destilada. Posteriormente, los tubos se incubaron en oscuridad durante 1 hora a temperatura ambiente.

Las absorbancias se registraron en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 765 nm, obteniendo tres lecturas por cada tubo con el fin de minimizar posibles variaciones y errores en los resultados. De manera consistente con el resto de la metodología aplicada en este estudio, se realizaron réplicas y blancos, estos últimos usados como puntos de comparación para cada lectura.

El ácido gálico fue usado como estándar en la generación de la curva de calibración, por lo que los resultados se expresaron en términos de mg GAE/g fw (peso fresco).

### **Análisis Estadístico**

#### ***Factores de estudio***

Los factores de estudio en la evaluación de la composición fitoquímica fueron los dos distintos órganos vegetales (muestras): hoja y fruto. Además, las dos condiciones en las que se encontraron las muestras: sin ceniza y con ceniza.

### **Unidad experimental**

La unidad experimental en este estudio fueron las hojas y frutos frescos, de las dos condiciones de arveja (*Pisum sativum* L.) a las que han sido expuestas (presencia y ausencia de ceniza).

### **Tratamientos**

Tanto para la evaluación del carácter antioxidante como para la cuantificación del contenido de fenoles totales, se realizó un diseño factorial 2x2 debido a los órganos utilizados, siendo hoja y fruto (a=2) y el estado de exposición de las plantas, presencia y ausencia de ceniza (b=2), cada uno con tres réplicas (n=3) como se indica en la tabla, teniendo un total de 12 respuestas experimentales para cada una de las variables dependientes, es decir, cada ensayo realizado: DPPH, FRAP, ABTS, Folin-Ciocalteu.

**Tabla 3**

*Diseño experimental factorial para la evaluación del carácter antioxidante de la arveja (*Pisum sativum* L.), mediante el ensayo de DPPH.*

Ceniza	Órgano de arveja ( <i>Pisum sativum</i> L.)	
	Hoja	Fruto
Presencia	3	3
Ausencia	3	3

*Nota.* Este diseño factorial se utilizó para cada ensayo, ya sea para la determinación de carácter antioxidante o de contenido fenólico.

### **Análisis de varianza**

En la Tabla 4, se evidencia el esquema usado en el análisis de varianza del diseño factorial del presente estudio, en cuanto a la determinación del carácter antioxidante.

**Tabla 4**

*Estructura del análisis de varianza (ANOVA) aplicado al diseño factorial 2x2 propuesto para evaluar cada de una de las pruebas empleadas en la medición de la capacidad antioxidante y contenido fenólico.*

<b>Fuente de variabilidad</b>	<b>Grados de libertad</b>
Factor a	$(a - 1)$
Factor b	$(b - 1)$
Efecto ab	$(a - 1) * (b - 1)$
Error (e)	$a * b * (n - 1)$
Total	$a * b * n - 1$

Los ensayos experimentales se llevaron a cabo usando un diseño completamente al azar con arreglo factorial. Para verificar los supuestos de normalidad y homocedasticidad que debe cumplir un diseño experimental, se realizó el Test de Shapiro Wilk y Test de Levene respectivamente.

### **Supuestos del análisis de varianza**

La verificación de estos supuestos sirve para realizar el análisis de comparación de medias paramétricas, en el caso de aceptar las hipótesis nulas de cada supuesto. Caso contrario, se realiza una comparación de medias no paramétricas, transformando los datos requeridos.

#### ***Normalidad***

El supuesto de normalidad implica que las distribuciones de las poblaciones asociadas a cada grupo son aproximadamente normales, es decir que, la variable dependiente sigue una distribución normal en todas las poblaciones muestreada. Se establecen dos hipótesis:



$$H_0: \mu_A = \mu_B = \mu_C = \mu_D$$

$$H_1: \mu_A \neq \mu_B \neq \mu_C \neq \mu_D$$

La aceptación o rechazo de las hipótesis va a depender del  $p_{\text{value}}$  obtenido en la prueba de Shapiro Wilks mediante el software InfoStat. Por lo que, si  $p_{\text{value}} \geq \alpha$ , se acepta la hipótesis nula  $H_0$ .

### ***Homocedasticidad***

El supuesto de homocedasticidad establece que las varianzas de las poblaciones asociadas a cada grupo son aproximadamente iguales, es decir que, la dispersión de los datos es constante en todos los niveles de la variable independiente. Se establecen dos hipótesis:

$$H_0: \sigma_A^2 = \sigma_B^2 = \sigma_C^2 = \sigma_D^2$$

$$H_1: \sigma_i^2 \neq \sigma_j^2$$

La aceptación o rechazo de las hipótesis va a depender del  $p_{\text{value}}$  obtenido en la prueba de Levene mediante el software InfoStat. Por lo que, si  $p_{\text{value}} \geq \alpha$ , acepto la hipótesis nula  $H_0$ .

### **Comparación de medias**

Debido que el presente estudio fue realizado en laboratorio, la comparación de medias se efectuó mediante la prueba de Duncan considerando un nivel de confianza del 95%, por lo que  $\alpha = 0,05$ . Todos los resultados obtenidos en estas pruebas se obtuvieron mediante el software InfoStat.

## Capítulo IV: Resultados

### Adquisición de las muestras

Las muestras de fruto y hoja fueron recolectadas en la provincia de Cotopaxi, de manera aleatoria en algunos sectores de Mulaló, los ejemplares tuvieron ciertas características específicas, en cuanto a la condición de la planta de arveja (*Pisum sativum* L.) y el color de los frutos, como se puede evidenciar en las Figuras 5, 6 y 7.

Las plantas de arveja que no estuvieron expuestas a la ceniza presentaron un tono verde amarillento y una notable abundancia foliar. Mientras que, aquellas plantas que estuvieron expuestas a la ceniza presentaron un vigoroso color verde intenso y se observó una presencia sustancial de yemas laterales, hojas jóvenes y florescencia.

### Figura 5

*Plantas de arveja (Pisum sativum L.) en terreno de Cotopaxi.*



*Nota.* a) Plantas de arveja sin presencia de ceniza. b) Plantas de arveja afectadas por la ceniza.

**Figura 6**

*Hojas recolectadas de plantas de arveja (Pisum sativum L.).*



*Nota.* a) Hojas de plantas de arveja sin presencia de ceniza. b) Hojas de plantas de arveja afectadas por la ceniza.

En cuanto a los frutos de las plantas de arveja sin exposición a la ceniza, tuvieron colores variados entre verde oscuro y claro, en contraste, los frutos de las plantas de arveja expuestas a la ceniza, presentaron colores verde y crema, y una consistencia bastante hidratada.

**Figura 7**

*Frutos recolectados de plantas de arveja (Pisum sativum L.).*



*Nota.* a) Frutos de plantas de arveja sin presencia de ceniza. b) Frutos de plantas de arveja afectadas por la ceniza.

Para un mejor manejo de los datos se procede a manejar una nomenclatura específica para cada ejemplar analizado, lo cual se puede visualizar en la Tabla 5.

**Tabla 5**

*Nomenclatura de las muestras analizadas correspondientes a los distintos ejemplares analizados, provenientes de la provincia de Cotopaxi-Ecuador.*

<b>Órgano</b>	<b>Condición</b>	<b>Nomenclatura</b>
Fruto Fresco	Ausencia ceniza	FAC
Fruto Fresco	Presencia ceniza	FPC
Hoja Fresca	Ausencia ceniza	HAC
Hoja Fresca	Presencia ceniza	HPC

### **Evaluación de la capacidad antioxidante**

Se emplearon tres métodos de evaluación de capacidad antioxidante: DPPH, FRAP y ABTS. En la Tabla 6 se presentan los resultados obtenidos, con tres repeticiones para cada método, mientras que, en la Tabla 7 se exhibe el promedio conseguido al relacionar cada tipo de órgano (hojas/fruto) en su condición (presencia/ausencia de ceniza) con el respectivo método de determinación.

Tabla 6

*Respuestas experimentales para la determinación de Capacidad Antioxidante.*

Órgano	Ausencia / Presencia ceniza	Métodos para la determinación de Capacidad Antioxidante								
		DPPH			FRAP			ABTS		
		(μmol TRX/g Fw)			(μmol Fe <sup>2+</sup> /g Fw)			(μmol TRX/g Fw)		
Fruto	Ausencia ceniza	0,61	0,29	0,70	0,69	0,74	0,77	0,65	0,73	1,10
	Presencia ceniza	16,93	17,01	16,98	4,93	4,78	4,90	6,85	7,20	7,24
Hoja	Ausencia ceniza	43,95	54,29	56,27	20,71	23,35	23,64	25,84	25,37	24,87
	Presencia ceniza	67,77	76,35	67,06	30,25	32,13	32,63	29,70	33,83	30,20

Tabla 7

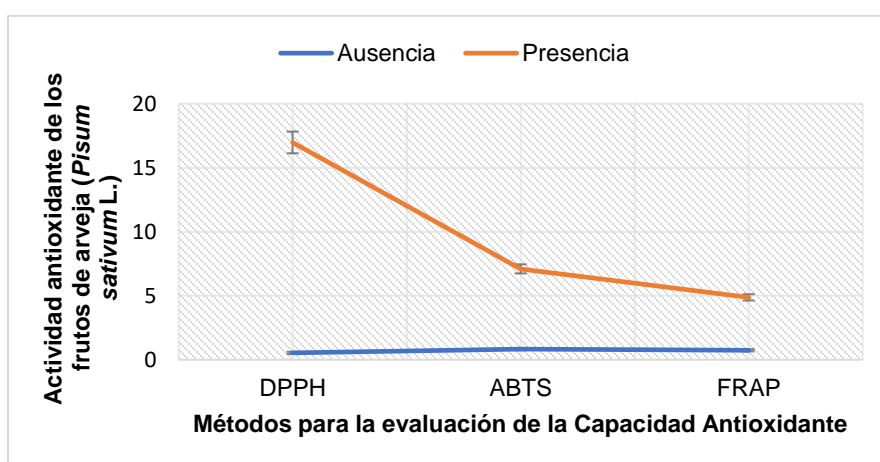
*Respuestas experimentales promedio para la determinación de Capacidad Antioxidante.*

Órgano	Ausencia / Presencia ceniza	Métodos para la determinación de Capacidad Antioxidante								
		DPPH			FRAP			ABTS		
		(μmol TRX/g Fw)			(μmol Fe <sup>2+</sup> /g Fw)			(μmol TRX/g Fw)		
Fruto	Ausencia ceniza	0,53			0,73			0,83		
	Presencia ceniza	16,98			4,87			7,10		
Hoja	Ausencia ceniza	51,50			22,57			25,36		
	Presencia ceniza	70,39			31,67			31,24		

Las Figuras 8 y 9 muestran que los frutos provenientes de las plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) expuestas a la ceniza volcánica presentan valores más elevados con relación a los frutos sin ceniza, en cada uno de los métodos de determinación de actividad antioxidante, destacándose el método DPPH con un valor de 16,98  $\mu\text{mol TRX/g Fw}$ .

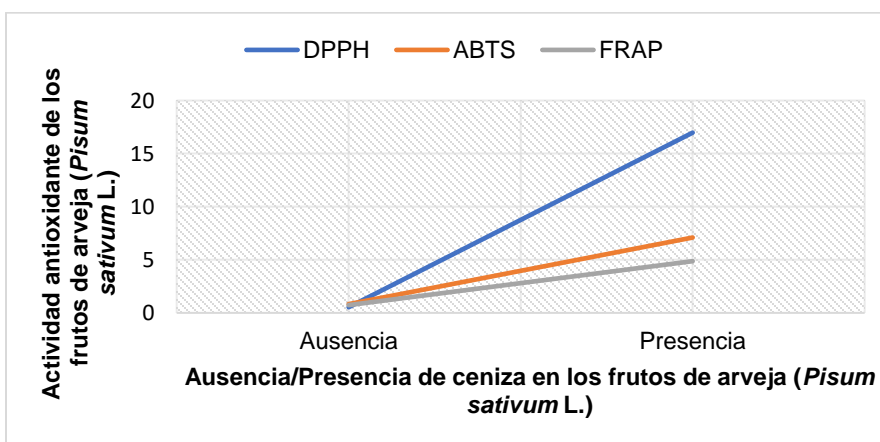
### Figura 8

*Métodos para la evaluación de la capacidad antioxidante vs Actividad antioxidante de los frutos de arveja (Pisum sativum L.).*



### Figura 9

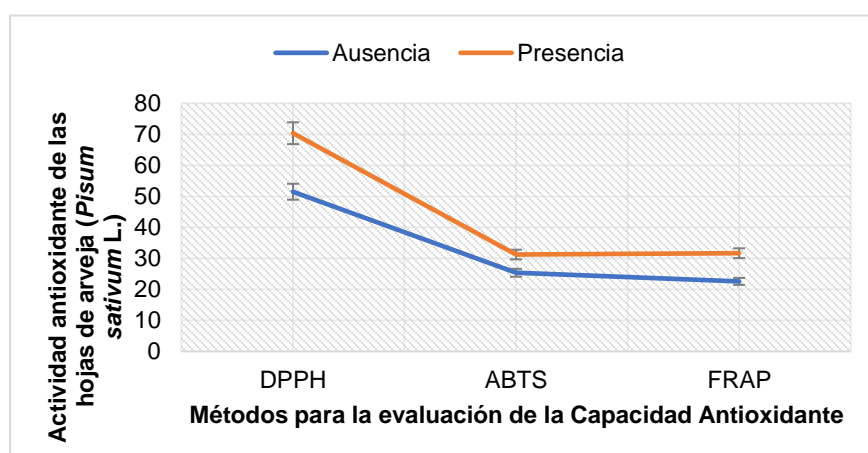
*Ausencia/Presencia de ceniza en los frutos de arveja (Pisum sativum L.) vs Actividad antioxidante de los frutos de arveja (Pisum sativum L.).*



Las Figuras 10 y 11 indican que las hojas provenientes de las plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) expuestas a la ceniza volcánica exhiben valores superiores en comparación con las hojas no expuestas a la ceniza, en todos los métodos de evaluación de actividad antioxidante, destacándose el método DPPH con un valor de 70,39  $\mu\text{mol TRX/g Fw}$ .

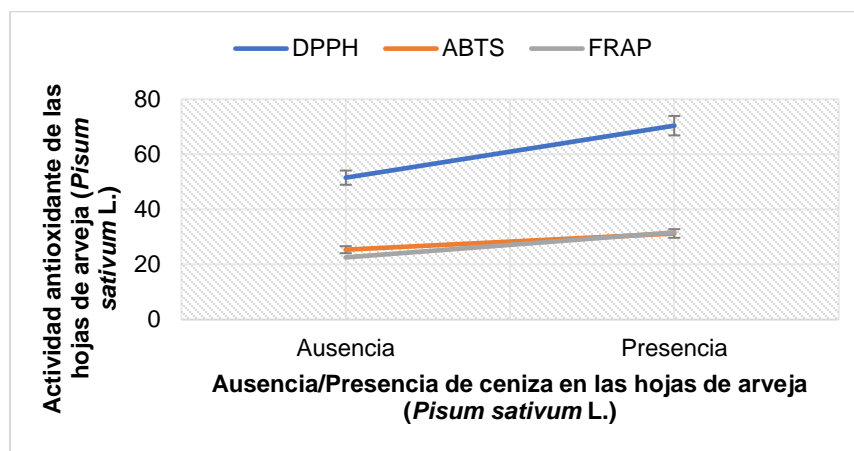
### Figura 10

*Métodos para la evaluación de la capacidad antioxidante vs Actividad antioxidante de las hojas de arveja (Pisum sativum L.).*



### Figura 11

*Ausencia/Presencia de ceniza en las hojas de arveja (Pisum sativum L.) vs Actividad antioxidante de los frutos de arveja (Pisum sativum L.).*



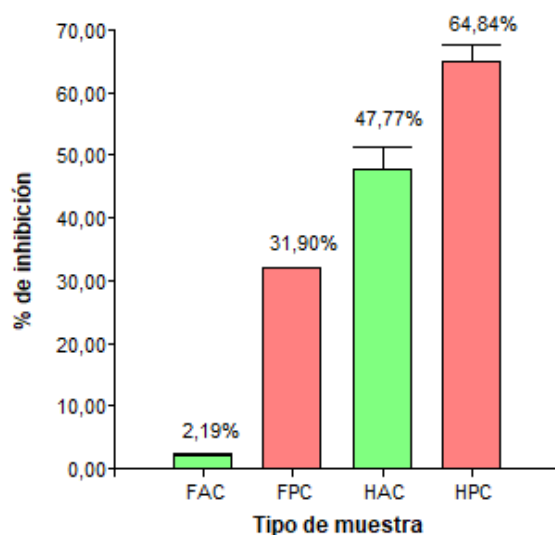
### **Método DPPH**

La curva de calibración se diseñó utilizando Trolox como solución estándar en un rango de concentración de 0 a 2,5 mM. La relación lineal de los datos se determinó mediante la ecuación de la recta:  $y = 18,073x + 1,2252$  con un coeficiente de determinación  $R^2 = 0,9868$ . Las lecturas obtenidas se convirtieron en porcentajes de inhibición, aplicando la ecuación 1.

La Figura 12 ilustra que tanto los frutos como las hojas de plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) expuestas a la ceniza volcánica del Cotopaxi exhibieron porcentajes más altos de inhibición de los radicales DPPH, con valores promedio de 31,90% y 64,84%, respectivamente. En contraste, los frutos y hojas de las plantas no expuestas a la ceniza mostraron una menor capacidad para capturar los radicales DPPH, con valores de 2,19% y 47,77%, respectivamente.

### **Figura 12**

*Tipo de muestra vs Porcentaje de inhibición del radical DPPH, en los frutos y hojas en ausencia y presencia de ceniza, originarias de la provincia de Cotopaxi en Ecuador.*



Los porcentajes de inhibición del radical DPPH se calcularon utilizando la curva de calibración y se expresaron en unidades de  $\mu\text{mol TRX/g Fw}$ . Los resultados se presentan en la Tabla 8, indicando tanto los frutos como las hojas de las plantas de arveja expuestas a la



ceniza volcánica presentan una notable capacidad antioxidante, con valores de 16,9760  $\mu\text{mol TRX/g Fw}$  y 70,3927  $\mu\text{mol TRX/g Fw}$ , respectivamente.

**Tabla 8**

*Medias descriptivas de la capacidad antioxidante de los diferentes tipos de muestras evaluadas mediante DPPH.*

Tipo de muestra	DPPH ( $\mu\text{mol TRX/g Fw}$ )				
	R1	R2	R3	Media	Desviación estándar
<b>FAC</b>	0,6145	0,2914	0,6953	0,5337	0,2137
<b>FPC</b>	16,9311	17,0119	16,9850	16,9760	0,0411
<b>HAC</b>	43,9489	54,2917	56,2722	51,5042	6,6177
<b>HPC</b>	67,7703	76,3526	67,0551	70,3927	5,1738

*Nota.* Los valores expuestos se hallan en términos de concentración  $\mu\text{mol TRX/g Fw}$ .

#### **Método FRAP**

Se elaboró la curva de calibración empleando Sulfato Ferroso en  $\text{H}_2\text{O}$  como solución estándar, abarcando un intervalo de concentración de 0 a 2,5 mM. La relación lineal de los datos se estableció mediante la ecuación de la recta:  $y = 0,5981x - 0,0082$  con un coeficiente de determinación  $R^2 = 0,9868$ .

En la Tabla 9 se muestra que tanto los frutos como las hojas de plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) expuestas a la ceniza volcánica del Cotopaxi exhibieron mayor potencial reductor del ion férrico, con valores promedio de 4,87 y 31,67  $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g Fw}$  respectivamente. En contraste, los frutos y hojas de las plantas no expuestas a la ceniza mostraron una menor

capacidad reductora, con valores de 0,73 y 22,57  $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g Fw}$ , respectivamente. Este resultado también se puede corroborar en la Figura 13.

**Tabla 9**

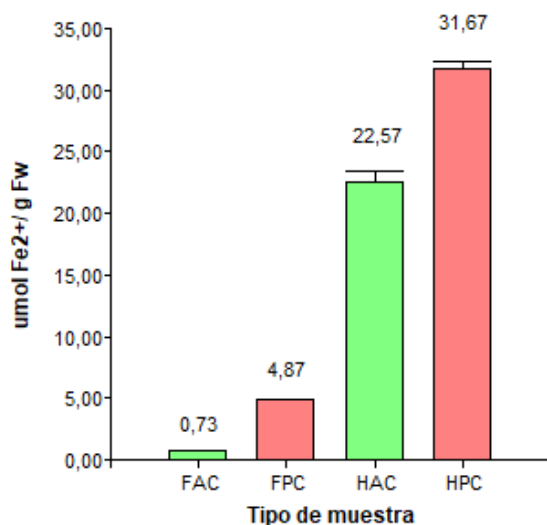
*Medias descriptivas de la capacidad antioxidante de los diferentes tipos de muestras evaluadas mediante FRAP.*

Tipo de muestra	FRAP ( $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g Fw}$ )				
	R1	R2	R3	Media	Desviación estándar
<b>FAC</b>	0,6860	0,7418	0,7697	0,7325	0,0426
<b>FPC</b>	4,9328	4,7768	4,8994	4,8696	0,0821
<b>HAC</b>	20,7111	23,3528	23,6426	22,5689	1,6154
<b>HPC</b>	30,2525	32,1250	32,6267	31,6681	1,2513

*Nota.* Los valores expuestos se hallan en términos de concentración  $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g Fw}$ .

### Figura 13

Potencial reductor del ión Férrico ( $Fe^{3+}$ ) en frutos y hojas en ausencia y presencia de ceniza, originarias de la provincia de Cotopaxi en Ecuador.



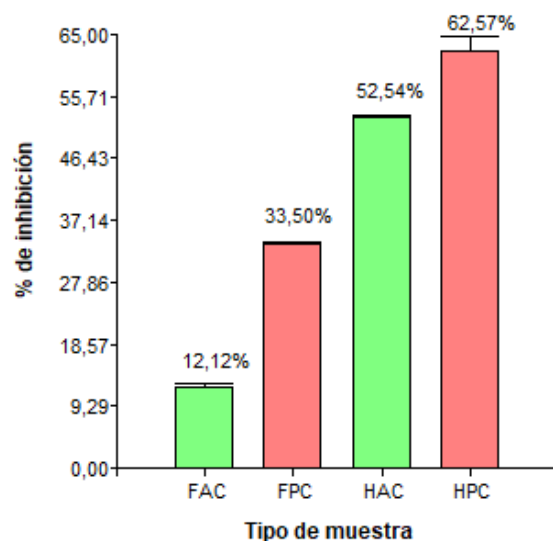
### Método ABTS

La curva de calibración se creó utilizando Trolox como solución estándar en un intervalo de concentración de 0 a 2,5 mM. La relación lineal de los datos se estableció mediante la ecuación de la recta:  $y = 34,102x + 9,2946$  con un coeficiente de determinación  $R^2 = 0,9612$ . Las lecturas obtenidas se transformaron en porcentajes de inhibición mediante la aplicación de la ecuación 1.

La Figura 14 ilustra que tanto los frutos como las hojas de plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) expuestas a la ceniza del volcán Cotopaxi presentaron porcentajes más elevados de inhibición de los radicales ABTS, con valores promedio de 33,50% y 62,57%, respectivamente. Por el contrario, los frutos y hojas de las plantas no expuestas a la ceniza exhibieron una menor capacidad para capturar los radicales ABTS, con valores de 12,12% y 52,54%, respectivamente.

**Figura 14**

*Tipo de muestra vs Porcentaje de inhibición del radical ABTS, en los frutos y hojas en ausencia y presencia de ceniza, originarias de la provincia de Cotopaxi en Ecuador.*



Se determinaron los porcentajes de inhibición del radical ABTS mediante la utilización de la curva de calibración y se expresaron en unidades de  $\mu\text{mol TRX/g Fw}$ . Los resultados se detallan en la Tabla 10, señalando que tanto los frutos como las hojas de las plantas de arveja expuestas a la ceniza volcánica presentan una notable capacidad antioxidante, con valores de  $7,0978 \mu\text{mol TRX/g Fw}$  y  $31,2433 \mu\text{mol TRX/g Fw}$ , respectivamente.

**Tabla 10**

*Medias descriptivas de la capacidad antioxidante de los diferentes tipos de muestras evaluadas mediante ABTS.*

Tipo de muestra	ABTS ( $\mu\text{mol TRX/g Fw}$ )				
	R1	R2	R3	Media	Desviación estándar
<b>FAC</b>	0,6465	0,7342	1,0999	0,8269	0,2405
<b>FPC</b>	6,8491	7,2002	7,2441	7,0978	0,2165
<b>HAC</b>	25,8403	25,3722	24,8748	25,3625	0,4828
<b>HPC</b>	29,7024	33,8278	30,1998	31,2433	2,2520

*Nota.* Los valores expuestos se hallan en términos de concentración  $\mu\text{mol TRX/g Fw}$ .

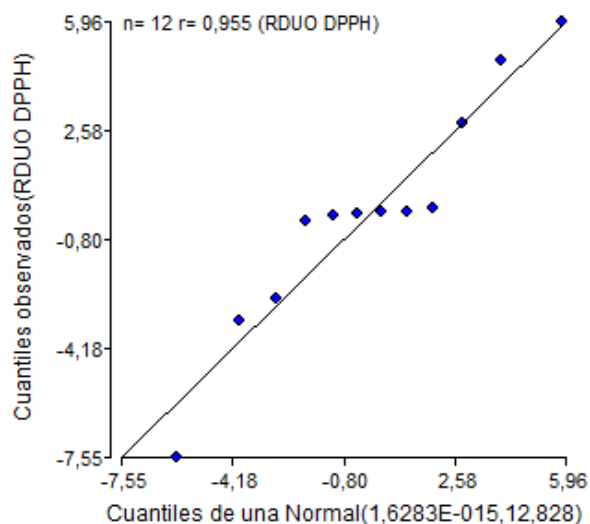
### **Análisis de varianza para capacidad antioxidante**

#### ***Método DPPH***

Antes de la realización de comparación de medias paramétricas, se verificaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad. Para el primer caso se acepta la hipótesis nula, debido que en el Test de Shapiro Wilks se obtuvo un  $p_{\text{valor}} = 0,6003$  (Apéndice 1), siendo  $p_{\text{valor}} \geq 0,05$ , además, esto se puede corroborar en la Figura 15, con el gráfico Q-Q plot obtenido.

### Figura 15

Prueba gráfica de normalidad (Q-Q plot) para DPPH.

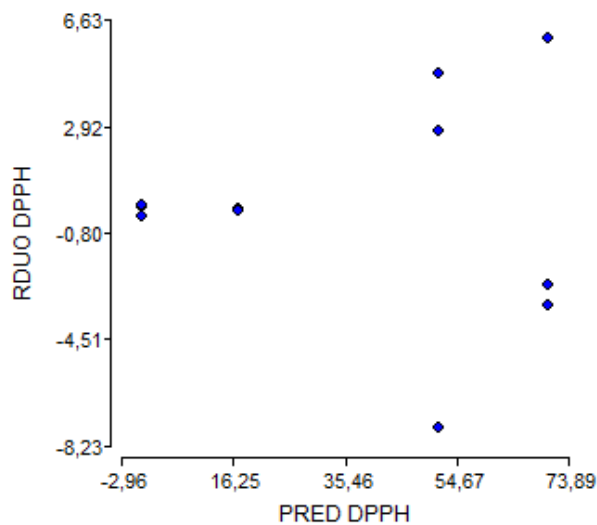


*Nota.* El supuesto de normalidad se verificó de manera gráfica con los residuos de las concentraciones obtenidas mediante el ensayo de DPPH.

Además, para validar el supuesto de homocedasticidad, se aplicó el Test de Levene y se aceptó la hipótesis nula, ya que se obtuvo un  $p_{\text{valor}} = 0,0059$  (véase el Apéndice 2). Dado que se trata de un modelo robusto y considerando el limitado volumen de datos, compuesto únicamente por tres réplicas, se permite aceptar la homocedasticidad incluso con un  $p_{\text{valor}} \geq 0,001$ . La confirmación del supuesto de homocedasticidad también se respalda visualmente mediante el diagrama de dispersión obtenido, como se puede observar en la Figura 16.

**Figura 16**

*Prueba gráfica de homocedasticidad (diagrama de dispersión) para DPPH.*



*Nota.* El supuesto de homocedasticidad se verificó de manera gráfica con los residuos y predichos de las concentraciones obtenidas mediante el ensayo de DPPH.

La capacidad antioxidante expresada en valores de concentración en cuanto al ensayo DPPH, mostró diferencias significativamente entre cada factor analizado ( $F_{3,8} = 172,23$ ;  $p < 0,0001$ ) como se puede evidenciar en la Tabla 11.

**Tabla 11**

*Medias y Error Estándar de las concentraciones obtenidas mediante el ensayo de capacidad antioxidante de DPPH.*

<b>Ceniza</b>	<b>Órgano</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E</b>	
Presencia	Hoja	70,39	3	2,42	A
Ausencia	Hoja	51,50	3	2,42	B

<b>Ceniza</b>	<b>Órgano</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E</b>	
Presencia	Fruto	16,97	3	2,42	C
Ausencia	Fruto	0,53	3	2,42	D

*Nota.* Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

En cuanto a la comparación de concentración de acuerdo al factor presencia/ausencia de ceniza, se puede deducir que tanto las hojas como frutos provenientes de plantas que estuvieron expuestas a la ceniza, presentan mayor capacidad antioxidante que aquellos órganos que no estuvieron bajo la exposición de ceniza volcánica.

Por otro lado, las hojas de las plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) presentaron la mayor capacidad antioxidante de las cuatro interacciones obtenidas.

Adicionalmente, se llevó a cabo un análisis de varianza no paramétrico para examinar el comportamiento en relación a los factores y la formación de grupos. Se observa que la interacción de Presencia:Hoja muestra un rango significativamente más elevado que las demás interacciones de a pares. No obstante, Presencia:Fruto y Ausencia:Hoja se hallan en el mismo grupo, indicando que también exhiben una notable actividad antioxidante. Estos resultados están respaldados por la información detallada en la Tabla 12.



**Tabla 12**

*Análisis no paramétrico de a pares de Kruskal-Wallis de acuerdo a las respuestas obtenidas en el ensayo DPPH.*

<b>Trat.</b>	<b>Ranks</b>			
Ausencia:Fruto	2,00	A		
Presencia:Fruto	5,00	A	B	
Ausencia:Hoja	8,00		B	C
Presencia:Hoja	11,00			C

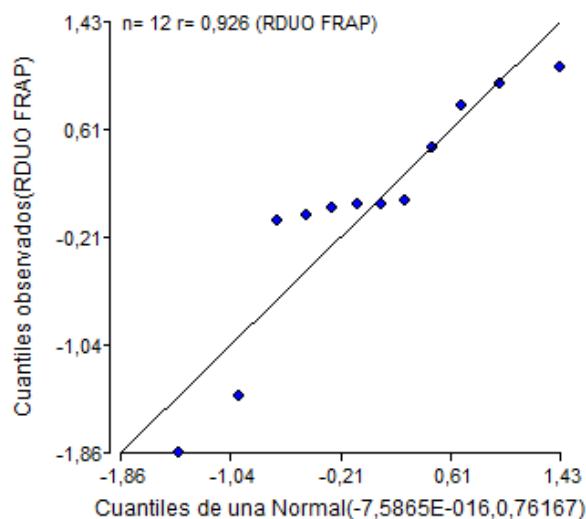
*Nota.* Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

### ***Método FRAP***

Previo a la aplicación de pruebas paramétricas de comparación de medias, se evaluaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad. En cuanto al primero, se aceptó la hipótesis nula, ya que el Test de Shapiro Wilks arrojó un  $p_{\text{valor}} = 0,0744$  (Apéndice 7), siendo  $p_{\text{valor}} \geq 0,05$ . Este resultado se respalda visualmente mediante el gráfico Q-Q plot obtenido, como se evidencia en la Figura 17.

**Figura 17**

*Prueba gráfica de normalidad (Q-Q plot) para FRAP.*

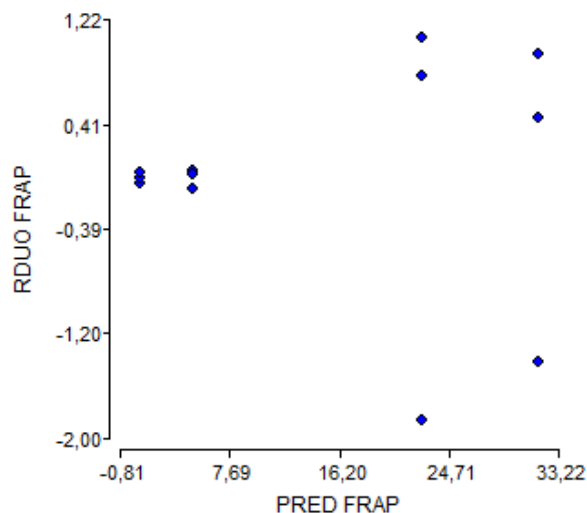


*Nota.* El supuesto de normalidad se verificó de manera gráfica con los residuos de las concentraciones obtenidas mediante el ensayo de FRAP.

Adicionalmente, para comprobar la homocedasticidad, se aplicó el Test de Levene y se aceptó la hipótesis nula, dado que el  $p_{\text{valor}} = 0,0073$  (véase el Apéndice 8). Debido a la robustez del modelo y teniendo en cuenta la escasa cantidad de datos, se permite la aceptación de la homocedasticidad incluso el  $p_{\text{valor}} \geq 0,001$ . La confirmación este supuesto también se respalda visualmente mediante el diagrama de dispersión obtenido, como se puede observar en la Figura 18.

**Figura 18**

*Prueba gráfica de homocedasticidad (diagrama de dispersión) para FRAP.*



*Nota.* El supuesto de homocedasticidad se verificó de manera gráfica con los residuos y predichos de las concentraciones obtenidas mediante el ensayo de FRAP.

La capacidad antioxidante expresada en valores de concentración en cuanto al ensayo FRAP, mostró diferencias significativamente entre cada factor analizado ( $F_{3,8} = 612,33$ ;  $p < 0,0001$ ) como se puede evidenciar en la Tabla 13.

**Tabla 13**

*Medias y Error Estándar de las concentraciones obtenidas mediante el ensayo de capacidad antioxidante de FRAP.*

<b>Ceniza</b>	<b>Órgano</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E</b>	
Presencia	Hoja	31,67	3	0,59	A
Ausencia	Hoja	22,57	3	0,59	B

Ceniza	Órgano	Medias	n	E.E	
Presencia	Fruto	4,87	3	0,59	C
Ausencia	Fruto	0,73	3	0,59	D

*Nota.* Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

Al igual que el ensayo anterior, tanto las hojas como frutos provenientes de plantas que estuvieron expuestas a la ceniza, presentan mayor capacidad antioxidante que aquellos órganos que no estuvieron expuestos a la ceniza volcánica. Por otro lado, las hojas de las plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) presentaron la mayor capacidad antioxidante dentro de las cuatro interacciones obtenidas. El análisis de varianza no paramétrico realizado produjo resultados consistentes con los obtenidos en la evaluación mediante el método DPPH, como se refleja en la Tabla 14.

#### **Tabla 14**

*Análisis no paramétrico de a pares de Kruskal-Wallis de acuerdo a las respuestas obtenidas en el ensayo FRAP.*

Trat.	Ranks		
Ausencia:Fruto	2,00	A	
Presencia:Fruto	5,00	A	B
Ausencia:Hoja	8,00		B C
Presencia:Hoja	11,00		C

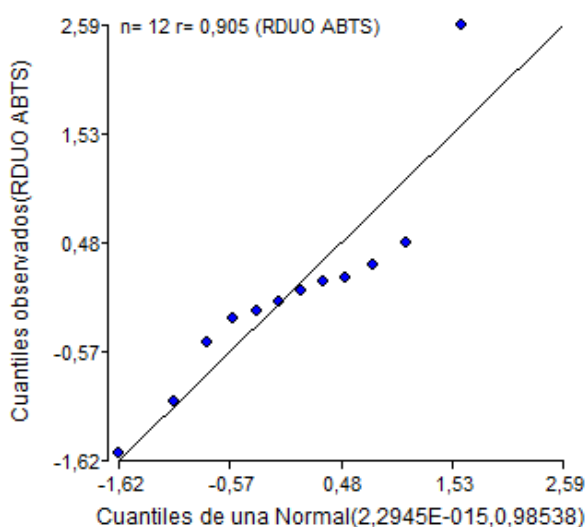
*Nota.* Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

### Método ABTS

Antes de llevar a cabo la comparación de medias paramétricas, se evaluaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad. En el caso de normalidad, se aceptó la hipótesis nula, ya que en el Test de Shapiro Wilks se obtuvo un  $p_{\text{valor}} = 0,1781$  (Apéndice 13), siendo  $p_{\text{valor}} \geq 0,05$ , además, esto se puede respaldar con el gráfico de la Figura 19.

#### Figura 19

*Prueba gráfica de normalidad (Q-Q plot) para ABTS.*

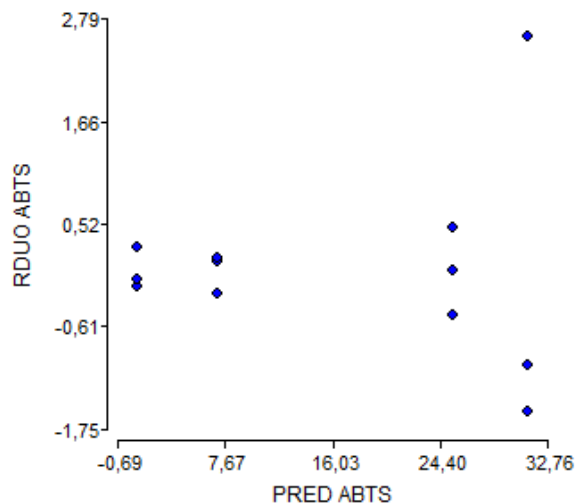


*Nota.* El supuesto de normalidad se verificó de manera gráfica con los residuos de las concentraciones obtenidas mediante el ensayo de ABTS.

Asimismo, para comprobar la homocedasticidad, se realizó el Test de Levene y se aceptó la hipótesis nula, dado que se obtuvo un  $p_{\text{valor}} = 0,0050$  (véase el Apéndice 14). Igual a lo mencionado en los dos métodos anteriores, dado que se trata de un modelo robusto y considerando el limitado volumen de datos, compuesto únicamente por tres réplicas, se permite aceptar la homocedasticidad incluso con un  $p_{\text{valor}} \geq 0,001$ . La validación de este supuesto tiene un respaldo visual en el diagrama de dispersión de la Figura 20.

**Figura 20**

*Prueba gráfica de homocedasticidad (diagrama de dispersión) para ABTS.*



*Nota.* El supuesto de homocedasticidad se verificó de manera gráfica con los residuos y predichos de las concentraciones obtenidas mediante el ensayo de ABTS.

La capacidad antioxidante expresada en valores de concentración en cuanto al ensayo ABTS, mostró diferencias significativamente entre cada factor analizado ( $F_{3,8} = 464,54$ ;  $p < 0,0001$ ) como se puede evidenciar en la Tabla 15.

**Tabla 15**

*Medias y Error Estándar de las concentraciones obtenidas mediante el ensayo de capacidad antioxidante de ABTS.*

<b>Ceniza</b>	<b>Órgano</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E</b>	
Presencia	Hoja	31,24	3	0,67	A
Ausencia	Hoja	25,36	3	0,67	B

Ceniza	Órgano	Medias	n	E.E	
Presencia	Fruto	7,10	3	0,67	C
Ausencia	Fruto	0,83	3	0,67	D

*Nota.* Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

Cumpliendo con el mismo patrón que el resto de ensayos de capacidad antioxidante, las hojas y frutos provenientes de plantas que estuvieron expuestas a la ceniza, presentan mayor capacidad antioxidante que aquellos órganos que no estuvieron expuestos a la ceniza volcánica. Y las hojas de las plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) presentaron la mayor capacidad antioxidante dentro de las cuatro interacciones obtenidas.

El análisis de varianza no paramétrico llevado a cabo generó resultados coherentes con los obtenidos en los otros dos ensayos de capacidad antioxidante, tal como se muestran en la Tabla 16.

### Tabla 16

*Análisis no paramétrico de a pares de Kruskal-Wallis de acuerdo a las respuestas obtenidas en el ensayo ABTS.*

Trat.	Ranks		
Ausencia:Fruto	2,00	A	
Presencia:Fruto	5,00	A	B
Ausencia:Hoja	8,00	B	C

Trat.	Ranks	
Presencia:Hoja	11,00	C

*Nota.* Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

### Evaluación del contenido fitoquímico

Se utilizó exclusivamente el método Folin-Ciocalteu para analizar el contenido fenólico. Los resultados de este análisis, realizado con tres repeticiones, se muestran en la Tabla 17, así como el promedio al relacionar cada tipo de órgano (hojas/fruto) según su condición de presencia o ausencia de ceniza.

**Tabla 17**

*Respuestas experimentales para la determinación de Contenido Fenólico.*

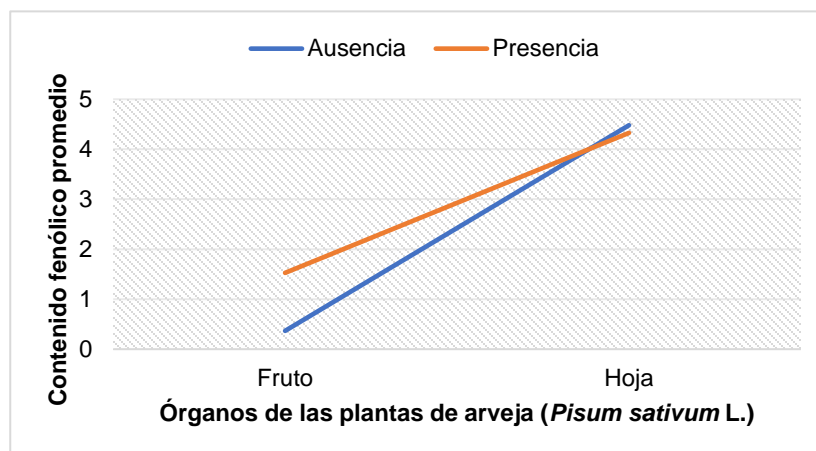
Órgano	Ausencia /	Folin-Ciocalteu (mg GAE/g dw)			Promedio
	Presencia ceniza				
Fruto	Ausencia ceniza	0,39	0,36	0,35	0,36
	Presencia ceniza	1,59	1,40	1,59	1,53
Hoja	Ausencia ceniza	4,54	4,53	4,37	4,48
	Presencia ceniza	4,06	4,76	4,16	4,33

Las Figuras 21 y 22 muestran que los frutos y hojas provenientes de las plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) expuestas a la ceniza volcánica presentan valores elevados de contenido fenólico con relación a los órganos que no han sido expuestos a la ceniza.

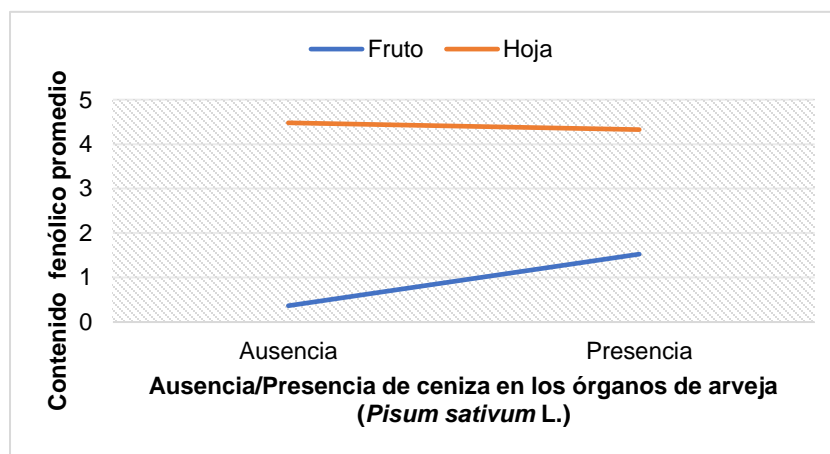


**Figura 21**

Órganos de la planta de arveja (*Pisum sativum* L.) vs contenido fenólico promedio, y su interacción en cuanto a la presencia o ausencia de ceniza.

**Figura 22**

Ausencia/Presencia de ceniza en los dos órganos de las plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) vs Contenido fenólico promedio.



### **Método Folin-Ciocalteu**

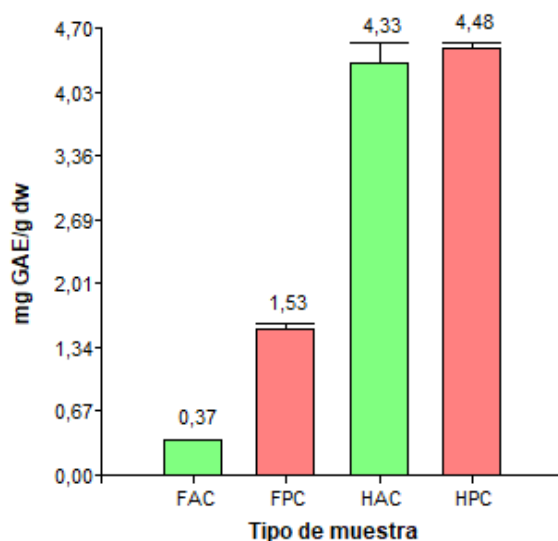
La curva de calibración fue establecida mediante el uso de Ácido Gálico como solución estándar en un intervalo de concentración que abarcó desde 0 a 500 mg/L. La relación lineal de

los datos fue establecida a través la ecuación de la recta:  $y = 0,0061x + 0,1393$  con un coeficiente de determinación  $R^2 = 0,9941$ .

La Figura 23 representa que tanto los frutos como las hojas de plantas de arveja (*Pisum sativum* L.), tras la exposición a la ceniza volcánica del Cotopaxi, demostraron concentraciones superiores de contenido fenólico en el ensayo de Folin-Ciocalteu. Los valores promedio fueron de 1,53 mg GAE/g dw y 4,48 mg GAE/g dw respectivamente. En contraste, los frutos y hojas de las plantas no expuestas a la ceniza revelaron una menor concentración de compuestos fenólicos, con valores de 0,37 mg GAE/g dw y 4,33 mg GAE/g dw respectivamente.

### Figura 23

*Tipo de muestra vs Concentración de compuestos fenólicos en los frutos y hojas en ausencia y presencia de ceniza, originarias de la provincia de Cotopaxi en Ecuador.*



### Análisis de varianza para contenido fitoquímico

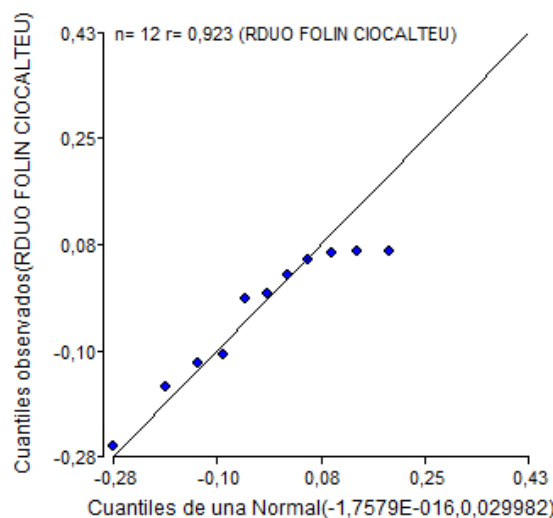
#### *Método Folin-Ciocalteu*

Antes de llevar a cabo la comparación de medias paramétricas, se realizaron verificaciones de los supuestos de normalidad y homocedasticidad. Para el primer caso se

acepta la hipótesis nula, debido que en el Test de Shapiro Wilks se obtuvo un  $p_{\text{valor}} = 0,3035$  (Apéndice 19), siendo  $p_{\text{valor}} \geq 0,05$ , además, esto se puede corroborar en la Figura 24, con el gráfico Q-Q plot obtenido.

### Figura 24

*Prueba gráfica de normalidad (Q-Q plot) para Folin-Ciocalteu.*

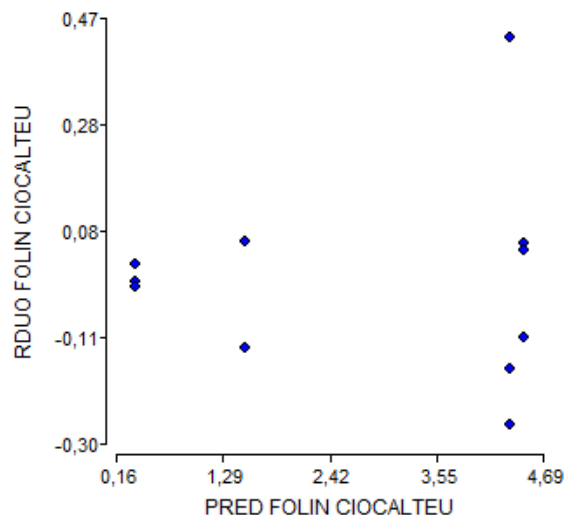


*Nota.* El supuesto de normalidad se verificó de manera gráfica con los residuos de las concentraciones obtenidas mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu.

Para verificar la homocedasticidad se aplicó Test de Levene y se aceptó la hipótesis nula, dado un  $p_{\text{valor}} = 0,0077$  (véase el Apéndice 20). Puesto que se trata de un modelo robusto y considerando la limitación en el tamaño de muestra, compuesta únicamente por tres réplicas, se permite la aceptación de la homocedasticidad incluso si el  $p_{\text{valor}} \geq 0,001$ . La validación del supuesto de homocedasticidad se respalda de manera visual mediante el diagrama de dispersión de la Figura 25.

**Figura 25**

*Prueba gráfica de homocedasticidad (diagrama de dispersión) para Folin-Ciocalteu.*



*Nota.* El supuesto de homocedasticidad se verificó de manera gráfica con los residuos y predichos de las concentraciones obtenidas mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu.

El contenido fitoquímico expresado en valores de concentración fenólico en cuanto al ensayo Folin-Ciocalteu, mostró diferencias significativamente entre cada factor analizado ( $F_{3,8} = 306,44$ ;  $p < 0,0001$ ) como se puede evidenciar en la Tabla 18.

**Tabla 18**

*Medias y Error Estándar de las concentraciones obtenidas mediante el ensayo de contenido fenólico Folin-Ciocalteu.*

<b>Ceniza</b>	<b>Órgano</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E</b>	
Presencia	Hoja	4,48	3	0,12	A
Ausencia	Hoja	4,33	3	0,12	A

<b>Ceniza</b>	<b>Órgano</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E</b>	
Presencia	Fruto	1,53	3	0,12	B
Ausencia	Fruto	0,37	3	0,12	C

*Nota.* Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

En relación con la comparación de concentraciones según el factor de presencia o ausencia de ceniza, se puede deducir que las hojas presentan gran cantidad de fenoles, independientemente de la ausencia o presencia de ceniza. No obstante, se observa un mayor contenido fenólico en los frutos con ceniza en comparación con los frutos sin exposición a ceniza volcánica.

Adicionalmente, se llevó a cabo un análisis de varianza no paramétrico, obteniendo resultados tales que la interacción Ausencia:Fruto y Presencia:Fruto demuestran ser los mejores, es decir, presentan mayor contenido fenólico en comparación con los otros grupos que se generaron en esta comparación de a pares. Estos resultados están respaldados por la información detallada en la Tabla 19.

### **Tabla 19**

*Análisis no paramétrico de a pares de Kruskal-Wallis de acuerdo a las respuestas obtenidas en el ensayo Folin-Ciocalteu.*

<b>Trat.</b>	<b>Ranks</b>		
Ausencia:Fruto	2,00	A	
Presencia:Fruto	5,00	A	B

---

<b>Trat.</b>	<b>Ranks</b>	
Ausencia:Hoja	9,00	B
Presencia:Hoja	11,00	B

---

*Nota.* Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

## Capítulo V: Discusión

La arveja (*Pisum sativum* L.) o también conocida como guisante verde o guisante de jardín, es un componente común en la dieta de los habitantes de diversas regiones del mundo (Rungruangmaitree & Jiraungkoorskul, 2017). Esto debido a su rico contenido de fibra, proteínas, almidón y oligoelementos, así como a la presencia de sustancias fitoquímicas. Según Chagas & Sodek (2001), estas sustancias incluyen asparaginasa, flavonoides como apigenina, daidzeína, genisteína y kaempferol, y compuestos fenólicos que incluyen ácidos cafeicos, catequina, cumárico, gentísico, ferúlico, protocatéquico y vainílico. Además, la arveja contiene sustancias activas alelopáticas. Estos compuestos le confieren propiedades antibacterianas, antioxidantes, anticancerígenas, antidiabéticas, antifúngicas e incluso pueden tener aplicaciones como insecticidas (Habib, 2016; Nair et al., 2013).

De acuerdo a Moreno Sotelo (2019), quien examinó la rentabilidad de la producción de arveja en una de las provincias de Ecuador, señala que la producción de arveja tierna en el año 2016 había incrementado en un 21% respecto del año 2015, indicando un rendimiento positivo del producto, especialmente en el caso de la arveja seca. Por lo tanto, resulta crucial investigar la arveja desde una perspectiva fitoquímica y de actividad biológica para posibles aplicaciones a nivel nacional e internacional. Este análisis también debe considerar los antecedentes relacionados con posibles usos farmacéuticos. Dada la diversidad de aplicaciones, es de importancia el estudio de las diferentes partes vegetales de la arveja.

La información proporcionada por Hadrich et al. (2014) y Alam & Khatun (2016), destaca aspectos relevantes sobre la actividad antioxidante y composición fenólica de *Pisum sativum* L. y sus componentes. De esta manera, en el estudio realizado por los primeros autores, en donde se evaluó la cáscara de arveja, utilizando extractos acuosos crudos, metanólicos y de acetato de etilo. Los resultados indican actividades antioxidantes con valores de  $0,650 \pm 0,05$  mg/mL y  $1,9 \pm 0,05$   $\mu$ mol TRX/g para DPPH y ABTS respectivamente; mientras que, para

contenido fenólico se obtuvo un valor de  $62,5 \pm 0,8$  mg GAE/g extracto. Por demás, en el otro estudio, se utilizó un extracto metanólico de *Pisum sativum* L. con el fin de evaluar su capacidad de eliminación de radicales libres mediante el método DPPH únicamente, obteniéndose un valor de 489,25  $\mu$ g/mL, indicando que posee buenos efectos analgésicos, así como una leve actividad antioxidante.

En otro estudio, Nazir et al. (2020) llevó a cabo extracciones metanólicas de las semillas de arveja y evaluó su capacidad de eliminación de radicales libres DPPH. El espécimen que exhibió valores destacados demostró un potencial inhibidor contra el DPPH del 64,95% con una concentración de 294  $\mu$ g/mL. Además, una investigación del contenido fenólico en guisantes, basada en características de las semillas, reveló que los genotipos de flores moradas y cubiertas de semilla de tono oscuro registraron los niveles más altos de contenido fenólico, alcanzando valores de 128 y 104 mg GAE/100 g fw, respectivamente (Devi et al., 2019). Igualmente, Stanisavljević et al. (2016) en su indagación semejante a la anterior, respecto de la identificación de compuestos fenólicos de cubiertas de semillas con diferentes colores, se encontraron con un contenido fenólico total de 46,56 mg GAE/g, y la actividad antioxidante más alta evaluada por DPPH fue de 8,04 mM TE/g.

Los resultados obtenidos en la investigación actual se asemejan a los estudios señalados en cuanto a DPPH y ABTS, sin embargo, mediante el método de Folin Ciocalteu, se determinó el contenido de fenoles totales, evidenciándose que las hojas en presencia de ceniza poseen el valor más alto de 4,48 mg GAE/g dw que, si bien no es un valor tan alto como el obtenido en los estudios mencionados, pues es representativo en la presente indagación.

Las investigaciones sugieren el potencial beneficioso de *Pisum sativum* L., no solo como fuente de antioxidantes, sino también como una entidad de interés para estudios fitoquímicos más detallados, respaldando la relevancia de explorar las propiedades bioactivas de las plantas, tal como se ha realizado en el presente estudio, que si bien, se utilizó un extracto



etanólico, se puede realizar con cualquiera de los dos solventes, obteniendo resultados favorables tanto para actividad antioxidante como para evaluación de contenido fitoquímico.

Por otro lado, en cuanto a la exposición de las plantas a la ceniza volcánica, se considera como un factor de estrés abiótico, caracterizado por ser una condición ambiental no biológica (De la Rosa et al., 2023). Es común observar que las plantas aumenten la síntesis de antioxidantes y fenoles en respuesta a estas condiciones, debido que, este fenómeno es parte de las respuestas adaptativas de las plantas con el fin de contrarrestar los efectos negativos que les genera las situaciones de estrés. Durante el estrés abiótico, las plantas pueden experimentar un aumento en la producción de ROS (Dar et al., 2017). Como respuesta a este daño oxidativo, las plantas activan sus sistemas antioxidantes y generan compuestos antioxidantes, tales como enzimas, polifenoles y flavonoides, todos estos ayudan a neutralizar los ROS y proteger las células de los efectos nocivos asociados al estrés abiótico.

Información que respalda los resultados obtenidos en el actual estudio, donde órganos de las plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) tanto fruto como hoja en presencia de ceniza, presentaron los mayores niveles de antioxidantes, así como de contenido fenólico.

De esta manera, otros estudios señalan que la acumulación de fenoles se provoca por enzimas como la fenilalanina amoníaco liasa (PAL) y la calcona sintasa (CHS), que durante el estrés abiótico, las plantas activan su sistema de defensa y producen fenoles que cumplen funciones antioxidantes y protectoras contra los radicales libres (Hasanuzzaman et al., 2020; Naikoo et al., 2019).

Finalmente, Kowalczewski et al. (2020) en su artículo menciona que la cebada verde usada dentro de su investigación presentó un perfil elevado de polifenoles y que sus propiedades antioxidantes fueron elevadas luego de que la planta experimentase la influencia de factores de estrés abiótico. Por lo que, se puede deducir que esto se cumple para la mayor

parte de plantas, y que pueden ser utilizadas normalmente como fuente de alimento, ya que poseen grandes beneficios para la salud ya sea humana o animal.

## Capítulo VI: Conclusiones

Los frutos y hojas de arveja (*Pisum sativum* L.) fueron recolectados de forma aleatoria considerando las áreas afectadas por la ceniza del volcán Cotopaxi y sectores no afectados para realizar comparaciones. Este proceso se llevó a cabo con el objetivo de realizar la respectiva evaluación biológica y fitoquímica.

En el análisis fitoquímico del contenido fenólico, se observaron resultados destacados en los frutos y hojas de las plantas expuestas a la ceniza volcánica, con cifras promedio de 1,53 mg GAE/g dw y 4,48 mg GAE/g dw respectivamente. A pesar de ello, las hojas en ausencia de ceniza también valor promedio elevado de contenido fenólico (4,33 mg GAE/g dw), atribuido al contenido de clorofila en este órgano. Esto sugiere relación entre la clorofila y la producción de fenoles, vinculando la fotosíntesis, síntesis de compuestos orgánicos y la función que cumplen los fenoles en diversas respuestas fisiológicas y de defensa de las plantas.

La mayor capacidad antioxidante se evidenció en los frutos y hojas que tuvieron exposición a la ceniza volcánica del Cotopaxi en Ecuador, de esta manera, se obtuvo el porcentaje de inhibición de radicales libres de 31,90% y 64,84% (ensayo DPPH), 33,50% y 62,57% (ensayo ABTS) y potencial reductor de 4,87 y 31,67  $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g Fw}$  (ensayo FRAP), respectivamente.

Los resultados obtenidos durante la investigación son consistentes y respaldados por otras indagaciones, donde se resalta la normalidad de síntesis de compuestos antioxidantes y fenólicos en períodos de estrés al que se exhiben las plantas. A pesar de que el estudio se centra en el análisis de plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) sanas y afectadas por la ceniza volcánica del Cotopaxi, se identificaron nuevos hallazgos que destacan a las hojas como principales productoras de compuestos antioxidantes y fenoles.

## Capítulo VII: Recomendaciones

Para las futuras evaluaciones, se sugiere considerar el estado del órgano, especialmente cuando no se factible obtener el fruto fresco. Explorar nuevas perspectivas evaluando las capacidades antioxidantes y el contenido fenólico de órganos en diferentes estados podría revelar nuevos hallazgos.

Es esencial tener en cuenta que los órganos no sean sometidos a ningún tipo de procesamiento, ya que esto podría resultar en la alteración de la composición natural de la planta, el objetivo es destacar el valor real de la composición metabólica y fitoquímica que estos órganos aportaría al ser consumidos como parte de la dieta diaria.

Se recomienda llevar a cabo la evaluación de la composición real de la ceniza volcánica, considerando la posibilidad de realizar experimentos en distintas regiones del Ecuador, dado que la composición mineral no suele ser la misma en todos los sectores.

Por otro lado, se puede evaluar el tiempo de exposición a la ceniza, ya que puede ser que, a mayor tiempo de exposición, vayan bajando los porcentajes de inhibición de radicales libres, así como el contenido de fenoles totales.

Finalmente, se recomienda que en las futuras investigaciones se usen otros órganos de las plantas, así como el empleo de otros métodos en la evaluación de TPC para poder comparar los métodos correspondientes.

## Bibliografía

- Aguilar, R., Rafael-Rutte, R., Martínez-Santos, H., Apaza-Apaza, S., Aguilar, R., Rafael-Rutte, R., Martínez-Santos, H., & Apaza-Apaza, S. (2021). Agente causal de la antracnosis en el cultivo de arveja (*Pisum sativum* L.) en el norte de Perú: Sintomatología, aislamiento e identificación, patogenicidad y control. *Scientia Agropecuaria*, 12(1), 7-14.  
<https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2021.001>
- Alam, A. K., & Khatun, C. S. (2016). Phytochemical analysis and antioxidant, analgesic and thrombolytic activity investigation of methanol extract of *Pisum sativum* seed. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(6), 366-370.
- Amarowicz, R., & Shahidi, F. (2017). Antioxidant activity of broad bean seed extract and its phenolic composition. *Journal of Functional Foods*, 38, 656-662.  
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.04.002>
- Angulo Pérez, A. (2019). *Identificación de las principales plagas y enfermedades en el cultivo de arveja (Pisum sativum), parroquia Bolívar, cantón Bolívar, Provincia del Carchi* [bachelorThesis, El Angel:UTB,2019]. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/6395>
- Arequipa Giler, A. M. (2018). *Evaluación del impacto por caída de ceniza en la agricultura y ganadería en las comunidades de San Juan, Pillate, Santa Fe de Galán, Ganshi y Pachanillay por la actividad del volcán Tungurahua en el período 1999- marzo 2014*.  
<https://www.dspace.uce.edu.ec/entities/publication/6b8a7021-a754-48c9-b0ed-98c384ff673e>
- Averill Bates, D. (2024). Reactive oxygen species and cell signaling. Review. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1871(2), 119573.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2023.119573>

- Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., Alcántar-Rodríguez, V. E., Puga-Díaz, R., & Quintero-Gutiérrez, A. G. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23(0), Article 0. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.244>
- Camargo Benavides, V. A. (2019). *Daños de Melanogromyza sp, en el cultivo de arveja (Pisum sativum L.), en la parroquia Santa Martha de Cuba, cantón Tulcán, provincia del Carchi* [bachelorThesis, El Angel:UTB,2019]. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/6456>
- Chagas, E. P., & Sodek, L. (2001). Purification and properties of asparaginase from the testa of immature seeds of pea (*Pisum sativum L.*). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 44, 239-245. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132001000300004>
- Chaki, M., Begara-Morales, J. C., & Barroso, J. B. (2020). Oxidative Stress in Plants. *Antioxidants*, 9(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/antiox9060481>
- Chaves, N., Santiago, A., & Alías, J. C. (2020). Quantification of the Antioxidant Activity of Plant Extracts: Analysis of Sensitivity and Hierarchization Based on the Method Used. *Antioxidants*, 9(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/antiox9010076>
- Condori Cueva, B. (2006). *Comportamiento agronomico de cinco variedades de arveja (Pisum sativum L.) con manejo ecologico en la localidad de Coroico* [Thesis]. <http://repositorio.umsa.bo/xmlui/handle/123456789/11892>
- Coto Cedeño, W. I. (2019). Nubes de ceniza, campos de arena. Actividad volcánica en Costa Rica y su impacto en el sector agropecuario, 1950-2017. *Revista Geográfica de América Central*, 62, 108-137. <https://doi.org/10.15359/rgac.62-1.5>

- Dahl, W. J., Foster, L. M., & Tyler, R. T. (2012). Review of the health benefits of peas (*Pisum sativum* L.). *British Journal of Nutrition*, 108(S1), S3-S10.  
<https://doi.org/10.1017/S0007114512000852>
- Danet, A. F. (2021). Recent Advances in Antioxidant Capacity Assays. En *Antioxidants—Benefits, Sources, Mechanisms of Action*. IntechOpen.  
<https://doi.org/10.5772/intechopen.96654>
- Dar, M. I., Naikoo, M. I., Khan, F. A., Rehman, F., Green, I. D., Naushin, F., & Ansari, A. A. (2017). An Introduction to Reactive Oxygen Species Metabolism Under Changing Climate in Plants. En M. I. R. Khan & N. A. Khan (Eds.), *Reactive Oxygen Species and Antioxidant Systems in Plants: Role and Regulation under Abiotic Stress* (pp. 25-52). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-5254-5\\_2](https://doi.org/10.1007/978-981-10-5254-5_2)
- De la Rosa, J. M., Pérez-Dalí, S. M., Campos, P., Sánchez-Martín, Á., González-Pérez, J. A., & Miller, A. Z. (2023). Suitability of Volcanic Ash, Rice Husk Ash, Green Compost and Biochar as Amendments for a Mediterranean Alkaline Soil. *Agronomy*, 13(4), Article 4.  
<https://doi.org/10.3390/agronomy13041097>
- Devi, J., Sanwal, S. K., Koley, T. K., Mishra, G. P., Karmakar, P., Singh, P. M., & Singh, B. (2019). Variations in the total phenolics and antioxidant activities among garden pea (*Pisum sativum* L.) genotypes differing for maturity duration, seed and flower traits and their association with the yield. *Scientia Horticulturae*, 244, 141-150.  
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.09.048>
- Dhall, R. K. (2017). *Pea Cultivation*.
- Diniz do Nascimento, L., Moraes, A. A. B. de, Costa, K. S. da, Pereira Galúcio, J. M., Taube, P. S., Costa, C. M. L., Neves Cruz, J., de Aguiar Andrade, E. H., & Faria, L. J. G. de. (2020). Bioactive Natural Compounds and Antioxidant Activity of Essential Oils from

- Spice Plants: New Findings and Potential Applications. *Biomolecules*, 10(7), Article 7.  
<https://doi.org/10.3390/biom10070988>
- Dueñas, M., Estrella, I., & Hernández, T. (2004). Occurrence of phenolic compounds in the seed coat and the cotyledon of peas (*Pisum sativum* L.). *European Food Research and Technology*, 219(2), 116-123. <https://doi.org/10.1007/s00217-004-0938-x>
- Fahim, J. R., Attia, E. Z., & Kamel, M. S. (2019). The phenolic profile of pea (*Pisum sativum*): A phytochemical and pharmacological overview. *Phytochemistry Reviews*, 18(1), 173-198.  
<https://doi.org/10.1007/s11101-018-9586-9>
- Fejér, J., Kron, I., Eliašová, A., Grušová, D., Gajdošová, A., Lancíková, V., & Hricová, A. (2021). New Mutant Amaranth Varieties as a Potential Source of Biologically Active Substances. *Antioxidants*, 10(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/antiox10111705>
- Galindo, J. R., & Clavijo, J. (2007). Modelos alométricos para estimar el área de los folíolos de arveja (*Pisum sativum* L.). *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 8(1), Article 1.  
[https://doi.org/10.21930/rcta.vol8\\_num1\\_art:81](https://doi.org/10.21930/rcta.vol8_num1_art:81)
- Gemmeda, L., & Ayalew, G. (2016). Efficacy of Botanical Insecticides against the Pea Aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Harris) and Effect on Some of Its Natural Enemies on Field Pea in South Central Ethiopia. *Science, Technology and Arts Research Journal*, 4, 53.  
<https://doi.org/10.4314/star.v4i2.7>
- Gomez-Zapata, J. C., Parrado, C., Frimberger, T., Barragán-Ochoa, F., Brill, F., Büche, K., Krautblatter, M., Langbein, M., Pittore, M., Rosero-Velásquez, H., Schoepfer, E., Spahn, H., & Zapata-Tapia, C. (2021). Community Perception and Communication of Volcanic Risk from the Cotopaxi Volcano in Latacunga, Ecuador. *Sustainability*, 13(4), Article 4.  
<https://doi.org/10.3390/su13041714>



- Gregory, P. J. (1988). Root growth of chickpea, faba bean, lentil, and pea and effects of water and salt stresses. En R. J. Summerfield (Ed.), *World crops: Cool season food legumes* (Vol. 5, pp. 857-867). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-009-2764-3\\_68](https://doi.org/10.1007/978-94-009-2764-3_68)
- Grünwald, N. J., Chen, W., & Larsen, R. C. (2004). Pea Diseases and their Management. En S. A. M. H. Naqvi (Ed.), *Diseases of Fruits and Vegetables: Volume II: Diagnosis and Management* (pp. 301-331). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/1-4020-2607-2\\_9](https://doi.org/10.1007/1-4020-2607-2_9)
- Guerrero C., J. (1989). *Aspectos fitopatológicos del cultivo de arveja*.  
<https://biblioteca.inia.cl/handle/20.500.14001/41555>
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*, 11(8), Article 8.  
<https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Habib, H. (2016). Protease Inhibitor Associated Antimicrobial Activity of Pea *Pisum sativum* L. cv. Arkel. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 4, 172-179.  
<https://doi.org/10.18782/2320-7051.2193>
- Hadrich, F., Arbi, M. E., Boukhris, M., Sayadi, S., & Cherif, S. (2014). Valorization of the Peel of Pea: *Pisum sativum* by Evaluation of Its Antioxidant and Antimicrobial Activities. *Journal of Oleo Science*, 63(11), 1177-1183. <https://doi.org/10.5650/jos.ess14107>
- Hall, C., Hillen, C., & Garden Robinson, J. (2017). Composition, Nutritional Value, and Health Benefits of Pulses. *Cereal Chemistry*, 94(1), 11-31. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-03-16-0069-FI>
- Halliwell, B. (2011). Free radicals and antioxidants – quo vadis? *Trends in Pharmacological Sciences*, 32(3), 125-130. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2010.12.002>

- Han, X., Akhrov, L., Ashe, P., Lewis, C., Deibert, L., Irina Zaharia, L., Forseille, L., Xiang, D., Datla, R., Nosworthy, M., Henry, C., Zou, J., Yu, B., & Patterson, N. (2023). Comprehensive compositional assessment of bioactive compounds in diverse pea accessions. *Food Research International*, 165, 112455. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112455>
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., Fujita, M., & Fotopoulos, V. (2020). Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense in Plants under Abiotic Stress: Revisiting the Crucial Role of a Universal Defense Regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681. <https://doi.org/10.3390/antiox9080681>
- Hill, D. S. (1997). Pest Definitions. En D. S. Hill (Ed.), *The Economic Importance of Insects* (pp. 51-63). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-5348-5\\_3](https://doi.org/10.1007/978-94-011-5348-5_3)
- Jacome Mogro, E. J. (2011). *Evaluación del impacto de la ceniza volcánica emitida por el volcán Tungurahua, sobre los suelos destinados a la explotación agrícola. ( Cantón Quero)*. [masterThesis, Ecuador: Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi: Dirección de Posgrados.]. <http://localhost/handle/27000/7210>
- Jaramillo Chafuel, E. J. (2021). *Evaluación de cuatro tipos de trampas cromáticas en la captura del barrenador del tallo (melanagromyza sp.) en el cultivo de arveja (pisum sativum l.), en la comunidad Cuesaca, cantón Bolívar provincia del Carchi, Ecuador* [bachelorThesis]. <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/11594>
- Kaur, N., Kaur, J., Grewal, S. K., & Singh, I. (2019). Effect of Heat Stress on Antioxidative Defense System and Its Amelioration by Heat Acclimation and Salicylic Acid Pre-Treatments in Three Pigeonpea Genotypes. *Indian Journal of Agricultural Biochemistry*, 32(1), 106. <https://doi.org/10.5958/0974-4479.2019.00014.5>

- Kesawat, M. S., Satheesh, N., Kherawat, B. S., Kumar, A., Kim, H.-U., Chung, S.-M., & Kumar, M. (2023). Regulation of Reactive Oxygen Species during Salt Stress in Plants and Their Crosstalk with Other Signaling Molecules—Current Perspectives and Future Directions. *Plants*, 12(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/plants12040864>
- Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*, 18(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/molecules18022328>
- Koutouleas, A., Collinge, D. B., & Ræbild, A. (2023). Alternative plant protection strategies for tomorrow's coffee. *Plant Pathology*, 72(3), 409-429. <https://doi.org/10.1111/ppa.13676>
- Kowalczewski, P. Ł., Radzikowska, D., Ivanišová, E., Szwengiel, A., Kačániová, M., & Sawinska, Z. (2020). Influence of Abiotic Stress Factors on the Antioxidant Properties and Polyphenols Profile Composition of Green Barley (*Hordeum vulgare* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/ijms21020397>
- Laurentis, V. L. de [UNESP. (2017). *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae): tácticas para o manejo integrado. <http://hdl.handle.net/11449/148862>
- Leica Córdova, I. A. (2023). “Evaluación de las características químicas y biológicas en el tercer ciclo vegetativo con el cultivo de arveja (*Pisum sativum* L.) en cuatro diferentes tipos de mucho orgánicos para la conservación de suelos en la terraza 13, Salache 2023” [bachelorThesis, Ecuador : Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC)]. <http://localhost/handle/27000/10963>
- Lima, N. M., Falcoski, T. O., Silveira, R. S., Vieira, H. S., Santos, V. N. C., Ramos, R. R., Silva, J. C. D. P., Andrade, T. de J. A. D. S., Carli, A. e P., Costa, P. I., Porta, F. A. L., & Almeida, M. V. (2021). Efectividad de diferentes métodos para la extracción de principios activos y contenido de fitoquímicos en hierbas medicinales. *Boletín Latinoamericano y*

*del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 20(3), Article 3.

<https://doi.org/10.37360/blacpma.21.20.3.24>

Marles, M. S., Warkentin, T. D., & Bett, K. E. (2013). Genotypic abundance of carotenoids and polyphenolics in the hull of field pea (*Pisum sativum* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(3), 463-470. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5782>

Maxted, N., & Ambrose, M. (2001). Peas (*Pisum* L.). En N. Maxted & S. J. Bennett (Eds.), *Plant Genetic Resources of Legumes in the Mediterranean* (pp. 181-190). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-015-9823-1\\_10](https://doi.org/10.1007/978-94-015-9823-1_10)

Mihai, R. A., Espinoza Caiza, I. A., Melo Heras, E. J., Cubi Insuaste, N. S., Pinto Valdiviezo, E. A., & Catana, R. D. (2023). Does the Mineral Composition of Volcanic Ashes Have a Beneficial or Detrimental Impact on the Soils and Cultivated Crops of Ecuador? *Toxics*, 11(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/toxics11100846>

Mihai, R. A., Melo Heras, E. J., Terán Maza, V. A., Espinoza Caiza, I. A., Pinto Valdiviezo, E. A., & Catana, R. D. (2023). The Panoramic View of Ecuadorian Soil Nutrients (Deficit/Toxicity) from Different Climatic Regions and Their Possible Influence on the Metabolism of Important Crops. *Toxics*, 11(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/toxics11020123>

Minchala G., L., & Guamán I., M. (2004). *El cultivo de arveja en la Sierra Sur*. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/2326>

Mitidieri, M. S., & Francescangeli, N. (2013). *Curso Sanidad en cultivos intensivos 2013. Modulo 3. Batata, arveja y hortalizas de hoja: No hay sencillez que no esconda sus vueltas* [Info:ar-repo/semantics/libro]. Ediciones INTA. <https://repositorio.inta.gob.ar/handle/20.500.12123/2692>

- Molina, V. M., Ruiz, Y. R., & Espinoza, F. E. (2020). *PRINCIPALES INSECTOS PLAGAS EN EL CULTIVO DE ARVEJA (PISUM SATIVUM L.) EN LOS PREDIOS LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO*.  
<https://doi.org/10.5281/zenodo.4593626>
- Moreno Sotelo, V. D. (2019). *Determinación de la rentabilidad del cultivo de arveja (Pisum sativum L.) en la comunidad El Capulí, parroquia San José, cantón Montufar, provincia del Carchi, 2019* [bachelorThesis, El Angel:UTB,2019].  
<http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/6461>
- Naikoo, M. I., Dar, M. I., Raghieb, F., Jaleel, H., Ahmad, B., Raina, A., Khan, F. A., & Naushin, F. (2019). Chapter 9 - Role and Regulation of Plants Phenolics in Abiotic Stress Tolerance: An Overview. En M. I. R. Khan, P. S. Reddy, A. Ferrante, & N. A. Khan (Eds.), *Plant Signaling Molecules* (pp. 157-168). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816451-8.00009-5>
- Nair, S., Madembil, N., Nair, P., Raman, S., & Veerabadrappa, S. (2013). Comparative analysis of the antibacterial activity of some phytolectins. *International Current Pharmaceutical Journal*, 2. <https://doi.org/10.3329/icpj.v2i2.13192>
- Nazir, N., Nisar, M., Ahmad, S., Wadood, S. F., Jan, T., Zahoor, M., Ahmad, M., & Ullah, A. (2020). Characterization of phenolic compounds in two novel lines of *Pisum sativum* L. along with their in vitro antioxidant potential. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(7), 7639-7646. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07065-y>
- Nemanja S., S., Marija, I., Živko S., J., Tihomir, Č., Dragana Č, D., Maja M., N., Živoslav Lj, T., & Svetlana S., R. (2015). Identification of seed coat phenolic compounds from differently colored pea varieties and characterization of their antioxidant activity. *Archives of Biological Sciences*, 67(3), 829-840.

- Nithiyantham, S., Selvakumar, S., & Siddhuraju, P. (2012). Total phenolic content and antioxidant activity of two different solvent extracts from raw and processed legumes, *Cicer arietinum* L. and *Pisum sativum* L. *Journal of Food Composition and Analysis*, 27(1), 52-60. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.04.003>
- Nweze, C., Razaq, N., & Sani, H. (2018). *Phytochemical Profile and Free Radical Scavenging Activities of Methanol Extract of Green Pea*.
- Oerke, E.-C. (2006). Crop losses to pests. *The Journal of Agricultural Science*, 144(1), 31-43. <https://doi.org/10.1017/S0021859605005708>
- Olszowy, M., & Dawidowicz, A. L. (2018). Is it possible to use the DPPH and ABTS methods for reliable estimation of antioxidant power of colored compounds? *Chemical Papers*, 72(2), 393-400. <https://doi.org/10.1007/s11696-017-0288-3>
- Peralta I., E., Murillo I., A., Minchala G., L., & Pinzón Z., J. (1997). *INIAP-433 Roxana e INIAP-434 Esmeralda: Variedades mejoradas de arveja (Pisum sativum L.) de tipo decumbente para la Sierra ecuatoriana*. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/2581>
- Pereira, F. P., Reigada, C., Diniz, A. J. F., & Parra, J. R. P. (2019). Potential of Two Trichogrammatidae species for *Helicoverpa armigera* control. *Neotropical Entomology*, 48(6), 966-973. <https://doi.org/10.1007/s13744-019-00730-4>
- Pistolesi, M., Aravena, A., Costantini, L., Vigiani, C., Cioni, R., & Bonadonna, C. (2021). Explosive Behavior of Intermediate Magmas: The Example of Cotopaxi Volcano (Ecuador). *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 22(11), e2021GC009991. <https://doi.org/10.1029/2021GC009991>

- Rungruangmaitree, R., & Jiraungkoorskul, W. (2017). Pea, *Pisum sativum*, and Its Anticancer Activity. *Pharmacognosy Reviews*, 11(21), 39-42.  
[https://doi.org/10.4103/phrev.phrev\\_57\\_16](https://doi.org/10.4103/phrev.phrev_57_16)
- Sánchez, E., Vizcaino, G., Mejía, F., & Cipriani, I. (2018). Análisis mineralógico y multielemental de la ceniza volcánica, producto de la erupción del Cotopaxi en 2015, por difracción de rayos X (XRD) y espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) y sus posibles aplicaciones e impactos. *infoANALÍTICA*, 6(1), 9-23.
- Sánchez-Rangel, J. C., Benavides, J., Heredia, J. B., Cisneros-Zevallos, L., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2013). The Folin–Ciocalteu assay revisited: Improvement of its specificity for total phenolic content determination. *Analytical Methods*, 5(21), 5990-5999.  
<https://doi.org/10.1039/C3AY41125G>
- Sarmiento Moreno, C. E., & Zárate Galindo, H. E. (2019). *Manual de propagación y acondicionamiento de plántulas de arveja para establecimiento de cultivo*.  
<https://repositorio.sena.edu.co/handle/11404/7075>
- Shah, P., & Modi, H. (2015). *Comparative Study of DPPH, ABTS and FRAP Assays for Determination of Antioxidant Activity*.
- Shahrajabian, M. H., Sun, W., & Cheng, Q. (2021). Bioactive Components and Chemical Constituents of Some Important Legumes in Traditional Medicine. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 17, 30-45.
- Silvestrini, A., Meucci, E., Ricerca, B. M., & Mancini, A. (2023). Total Antioxidant Capacity: Biochemical Aspects and Clinical Significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(13), Article 13. <https://doi.org/10.3390/ijms241310978>

- Singh, G., Dwivedi, R., & Shukla, A. (2020). Study of Biology and Effective Management of Gram Pod Borer, *Helicoverpa armigera* Hub on Field Pea. En *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* (Vol. 9).  
<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.909.339>
- Singh, R. J., & Jauhar, P. P. (2005). *Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement: Grain Legumes, Volume I*. CRC Press.
- Sinjushin, A. A. (2014). Origin and variation of polymerous gynoeceia in Fabaceae: Evidence from floral mutants of pea (*Pisum sativum* L.). *Plant Systematics and Evolution*, 300(4), 717-727. <https://doi.org/10.1007/s00606-013-0915-6>
- Smýkal, P., Aubert, G., Burstin, J., Coyne, C. J., Ellis, N. T. H., Flavell, A. J., Ford, R., Hýbl, M., Macas, J., Neumann, P., McPhee, K. E., Redden, R. J., Rubiales, D., Weller, J. L., & Warkentin, T. D. (2012). Pea (*Pisum sativum* L.) in the Genomic Era. *Agronomy*, 2(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/agronomy2020074>
- Sopla Cotrina, I. R. (2023). Efecto del distanciamiento de siembra en el rendimiento de arveja (*Pisum sativum* L.) variedad Usui en Soloco, Chachapoyas, Amazonas—2022. *Universidad Politécnica Amazónica*.  
<http://repositorio.upa.edu.pe/handle/20.500.12897/206>
- Stanisavljević, N. S., Ilić, M. D., Matić, I. Z., Jovanović, Ž. S., Čupić, T., Dabić, D. Č., Natić, M. M., & Tešić, Ž. L. (2016). Identification of Phenolic Compounds from Seed Coats of Differently Colored European Varieties of Pea (*Pisum sativum* L.) and Characterization of Their Antioxidant and In Vitro Anticancer Activities. *Nutrition and Cancer*, 68(6), 988-1000. <https://doi.org/10.1080/01635581.2016.1190019>



- Suasnabar Astete, C., Marmolejo Gutarra, D., Torres Suárez, G., Munive Cerrón, R. V., Valverde Cadillo, A. A., & Gamarra Sánchez, G. (2021). *Cultivo de Arveja*. Universidad Nacional del Centro del Perú. <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/20.500.12894/7485>
- Thi, H. H. P., Nguyen, T. L., Thi, H. H. P., & Nguyen, T. L. (2021). Nutraceutical Properties of Legume Seeds: Phytochemical Compounds. En *Legumes Research—Volume 2*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.100171>
- Tiaiba, A., Derbali, M., & Bendahmane, B. S. (2018). In vitro effect of crude extracts from eight Algerian steppe plants on mycelial growth and sporulation of *Ascochyta pisi* Lib. *Anales de Biología*, 40, Article 40. <https://doi.org/10.6018/analesbio.40.13>
- Toro Zurita, D. S. (2022). *Evaluación de la cadena de comercialización del cultivo de arveja (pisum sativum) en el cantón Bolívar, provincia del Carchi, Ecuador* [masterThesis]. <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/12181>
- Tulbek, M. C., Lam, R. S. H., Wang, Y. (C. ), Asavajaru, P., & Lam, A. (2017). Chapter 9 - Pea: A Sustainable Vegetable Protein Crop. En S. R. Nadathur, J. P. D. Wanasundara, & L. Scanlin (Eds.), *Sustainable Protein Sources* (pp. 145-164). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00009-3>
- Vigliola, M. I. (2003). *Manual de horticultura / Marta Irene Vigliola* (Buenos Aires). Hemisferio Sur. [//www.bibliotecadonbosco.com.ar/2Findex.php%3Fp%3Dshow\\_detail%26id%3D7443%26keywords%3D](http://www.bibliotecadonbosco.com.ar/2Findex.php%3Fp%3Dshow_detail%26id%3D7443%26keywords%3D)
- Weller, J. L., Reid, J. B., Taylor, S. A., & Murfet, I. C. (1997). The genetic control of flowering in pea. *Trends in Plant Science*, 2(11), 412-418. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)85580-X](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)85580-X)

- Wu, D.-T., Li, W.-X., Wan, J.-J., Hu, Y.-C., Gan, R.-Y., & Zou, L. (2023). A Comprehensive Review of Pea (*Pisum sativum* L.): Chemical Composition, Processing, Health Benefits, and Food Applications. *Foods*, 12(13), Article 13. <https://doi.org/10.3390/foods12132527>
- Xiao, F., Xu, T., Lu, B., & Liu, R. (2020). Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, 1(1), 60-69. <https://doi.org/10.1002/fft2.10>
- Yadav, A., Singh, V., Yadav, A., Singh, H., Correspondence, A., & Yadav. (2020). Studies on succession of insect pest complex associated with pea at Bikaner. *JOURNAL OF ENTOMOLOGY AND ZOOLOGY STUDIES*, 7, 1606-1608.
- Yavuz, H. G. (2019). *Rheological and microstructural characterization of pea, lentil and almond protein gels* [Text, University of Illinois at Urbana-Champaign]. <https://hdl.handle.net/2142/106340>
- Zhen, J., Villani, T. S., Guo, Y., Qi, Y., Chin, K., Pan, M.-H., Ho, C.-T., Simon, J. E., & Wu, Q. (2016). Phytochemistry, antioxidant capacity, total phenolic content and anti-inflammatory activity of *Hibiscus sabdariffa* leaves. *Food Chemistry*, 190, 673-680. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.006>

## Apéndices