



**Evaluación del carácter antioxidante y de compuestos fitoquímicos implicados  
en la defensa de plantas del género *Musa* (*Cavendish Valery*) frente a la  
enfermedad del Moko causada por *Ralstonia Solanacearum* raza 2**

Terán Maza, Vanessa Aracelly

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología

Mihai, Raluca Alexandra, Ph. D

20 de agosto de 2022

# COPYLEAKS

Vanessa Terán \_ copyleaks.docx

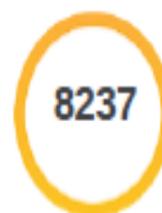
Scanned on: 14:17 August 30, 2022 UTC



Overall Similarity Score



Results Found



Total Words in Text

Identical Words	60
Words with Minor Changes	0
Paraphrased Words	224
Omitted Words	0



www.copyleaks.com

RALUCA  
ALEXANDRA



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

### Certificación

Certifico que el trabajo de titulación: “Evaluación del carácter antioxidante y de compuestos fitoquímicos implicados en la defensa de plantas del género *Musa* (Cavendish Valery) frente a la enfermedad del Moko causada por *Ralstonia Solanacearum* raza 2.” fue realizado por la señorita Vanessa Aracelly Terán Maza; 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, 30 de agosto del 2022



Firmado electrónicamente por:  
**RALUCA  
ALEXANDRA**

---

**Raluca Alexandra Mihai**

C. C: 1757487507



# ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

### Responsabilidad de autoría

Yo, **Vanessa Aracelly Terán Maza**, con C.C. 1717396384, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **"Evaluación del carácter antioxidante y de compuestos fitoquímicos implicados en la defensa de plantas del género *Musa* (*Cavendish Valery*) frente a la enfermedad del Moko causada por *Ralstonia Solanacearum* raza 2"** 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, 20 de agosto de 2022

Una firma manuscrita en tinta azul que parece decir 'Vanessa Aracelly Terán Maza'.

Vanessa Aracelly Terán Maza

C.C.: 1717396384



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

### Autorización de publicación

Yo, **Vanessa Aracelly Terán Maza**, con C.C. 1717396384, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: "Evaluación del carácter antioxidante y de compuestos fitoquímicos implicados en la defensa de plantas del género *Musa* (*Cavendish Valery*) frente a la enfermedad del Moko causada por *Ralstonia Solanacearum* raza 2" en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 20 de agosto de 2022



**Vanessa Aracelly Terán Maza**

C.C.: 1717396384

## **Dedicatoria**

Dedico la realización de esta tesis a mi familia, a mis padres Fausto Terán y Bertha Maza, a mis hermanos Sofía Terán y Omar David Terán que gracias al apoyo incondicional y con mucho esfuerzo se ve reflejado en la culminación de mi carrera.

A mi novio Williams por alentarme siempre y confiar en mí.

Sobre todo, a mí, subir mi confianza y ver que soy capaz de todo.

**Vanessa Aracelly Terán Maza**

## Agradecimientos

Agradezco a mis padres (Fausto y Bertha) porque sin ellos no podría verse culminado esta etapa como es la obtención de mi título universitario. Por ser mi apoyo incondicional y por seguir alentándome en los días en el que ya no podía continuar, incentivándome a seguir adelante y a cumplir mis sueños.

A mis hermanos, Sofía y David por hacer de mis días más alentadores. Por ellos, siendo mis más grandes ejemplos de perseverancia. Agradezco su paciencia, su cariño y su amor para soportar mis días tristes, los enojos, los llantos. Porque siempre se mantengan a mi lado.

Willy para ti mi amor, gracias por ser mi apoyo incondicional, siempre sentirte orgulloso de mí, ser siempre la persona que me alienta y que se encuentra dándome ánimos. Gracias por hacer de mis días más llevaderos y felices.

A mis amigos de la universidad, gracias por su acompañamiento, sus locuras, sus risas, sus noches de estudio, los viajes, las giras y sobre todo los momentos de estrés, los llevaré en mi corazón.

Tefa, Bachi y Danny para ustedes que son las mejores personas que pude conocer, espero que nuestra amistad sea eterna. Les agradezco mucho porque ustedes presenciaron mis momentos de estrés, preocupaciones y tristezas. Les adoro con todo mi corazón.

A la doctora Raluca Mihai, mi docente y mi tutora de tesis, muchas gracias querida profesora que sin usted esto no sería posible. Además de una maestra también se ha convertido en una amiga. Gracias por depositar la confianza en mí y brindarme la oportunidad de realizar este proyecto. Gracias porque aprendí de usted

que a pesar de las adversidades y tropiezos hay que seguir adelante con la mejor de las actitudes.

A todos los que formaron parte de mi vida universitaria, he disfrutado del proceso de la culminación de la carrera. Sin duda este camino me ha dejado muchas enseñanzas.

**Vanessa Aracelly Terán Maza**

## Índice de contenidos

Copyleaks .....	2
Certificación .....	3
Responsabilidad de autoría.....	4
Autorización de publicación.....	5
Dedicatoria.....	6
Agradecimientos .....	7
Índice de tablas.....	12
Índice de figuras .....	13
Índice de abreviaturas .....	15
Resumen.....	16
Abstract.....	17
Capítulo I: Introducción .....	18
Antecedentes .....	18
Justificación del problema .....	20
Sistema de Objetivos.....	22
Objetivo General .....	22
Objetivos específicos .....	22
Hipótesis .....	22
Capítulo II: Fundamentación teórica .....	23
Cultivo de Banano en el Ecuador .....	23
Taxonomía del Banano.....	23
Principales enfermedades bacterianas del Banano.....	24

	10
Enfermedad del Moko.....	25
Mecanismo de defensa de la planta.....	26
Metabolitos primarios .....	26
Metabolitos secundarios .....	27
Metabolitos de la banana.....	28
Actividad Antioxidante .....	29
Capítulo III: Metodología .....	31
Responsable del proyecto .....	31
Localización Geográfica .....	31
Periodo de investigación.....	31
Obtención y tratamiento de las muestras.....	31
Extracción de los principios activos.....	32
Determinación de la capacidad antioxidante por DPPH.....	32
Determinación de la capacidad antioxidante método FRAP .....	32
Determinación de la capacidad antioxidante método ABTS.....	33
Fenoles totales.....	34
Flavonoides.....	34
Análisis estadístico .....	34
Factores de estudio .....	34
Unidad experimental.....	35
Tratamientos .....	35
Esquema de análisis de varianza.....	36
Capítulo IV: Resultados.....	37

	11
Recolección de las muestras.....	37
Actividad Antioxidante .....	37
Determinación de la capacidad antioxidante método DPPH .....	37
Determinación de la capacidad antioxidante método ABTS.....	40
Determinación de la capacidad antioxidante método FRAP.....	43
Cuantificación de fenoles totales.....	46
Cuantificación de flavonoides.....	49
Correlación de Pearson entre las pruebas.....	52
Capítulo V: Discusión .....	54
Capítulo VI: Conclusiones y Recomendaciones.....	58
Bibliografía.....	60
Apéndices .....	68

**Índice de tablas**

Tabla 1 Clasificación taxonómica del plátano.....	24
Tabla 2 Diseño experimental factorial de la variedad <i>Cavendish</i> para la determinación de compuestos fitoquímicos.....	35
Tabla 3 Diseño experimental para la determinación del carácter antioxidante en plantas <i>Cavendish Valery</i> .....	35
Tabla 4 Esquema ANOVA para el diseño factorial 2x4 y 3x4 para la variedad <i>Cavendish Valery</i> .....	36
Tabla 5 Nomenclatura de las muestras estudiadas de la variedad <i>Cavendish Valery</i> .	37

## Índice de figuras

Figura 1 Porcentaje de inhibición de los cultivares <i>Cavendish Valery</i> por el método DPPH.....	38
Figura 2 Media descriptiva de la capacidad antioxidante método DPPH .....	38
Figura 3 ANOVA de la capacidad antioxidante por el método DPPH.....	39
Figura 4 Prueba Tukey para la capacidad antioxidante por el método de DPPH .....	39
Figura 5 Comparación de medias entre plantas sanas y enfermas de la variedad <i>Cavendish Valery</i> en la actividad antioxidante por el método de DPPH .....	40
Figura 6 Porcentaje de inhibición de los cultivares <i>Cavendish Valery</i> por el método ABTS.....	41
Figura 7 Media descriptiva de la capacidad antioxidante método ABTS.....	41
Figura 8 ANOVA de la capacidad antioxidante por el método ABTS .....	42
Figura 9 Prueba Tukey para la capacidad antioxidante por el método ABTS .....	42
Figura 10 Comparación de medias entre plantas sanas y enfermas de la variedad <i>Cavendish Valery</i> en la actividad antioxidante por el método ABTS .....	43
Figura 11 Porcentaje de inhibición del cultivar <i>Cavendish Valery</i> por el método FRAP .....	44
Figura 12 Media descriptiva de la capacidad antioxidante método FRAP.....	44
Figura 13 ANOVA de la capacidad antioxidante por el método FRAP .....	45
Figura 14 Prueba Tukey para la capacidad antioxidante por el método FRAP.....	45
Figura 15 Comparación de medias entre plantas sanas y enfermas de la variedad <i>Cavendish Valery</i> en la actividad antioxidante por el método FRAP .....	46
Figura 16 Contenido de fenoles del cultivo <i>Cavendish Valery</i> por el método Folin Ciocalteu.....	47
Figura 17 Media descriptiva del contenido de fenoles totales.....	47
Figura 18 ANOVA del contenido de fenoles totales .....	48
Figura 19 Prueba Tukey para el contenido de fenoles totales.....	48

Figura 20 Comparación de medias entre plantas sanas y enfermas de la variedad <i>Cavendish Valery</i> en el contenido de fenoles.....	49
Figura 21 Contenido de flavonoides del cultivar <i>Cavendish Valery</i> por el método $AlCl_3$ .....	50
Figura 22 Media descriptiva del contenido de flavonoides totales.....	50
Figura 23 ANOVA del conteido de flavonoides totales.....	51
Figura 24 Prueba Tukey para el contenido de flavonoides totales .....	51
Figura 25 Comparación de medias entre plantas sanas y enfermas de la variedad <i>Cavendish Valery</i> en el contenido de flavonoides.....	52
Figura 26 Valores obtenidos de la correlación entre los métodos para determinar la actividad antioxidante y los compuestos fitoquímicos .....	53

### Índice de abreviaturas

**DPPH** 2,2-difenil-1-picrilhydracilo

**ABTS** ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)

**FRAP** Poder antioxidante reductor férrico

**GAE** Equivalente de ácido gálico

**MS** muestra seca

**ROS** Especies reactivas de oxígeno

**TEAC** Capacidad antioxidante equivalente a Trolox

**mM** Concentración expresada en milimolar

**L** Litro

**mL** mililitro

**nm** nanómetros

## Resumen

Las plantas del género *Musa* como es el banano ocupa el primer lugar en variedades de frutas producidas y más comercializada. Debido a esto las plantas son susceptibles a patógenos como hongos, virus o bacterias. El presente trabajo estudió la capacidad antioxidante y los compuestos fitoquímicos de plantas del género *Musa* estado vegetativo y de fructificación que presentaban sintomatología de la enfermedad del Moko, a su vez se compararon con plantas sanas. Los métodos para la determinación de la actividad antioxidante fueron la prueba de DPPH, prueba de ABTS y prueba FRAP, para la determinación de los compuestos fitoquímicos fueron la evaluación de fenoles mediante la prueba de Folin Ciocalteu y la evaluación de flavonoides por el método colorimétrico  $AlCl_3$ . Los resultados arrojaron que las muestras con más alto contenido de fenoles y flavonoides, así como la actividad antioxidante fueron FMR2 y VMR1 presentando un porcentaje de inhibición del 53.109% y 38.54% para la prueba de ABTS, 75.45% y 69.54% para la prueba de DPPH, la capacidad reductora 1376,75 mg  $Fe_2SO_4/L$  y 597,18 mg  $Fe_2SO_4/L$ . En el contenido de fenoles totales se obtuvo 0,51 mg GAE/g muestra fresca y 1,15 mg GAE/g muestra fresca para VMR1 y FMR2 respectivamente. Para el contenido de flavonoides totales 3,37 mg Quercetina/ g muestra fresca y 13,63 mg Quercetina/ g muestra fresca correspondientes a VMR1 y FMR2. Esto se debe a que la planta aumenta la síntesis de metabolitos secundarios como estrategia para su defensa contra la enfermedad. Los metabolitos secundarios también pueden variar su contenido por el estado de desarrollo que se encuentra la planta, la planta en estado vegetativo utilizará la fotosíntesis y los procesos de captura de carbono para la síntesis de metabolitos secundarios que se almacenarán en los diferentes tejidos vegetales.

*Palabras clave:* plantas del género *Musa*, actividad antioxidante, compuestos fitoquímicos, mecanismo de defensa

### Abstract

Plants of the *Musa* genus, such as bananas, are the most widely produced and marketed varieties of fruit. Because of this, plants are susceptible to pathogens such as fungi, viruses or bacteria. The present work studied the antioxidant capacity and phytochemical compounds of plants of the *Musa* genus in vegetative and fruiting stages that showed symptoms of Moko disease, and compared them with healthy plants. The methods for the determination of antioxidant activity were the DPPH test, ABTS test and FRAP test, for the determination of phytochemical compounds were the evaluation of phenols by the Folin Ciocalteu test and the evaluation of flavonoids by the  $AlCl_3$  colorimetric method. The results showed that the samples with the highest content of phenols and flavonoids, as well as antioxidant activity were FMR2 and VMR1 presenting an inhibition percentage of 53.109% and 38.54% for the ABTS test, 75.45% and 69.54% for the DPPH test, the reducing capacity 1376.75 mg  $Fe_2SO_4/L$  and 597.18 mg  $Fe_2SO_4/L$ . For total phenol content, 0.51 mg GAE/g fresh sample and 1.15 mg GAE/g fresh sample were obtained for VMR1 and FMR2, respectively. For total flavonoid content 3.37 mg Quercetin/g fresh sample and 13.63 mg Quercetin/g fresh sample corresponding to VMR1 and FMR2. This is due to the fact that the plant increases the synthesis of secondary metabolites as a strategy for its defense against disease. Secondary metabolites can also vary in content depending on the stage of development of the plant; the plant in vegetative stage will use photosynthesis and carbon sequestration processes for the synthesis of secondary metabolites that will be stored in the different plant tissues.

*Key words:* plants of the genus *Musa*, antioxidant activity, phytochemical compounds, defense mechanism.

## Capítulo I: Introducción

### Antecedentes

Las plantas del género *Musa* ocupan el primer lugar en variedad de frutas producidas, cultivadas en más de 100 países del trópico y subtrópico como África, Asia, América Latina y regiones del Caribe; constituyen una de las frutas más importante en el mundo con una producción de más de 100 millones de toneladas métricas en el año 2019 (Frison *et al.*, 2004; Shahbandeh, 2021). Aunque es un alimento básico en la vida diaria, solo el 13% de la fruta producida se comercializa internacionalmente (Lescot, 2013). En el año 2018, de acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2019), el Ecuador es el mayor exportador mundial de banano con 6.45 millones de toneladas, seguido de Filipinas y Guatemala con 3.87 y 2.35 millones de toneladas respectivamente..

Independientemente del manejo del cultivo, la pérdida de rendimiento y baja productividad de la fruta es causada por varios factores, entre ellos la presencia de plagas y enfermedades (Blomme *et al.*, 2017). Durante el proceso de obtención del banano, la planta puede ser afectado por hongos, virus y bacterias. Las enfermedades fúngicas y el marchitamiento causado por *Fusarium* son considerados como las amenazas más importantes en la producción de plantas del género *Musa*. Sin embargo, las matas son susceptibles a otros patógenos no fúngicos provocando grandes pérdidas económicas en el sector agropecuario (Blomme *et al.*, 2017; Teng *et al.*, 2019).

En América Central, el Caribe y América del Sur, la industria bananera contribuye con la generación de fuentes de trabajo y la seguridad alimentaria (Alvarez *et al.*, 2015). En el siglo XIX, se dieron los primeros registros de la devastación de cultivos de banano generados por una enfermedad bacteriana en Guyana y Trinidad. Para 1960, Centroamérica, Colombia y la Amazonía peruana evidenciaron la destrucción de las plantaciones de banano. La causa de la pérdida de los cultivos fue

la enfermedad del Moko, que actualmente se encuentra en casi todos los países de América Central y América del Sur (Alvarez *et al.*, 2015).

La enfermedad del Moko es causada por la bacteria *Ralstonia solanacearum* raza 2 Smith (antes *Pseudomonas solanacearum*). Shomburk realizó los primeros registros de la enfermedad en 1840. Años después, Edwin F. Smith caracterizó la enfermedad, así como el patógeno (OECD, 2010; SENASICA, 2019).

El marchitamiento bacteriano provocado por *Ralstonia Solanacearum* ha causado graves pérdidas en plantaciones grandes como pequeñas. Se ha demostrado que el patógeno ingresa a la planta a través de daños mecánicos o realizados por insectos, penetra el sistema radical o pseudotallo por medio de heridas. Al ingresar, la bacteria obstruye los haces vasculares induciendo la pérdida de agua y nutrientes, causando finalmente la muerte de la planta (AGROCALIDAD, 2015). La dispersión de la bacteria se da a través de herramientas contaminadas, corrientes de agua, por plantas infectadas, así como animales y el ser humano (Mejía-Lotero *et al.*, 2016).

En el Caribe, América Central y América del Sur, el estudio del control y prevención de la enfermedad tiene una gran importancia. En el Ecuador, el primer reporte de la enfermedad del Moko se presentó en el año 2013 en Manabí. Dicho reporte describió que las plantaciones de barraganete presentaban necrosis en el tejido vascular de rizomas y pseudotallos; además, de la pudrición de los frutos (Delgado *et al.*, 2014).

Las medidas fitosanitarias aplicadas van desde el monitoreo y muestreo de la plaga hasta la utilización del control químico, control genético, cultural y a través de programas de vigilancia epidemiológica implementados por entidades como el Ministerio de Agricultura y Ganadería. La detección temprana del patógeno produce una disminución en la diseminación y dispersión de la bacteria (AGROCALIDAD, 2015).

Actualmente, no existe un método de erradicación de la enfermedad sino medidas de prevención. Las medidas incluyen la utilización de semillas sanas, la desinfección de las herramientas de trabajo, identificación de las plantas infectadas, la señalización y el aislamiento de la plantas (Alvarez *et al.*, 2015).

### **Justificación del problema**

El cultivo de banano (*Musa AAA*) en el Ecuador constituye una actividad de gran importancia económica. Un tercio de las exportaciones mundiales se origina en el Ecuador, representando el 3.84 % del PIB total y el 50% del PIB agrícola (INIAP, 2015). Según reportes del Ministerio de Agricultura y Ganadería, el país tiene plantado una superficie de 190.381 hectáreas de banano con una producción de 6.583.477 millones de toneladas, siendo la provincia de El Oro la zona de mayor producción (Aguilar *et al.*, 2021; Ministerio de Comercio Exterior, 2017). Por lo cual, el cultivo del plátano genera una importante fuente de trabajo, considerándose el 12% de la población económicamente activa; es decir, cerca de 400.000 plazas directas (Morales *et al.*, 2020).

La problemática del cultivo de plantas de la familia Musaceae es que presentan susceptibilidad a enfermedades y plagas lo que disminuye el rendimiento en más de un 50%. La incidencia de la enfermedad puede ocasionar la muerte de las plantas afectando el sistema vascular, radical o la calidad del fruto (INIAP, 2015). Una de las enfermedades con mayor relevancia económica es el Moko del plátano causado por la bacteria *Ralstonia solanacearum* raza 2 (Smith), debido a su persistencia en campo, a su amplia gama de hospederos, su fácil diseminación puede afectar a una variedad de cultivos bajando la producción y el rendimiento (Vera-Aviles *et al.*, 2020). Esta enfermedad en musáceas induce el marchitamiento que inicia con el amarillamiento y el colapso de las hojas jóvenes, progresa hacia las hojas más viejas e internamente en los tejidos vasculares que posteriormente se tornan necróticos, especialmente en la

zona central del pseudotallo. Finalmente, los frutos inmaduros infectados muestran un color amarillo y pudrición seca de la pulpa (Ricardo, 2021).

En el Ecuador, la enfermedad del Moko se ha establecido como una amenaza para los productores, exportadores y demás personas constituidas en la cadena productiva. La presencia de esta condición en musáceas se ha detectado principalmente en provincias de Sucumbíos, Manabí y Esmeraldas, siendo el cantón el Carmen de la provincia de Manabí la zona más afectada (Delgado *et al.*, 2014).

Si bien es cierto que los productores poseen los conocimientos para manejar niveles de infección mediante procedimientos de bajo costo. La aparición del Moko del plátano se convierte en un problema grave por la falta de recursos eficaces y la facilidad de diseminación de la enfermedad; por lo que, resulta difícil controlar y contener la infección (Vera-Aviles *et al.*, 2020). Muchos agricultores reportan hasta una pérdida del 100% de los cultivos, debido a que afecta a todos los estados de desarrollo de la planta (SENASICA, 2019).

Sin embargo, se han realizado estudios en donde se puede verificar la presencia de cambios bioquímicos que ofrecen resistencia a la patogénesis. Estos cambios funcionan como una respuesta a la infección; pueden presentarse modificaciones como el refuerzo de la biosíntesis de la lignina, inducción de proteínas, producción de fitoalexinas desempeñando un papel fundamental contra herbívoros y patógenos (Hidalgo *et al.*, 2016).

Por las mismas razones se da la importancia del estudio del análisis del carácter antioxidante y compuestos fitoquímicos implicados en la defensa de plantas del género *Musa* (*Cavendish Valery*) frente a la enfermedad del Moko. La investigación permitirá el desarrollo de nuevas estrategias, aportará con nuevos conocimientos en la búsqueda de soluciones biotecnológicas que involucran compuestos de la propia defensa de la planta para el tratamiento agrícola, con el objetivo de generar resistencia

hacia la bacteria *Ralstonia Solanacearum* raza 2, causante de la enfermedad del Moko.

## **Sistema de Objetivos**

### ***Objetivo General***

Evaluar el carácter antioxidante y los compuestos fitoquímicos implicados en la defensa del género *Musa* (*Cavendish Valery*) frente a la enfermedad del Moko causada por *Ralstonia Solanacearum* raza 2.

### ***Objetivos específicos***

- Recolectar muestras de cultivares *Musa* de la variedad *Cavendish Valery* en diferentes estados de desarrollo (estado vegetativo y fructificación) con sintomatología de la enfermedad del Moko.
- Evaluar los compuestos fitoquímicos implicados en la defensa en función del estado fisiológico de la planta con sintomatología de la enfermedad del Moko mediante el ensayo Folin-Ciocalteu y el método colorimétrico de  $AlCl_3$ .
- Evaluar el carácter antioxidante de extractos aislados de musáceas mediante el método DPPH, ABTS y FRAP.
- Comparar el carácter antioxidante y los compuestos fitoquímicos de plantas del género *Musa* que presentan la enfermedad del Moko mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

## **Hipótesis**

El carácter antioxidante y los compuestos fitoquímicos se encuentran implicados en la defensa de plantas del género *Musa* frente a la enfermedad del Moko causada por *Ralstonia Solanacearum* raza 2.

## Capítulo II: Fundamentación teórica

### Cultivo de Banano en el Ecuador

Un tercio de las exportaciones mundiales se origina en el Ecuador representando un 3.84% del PIB total, generando y beneficiando a más de 2.5 millones de personas en nueve provincias que dependen de la industria bananera. Este sector productivo representa un eje central en la actividad económica debido a la entrada de ingresos y las oportunidades de empleo (INIAP, 2015; Ministry on International trade, 2017).

De acuerdo con el registro del Ministerio de Agricultura y Ganadería el 78% de todos los productores de banano en el país son pequeños productores, lo cual sumado a los medianos productores dan un total del 95.6% del total de la producción que se encuentran involucrados en esta industria (Ministry on International trade, 2017).

Los productores de banano se encuentran concentrados principalmente en las provincias de El Oro, Guayas y Los Ríos, produciendo 41%, 34% y 16% respectivamente. La provincia de El Oro se considera la zona de mayor producción (Ministerio de Comercio Exterior, 2017).

El mercado del banano en el Ecuador se caracteriza por 13 empresas exportadoras que concentran los mayores volúmenes de ventas, entre ellas se encuentran UBESA, PACIFIC CROWN FRUIT, Banana continental, Fruitstylelife y Reybanpac, que en conjunto suman el 40% de las exportaciones (Borja, 2016).

### Taxonomía del Banano

Los plátanos y las bananas pertenecen al género *Musa* en la familia Musaceae, orden Zingiberales como se observa en la Tabla 1 adaptada de Pillay & Tripathi (2007). El género *Musa* abarca a todas las especies comestibles divididas en 5 secciones Australimusa, Callimusa, Rhodochlamys, Eumusa e Ingentimusa con más de 50 especies que varían en los cromosomas básicos.

**Tabla 1***Clasificación taxonómica del plátano*

<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Liliopsida
<b>Subclase</b>	Zingiberidae
<b>Orden</b>	Zingiberales
<b>Familia</b>	Musaceae
<b>Género</b>	<i>Musa</i>
<b>Especie</b>	<i>Musa acuminata</i>

*Nota.* Adaptado de Banana en C. Kole (Ed.), *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants*, (p. 282), por M. Pillay, L. Tripathi, 2007, Springer

Eumusa es la sección más diversificada en donde se encuentra las especies comestibles. La mayoría de las especies de esta sección provienen del cruce intraespecífico e interespecífico entre *Musa acuminata* (genoma A) y *Musa balbisiana* (genoma B). Generalmente los bananos comestibles se derivan de una especie diploide o de sus híbridos diploides o triploides con otra especie diploide (OECD, 2010; Pillay & Tripathi, 2007).

Las plantas del género *Musa* más importantes para el comercio son los del subgrupo *Cavendish* que abarcan especies triploides AAA, entre los cultivares se encuentra “*Grande Naine*”, “*Williams*”, “*Valery*”, “*Robusta*”, “*Poyo*” y “*Dwarf Cavendish*”. Estos cultivares abastecen el 95% del comercio de exportación mundial (OECD, 2010).

**Principales enfermedades bacterianas del Banano**

Las enfermedades bacterianas del banano suponen una gran amenaza para las variedades triploides, son susceptibles al marchitamiento bacteriano. Entre las

enfermedades que afectan al banano pueden clasificarse en tres categorías: 1) Marchitez por *Xanthomonas* causada por *Xanthomonas vasicola* pv. *Musacearum*; 2) Enfermedades asociadas a *Ralstonia* (enfermedad de Moko/Bugtok y enfermedad de la sangre del banano) causadas por el complejo de especies *Ralstonia solanacearum* y *Ralstonia syzygii* subsp. *Celebesensis*; 3) Enfermedades asociadas a *Erwinia* (pudrición de la cabeza bacteriana o enfermedad del vuelco, y pudrición húmeda del rizoma bacteriano y del pseudotallo) causadas por *Pectobacterium carotovora* ssp. *Carotovora*; y *Dickeya paradisiaca*. Además, existen otras enfermedades bacterianas de menor importancia como la marchitez vascular javanesa, la marchitez bacteriana del abacá y la pudrición bacteriana de la punta de los dedos (Premabati & De Mandal, 2020).

### **Enfermedad del Moko**

El Moko del banano es una marchitez vascular que afecta a las plantas del género *Musa* ocasionada por bacterias del filotipo 2 (raza 2) de *Ralstonia Solanacearum* (OECD, 2010). La bacteria fitopatógena es considerada como una de las más destructivas del mundo, debido a que posee un rango de hospedadores muy amplio infectando a 200 especies de plantas en más de 50 familias (Mansfield *et al.*, 2012).

La enfermedad puede presentarse en cualquier estado fisiológico de la planta. El patógeno ingresa a través de heridas naturales o aquellas realizadas mecánicamente. El Moko induce un marchitamiento que inicia con el amarillamiento y el colapso de las hojas jóvenes; se debe al taponamiento de los haces vasculares del pseudotallo, producto del crecimiento bacteriano y de la acumulación de polisacáridos bacterianos. La bacteria utiliza los vasos conductores para dispersarse y multiplicarse (AGROCALIDAD, 2015; SENASICA, 2019).

Además del ataque a los vasos del xilema, hay una degradación de la pared celular de los vasos conductores y del parénquima; así como la invasión del floema y

del tejido cortical, lo que impide que llegue la suficiente agua a las hojas debido a la disfunción vascular (Blomme *et al.*, 2017).

Cabe señalar que el periodo de inoculación de la bacteria en relación con la aparición de los síntomas puede durar entre 6 semanas a los 3 meses, o más. Cuando la infección se da por métodos mecánicos, las plantas desarrollaron los síntomas en días anteriores comparados con especímenes inoculadas o infectadas por insectos. La inoculación a nivel de rizomas no presenta desarrollo de la enfermedad pero si permanece latente (SENASICA, 2019).

### **Mecanismo de defensa de la planta**

Las plantas a pesar de ser atacadas por una variedad de organismos logran sobrevivir. La supervivencia de las plantas se encuentra asociada con su capacidad de utilizar mecanismos de defensa que ralentizan el progreso del patógeno, alejan o incluso matan al invasor. Estas repuestas pueden incluir mecanismos estructurales y compuestos bioquímicos (Walters, 2010).

### ***Metabolitos primarios***

Las plantas presentan modificaciones morfológicas, moleculares y bioquímicas al verse afectadas por agentes bióticos y abióticos. Su conservación depende de la inmunidad innata que se encuentra compuesta por respuestas de defensa preformadas e inducidas. Las respuestas preformadas son inespecíficas e incluyen compuestos con propiedades antimicrobianas o barreras estructurales (pared celular y modificación del citoesqueleto). El reconocimiento de los patrones moleculares asociados a patógenos (PAM) activan las respuestas inducidas, ya que se encuentran en la superficie del patógeno (Rojas *et al.*, 20).

Se sabe que durante las interacciones planta – patógeno, la planta necesita de energía celular para desarrollar la respuesta de defensa, siendo la energía fundamental en la ejecución de los procesos de protección de la planta con la

expresión de genes a través de rutas metabólicas primarias (Rojas *et al.*, 2014). Los metabolitos primarios realizan su función como moléculas de señalización para desencadenar la respuesta de defensa mediante la transducción de señales y los procesos de reconocimiento del patógeno, interviniendo en la respuesta primaria mediante la regulación de carbohidratos, proteínas y lípidos en la infección por patógenos (Zaynab *et al.*, 2019).

La protección contra las bacterias comienza desde los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) hasta la inmunidad activada por las PAMP y la inmunidad activada por el efector. En consecuencia, la identificación por medio de las PAMP es eficaz y evita el establecimiento de la enfermedad en el huésped. La inmunidad activada por el efector desencadena una cascada de señalización como la activación de la resistencia sistémica adquirida; así como la producción de las proteínas relacionadas con la patogénesis (Zaynab *et al.*, 2019).

### ***Metabolitos secundarios***

Los principios bioactivos producidos por las plantas no cumplen un rol importante en la vida primaria. La planta produce una diversidad de productos bioactivos o metabolitos secundarios que se encuentran involucrados en procesos de defensa contra depredadores y microorganismos, otros en defensa contra agentes abióticos y procesos de comunicación con otros organismos (Mazid *et al.*, 2011). Los metabolitos secundarios más importantes son los fenoles, terpenos y compuestos que contienen nitrógeno y sulfuro (Zaynab *et al.*, 2018).

En el sistema de defensa de las plantas los compuestos ampliamente distribuidos tenemos a los fenilpropanoides y los flavonoides. Los compuestos fenólicos contienen un grupo hidroxilo, el cual forma enlaces iónicos y enlaces de hidrógeno con péptidos y protones, como resultado se tiene una alta astringencia y desnaturalización. Los metabolitos secundarios también se encuentran implicados en la formación de enlaces covalentes con los grupos SH, OH o amino libres; en

consecuencia, va a existir una pérdida de función por parte de la proteína o un efecto en el recambio proteico (Zaynab *et al.*, 2018).

### **Metabolitos de la banana**

Las plantas producen una diversidad de productos naturales o de metabolitos secundarios con su función predominante en la protección de depredadores y patógenos microbianos. Las plantas del género *Musa* pueden presentar un bajo rendimiento y producción por la presencia de enfermedades y plagas.

La investigación entre la interacción planta – patógeno permitirá a los científicos comprender la respuesta fisiológica desencadenada por la planta. Estos estudios generarán el desarrollo de nuevas estrategias para combatir organismos patógenos, disminuir los efectos negativos y el control eficiente de la enfermedad. (Hidalgo *et al.*, 2016). La producción de metabolitos secundarios tiene la funcionalidad de dar la protección contra el estrés ambiental y actuar como defensa (Isah & Isah, 2019).

Existen estudios acerca de mecanismos de defensa del banano frente a hongos, bacterias, nemátodos mediante la producción de compuestos bioactivos. Los metabolitos secundarios como los compuestos lipídicos, fitoalexinas destacan por su capacidad nematicida, antifúngica y bactericida. Un compuesto nemastostático es la fenilfenalona anigorufona con características bioactivas frente a nemátodos, como *Radpholus similis* (Hölscher *et al.*, 2014).

*Mycospherella fijiensis* es un hongo que afecta la nutrición biotrófica inicial; realiza una penetración estomatal y genera un esparcimiento intracelular. Las plantas que presentan una alta resistencia se debe a los mecanismos de defensa, en donde se ha localizado una acumulación de compuestos fenólicos (Torres *et al.*, 2009). Además, diversos estudios confirman un aumento de la actividad enzimática de fenilalanina amonio liasa,  $\beta$  -1, 3 glucanasa y peroxidasa como una respuesta frente al

ataque del patógeno. Entre los mecanismos, la enzima se encuentra involucrada en la ruta fenilpropanoide en la biosíntesis de varios compuestos fenólicos con la capacidad de hidrolizar uno de los principales componentes de las células fúngicas ( $\beta$ -1, 3-glucan) e implicado en la biosíntesis de lignina (Sánchez-García *et al.*, 2009; Torres *et al.*, 2009).

### **Actividad Antioxidante**

Hoy en día los consumidores optan por alimentos con altos contenidos de nutrientes como las vitaminas, minerales, antioxidantes con el fin de prevenir enfermedades. Especialmente las frutas y las verduras destacan por su versatilidad, su bajo costo y alto valor energético.

Las plantas del género *Musa* son una fuente de antioxidantes, como compuestos fenólicos y minerales. Muchos estudios recalcan sus componentes con capacidades antiulcerogénicos, antihipertensivos y anticancerígenos; así como el contenido de vitaminas A, B, C y E,  $\beta$ - caroteno, catequinas, ligninas, taninos y antocianinas (compuestos fenólicos) (Borges *et al.*, 2020).

Los antioxidantes inhiben la propagación de las reacciones oxidativas, detienen la cadena neutralizando los radicales libres. Los radicales libres se convierten en moléculas menos dañinas y reparan el daño oxidativo; por lo tanto, previenen la oxidación celular como mecanismo de protección (Lopes *et al.*, 2020).

La propiedad antioxidante de las musáceas se debe a la cantidad de compuestos fenólicos presentes en la planta, siendo los bioactivos más predominantes los flavonoides. Los flavonoides presentan actividad antiinflamatoria, antitumoral, hepatoprotectora y antioxidante debido a la disminución de los radicales libres de oxígeno y la inhibición de las enzimas oxidativas que producen las especies reactivas de oxígeno (ROS) (Lopes *et al.*, 2020).

Entre los métodos aplicados para la determinación de la capacidad oxidativa de las frutas y verduras frescas utilizados para estudios incluyen el ácido 2,2'-azino-bis-3-etil-benzotiazolina-6-sulfónico (ABTS), 2,2-difenil-1-piril hidrazilo (DPPH), el poder antioxidante reductor férrico (FRAP), la capacidad antioxidante de trolox (TEAC), la capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC), entre otros (Rajurkar *et al.*, 2011; Thaipong *et al.*, 2006).

### **Capítulo III: Metodología**

#### **Responsable del proyecto**

La responsable del proyecto es la señorita Vanessa Aracelly Terán Maza, estudiante de la carrera de Ingeniería en Biotecnología de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.

#### **Localización Geográfica**

El presente proyecto de investigación se desarrollará en las instalaciones del Laboratorio CICTE en la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, ubicado Av. General Rumiñahui s/n y Ambato, Código postal 171103, Cantón Rumiñahui, Provincia de Pichincha.

#### **Periodo de investigación**

El proyecto contempló los meses, desde ABRIL de 2022 hasta JULIO 2022, con una duración de 4 meses.

#### **Obtención y tratamiento de las muestras**

Las plantas recolectadas se realizaron en la Estación Experimental INIAP Santo Domingo con coordenadas 0.0837877, - 79.4424531. Las muestras se trasladaron en una hielera hasta el laboratorio ubicado en Sangolquí.

Al llegar al laboratorio las muestras frescas se colocaron en tubos Falcon de 50 ml en una relación de 5 g de muestra fresca por 25 mL del solvente, en este caso se utilizó Etanol.

Para determinar la relación del carácter antioxidante y los compuestos fitoquímicos implicados en la defensa de las plantas frente a la enfermedad del Moko, se obtuvieron muestras en diferentes estados de desarrollo de la planta que consiste en la fase vegetativa y de fructificación

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

Para la extracción de los principios activos se utilizó el método de Zhang y colaboradores (2018).

Las muestras frescas colocadas en los tubos Falcon con etanol como solvente, se esperó a que el solvente penetre en la matriz sólida hasta recoger los metabolitos secundarios al permanecer dos días de reposo. Después del tiempo transcurrido se procedieron a realizar las pruebas para su posterior análisis.

### **Determinación de la capacidad antioxidante por DPPH**

El estudio de la capacidad antioxidante por DPPH se basó en el protocolo establecido por Sachett y colaboradores (2021) y se modificó en base al protocolo establecido por Thaweasang (2019), en el que consiste en preparar una solución stock de DPPH a una concentración de 0,1 µg/L. La solución de DPPH se añadirá de 2 mL en cada uno de los tubos de ensayo que contienen 0,1 mL de la muestra de los extractos crudos. Los tubos se incubarán durante 30 minutos en la oscuridad.

La absorbancia será tomada a una longitud de onda de 517 nm utilizando un espectrofotómetro. El control deberá contener etanol en lugar de solución antioxidante y el blanco, etanol en lugar de la solución de DPPH. El porcentaje de barrido del radical libre de DPPH se calculará utilizando la siguiente ecuación:

$$\%inhibición = \frac{A_c - A_s}{A_c} * 100 \quad (1)$$

Donde,

Ac = absorbancia del control

As = absorbancia de la muestra

### **Determinación de la capacidad antioxidante método FRAP**

La determinación del poder antioxidante reductor férrico se establecerá en base al método utilizado por Rajurkar (2011).

La solución FRAP se preparará mezclando tampón acetato 300 mM (pH 3,6) 100 mL de TPTZ en HCl 40 mM y  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  20 mM en la proporción de 100:10:10 a 37°C.

Para la reacción se pipeteará un volumen de 3 mL del reactivo FRAP y se mezclará con 100  $\mu\text{L}$  de la muestra y 300  $\mu\text{L}$  de agua destilada. Los resultados se estimarán espectrofotométricamente midiendo el cambio de absorbancia a 593 nm utilizando la ecuación 2. La incubación será de 30 minutos a 37°C. La curva de calibración será realizada trazando la absorbancia a 593 nm frente a concentraciones variables de  $\text{FeSO}_4$  (0 mM a 1000 mM). Los valores de FRAP se expresarán como  $\text{mmol Fe}^{2+}/\text{g}$  de muestra (Dudonné *et al.*, 2009).

$$\%inhibición = \frac{A_c - A_s}{A_c} * 100 \quad (2)$$

Donde,

$A_c$  = absorbancia del control

$A_s$  = absorbancia de la muestra

### **Determinación de la capacidad antioxidante método ABTS**

Para la determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS se basará en un estudio realizado por Kuskoski y colaboradores (2005).

El radical  $\text{ABTS}^{*+}$  se obtendrá tras la reacción de ABTS (7mM) con persulfato potásico (2,45 mM). Posteriormente, la solución se deja incubar por un tiempo entre 12 – 24 horas para diluirla en etanol absoluto hasta obtener una absorbancia de  $0,7 \pm 0,1$  a 754 nm. Para determinar la capacidad inhibitoria de la absorbancia del blanco se debe reaccionar 2 mL de solución ABTS con 20  $\mu\text{L}$  de muestra Trolox durante 7 minutos a temperatura ambiente y oscuridad; el blanco será etanol absoluto. La curva de calibración será utilizando el reactivo Trolox en un gradiente de concentración.

### **Fenoles totales**

Los compuestos fenólicos totales se determinarán mediante el método colorimétrico Folin-Ciocalteu según el método descrito por Thaweasang (2019).

El establecimiento de los fenoles totales se demostrará al añadir 0,4 mL de la solución de los extractos con el reactivo Folin-Ciocalteu al 10% v/v (2mL) y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 7,5 % (1,6 mL). Se incubará las muestras por 30 minutos a temperatura ambiente, las absorbancias se medirán a 765 nm utilizando el espectrofotómetro. Para la curva de calibración se utilizará ácido gálico y los compuestos fenoles totales se calcularán como equivalentes de ácido gálico (EAG), se expresarán como µg EAG/g de extracto.

### **Flavonoides**

El contenido de flavonoides se basará en el método descrito por Sun Youn y colaboradores (2018).

Se utilizará la catequina como estándar y se medirá el contenido de flavonoides utilizando cloruro de aluminio. La solución de la muestra se añadirá a nitrito de sodio al 5% y agua diluyente. Se debe dejar reposar por 5 minutos a temperatura ambiente, se añadirá cloruro de aluminio al 10% durante 6 minutos. Seguido de hidróxido de sodio 1M con agua diluyente, se medirá a una absorbancia a 510 nm, El contenido total de flavonoides se expresarán como mg de equivalente de catequina (CE)/g de muestra.

### **Análisis estadístico**

Las muestras serán recolectadas en tres diferentes fases de desarrollo: vegetativo, floral y de fructificación.

### **Factores de estudio**

Los factores de estudio serán la determinación de los compuestos fitoquímicos y el carácter antioxidantes de los cultivares *Musa* en la variedad *Cavendish Valery*.

### Unidad experimental

La unidad experimental será las dos variedades de las plantas de género *Musa* en la fase vegetativa, floración y de fructificación de la planta.

### Tratamientos

El análisis estadístico de los compuestos fitoquímicos se realizará un diseño factorial mixto 2x4 en donde se establecerá 2 métodos para determinar el contenido de los compuestos fenólicos, 4 muestras de cada una de las variedades de la planta. El experimento se realizará con cinco réplicas, así como lo muestra la Tabla 2.

**Tabla 2**

*Diseño experimental factorial de la variedad Cavendish para la determinación de compuestos fitoquímicos.*

Métodos	<i>Cavendish Valery</i>			
	Vegetativo	Floración	Fructificación	Sana
<b>Fenoles totales</b>	3	3	3	3
<b>Flavonoides</b>	3	3	3	3

En la evaluación del carácter antioxidante se establecerá tres métodos para determinar el porcentaje de inhibición y 4 muestras de cada cultivar; por lo tanto, se diseñará un experimento factorial mixto 3x4 como lo indica la Tabla 4. El análisis se realizará con cinco réplicas.

**Tabla 3**

*Diseño experimental para la determinación del carácter antioxidante en plantas Cavendish Valery*

Métodos	<i>Cavendish Valery</i>			
	Vegetativo	Floración	Fructificación	Sana
<b>DPPH</b>	3	3	3	3
<b>ABTS</b>	3	3	3	3
<b>FRAP</b>	3	3	3	3

Los experimentos se llevarán a cabo siguiendo un diseño completamente al azar y se estudiará el análisis de varianza para cada uno de los diseños experimentales. Para realizar la comparación entre las medias se utilizará la prueba de Tukey ( $p_{\text{valor}} < 0,05$ )

### Esquema de análisis de varianza

El esquema de análisis de varianza se encuentra presentado en la Tabla 4 para un diseño factorial mixto 2x4 y 3x4 para la determinación de los compuestos fitoquímicos y el carácter antioxidante respectivamente.

#### **Tabla 4**

*Esquema de un ANOVA para el diseño factorial mixto 2x4 y 3x4 para la variedad Cavendish Valery*

<b>Fuente</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Compuestos fitoquímicos</b>	<b>Carácter antioxidante</b>
<b>Método (a)</b>	a - 1	1	2
<b>Muestras (b)</b>	b - 1	3	3
<b>Efecto ab</b>	(a-1)(b-1)	3	6
<b>Error (e)</b>	a.b(n-1)	32	48
<b>Total</b>	a.b.n - 1	39	59

Además, para el estudio de correlaciones y la comparación entre los compuestos fitoquímicos y el carácter antioxidante se realizará utilizando el coeficiente de correlación de Pearson.

## Capítulo IV: Resultados

### Recolección de las muestras

Se recolectaron seis muestras de la variedad *Cavendish Valery*, de las cuales se les denominó bajo la siguiente nomenclatura (Obsérvese Tabla 5).

**Tabla 5**

*Nomenclatura de las muestras estudiadas de la variedad Cavendish Valery*

Muestra	Nombre	Nomenclatura
Muestra 1	Estado vegetativo de planta sana	VS
Muestra 2	Estado vegetativo de planta con Moko R1	VMR1
Muestra 3	Estado vegetativo de planta con Molo R2	VMR2
Muestra 4	Estado de fructificación de planta sana	FS
Muestra 5	Estado de fructificación de planta con Moko R1	FMR1
Muestra 6	Estado de fructificación de planta con Moko R2	FMR2

De cada muestra se realizaron tres réplicas los cuales se encontraban en tubos Falcon de 50 mL.

### Actividad Antioxidante

Para la determinación de la actividad antioxidante se utilizó tres métodos DPPH, FRAP, ABTS que fueron descritos anteriormente.

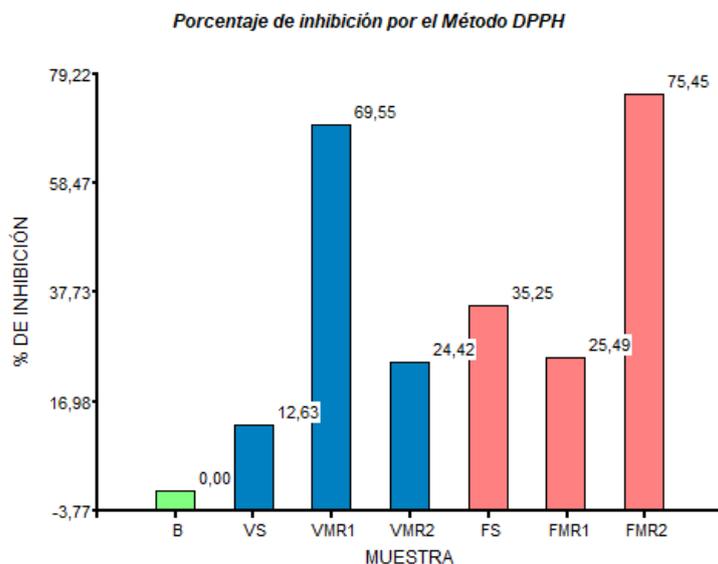
#### ***Determinación de la capacidad antioxidante método DPPH***

El método de la determinación de la capacidad antioxidante con la utilización de  $\alpha$ ,  $\alpha$ -difeníl- $\beta$ -picrilhidrazilo (DPPH) dieron como resultado un poder reductor del 69,55% en la muestra en estado vegetativo con la enfermedad del Moko y 75,45% de la planta en estado de fructificación con la presencia de la enfermedad.

El menor porcentaje de actividad antioxidante presentó la muestra sana en estado vegetativo y la planta en estado de fructificación con la enfermedad dando un 12,63% y 25,49% correspondientemente.

**Figura 1**

*Porcentaje de inhibición de los cultivares Cavendish Valery por el método DPPH*



Para la determinación del porcentaje de inhibición se utilizó la curva de calibración de Trolox, el cuál expresa la cantidad la actividad equivalente en Trolox sobre la cantidad de la muestra fresca. De acuerdo a la figura 2, los mejores resultados de la actividad antioxidante es la planta en estado de fructificación R2 conteniendo 136, 97 mg de Trolox/ g de planta la muestra fresca, seguido de la planta en estado vegetativo R1 con 126,44 mg Trolox / g muestra fresca.

**Figura 2**

*Media descriptiva de la capacidad antioxidante método DPPH*

**Medidas resumen**

muestra	Variable	n	Media	D.E.	E.E.	Mediana
FMR1	Valor	9	0,53	0,01	3,7E-03	0,53
FMR2	Valor	9	0,17	0,01	2,2E-03	0,18
FS	Valor	9	0,46	0,02	0,01	0,45
VMR1	Valor	9	0,22	0,01	2,5E-03	0,22
VMR2	Valor	9	0,54	0,01	2,5E-03	0,54
VS	Valor	9	0,62	3,8E-03	1,3E-03	0,62

De acuerdo con el resultado de análisis de varianza de las plantas sanas en relación con las plantas enfermas indican una diferencia significativa en la

determinación de la capacidad inhibitoria dando un  $P_{valor} < 0,05$ . Obsérvese en la figura 3.

### Figura 3

ANOVA de la capacidad antioxidante por el método de DPPH

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Valor	54	1,00	1,00	2,22

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,53	5	0,31	3460,83	<0,0001
muestra	1,53	5	0,31	3460,83	<0,0001
Error	4,2E-03	48	8,8E-05		
Total	1,53	53			

La prueba de Tukey realiza una comparación entre las medias para discernir las diferencias de los resultados. De acuerdo a la figura 4 la muestra de la planta en estado de fructificación que posee la enfermedad tanto R1 como el estado vegetativo con Moko R2, no posee diferencias significativas.

### Figura 4

Prueba Tukey para la capacidad antioxidante por el método de DPPH

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01315

Error: 0,0001 gl: 48

muestra	Medias	n	E.E.	
FMR2	0,17	9	3,1E-03	A
VMR1	0,22	9	3,1E-03	B
FS	0,46	9	3,1E-03	C
FMR1	0,53	9	3,1E-03	D
VMR2	0,54	9	3,1E-03	D
VS	0,62	9	3,1E-03	E

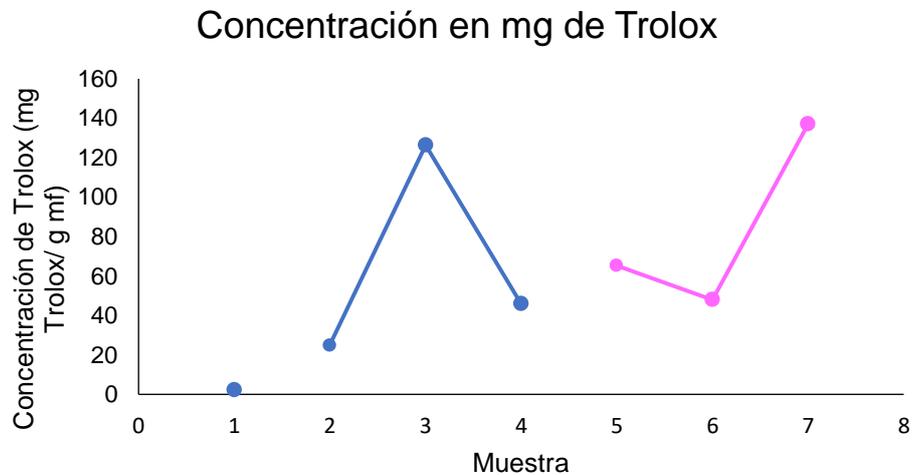
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

En la figura 5 presenta una comparación de medias entre las plantas sanas confrontadas con las plantas en diferentes estados de desarrollo y que presentan la enfermedad del Moko, evidenciando a las muestras VMR1 y FMR2 como las que presentan una mayor concentración de Trolox por gramo de muestra fresca utilizada.

## Figura 5

*Comparación de medias entre plantas sanas y enfermas de la variedad Cavendish*

*Valery en la actividad antioxidante por el método de DPPH*



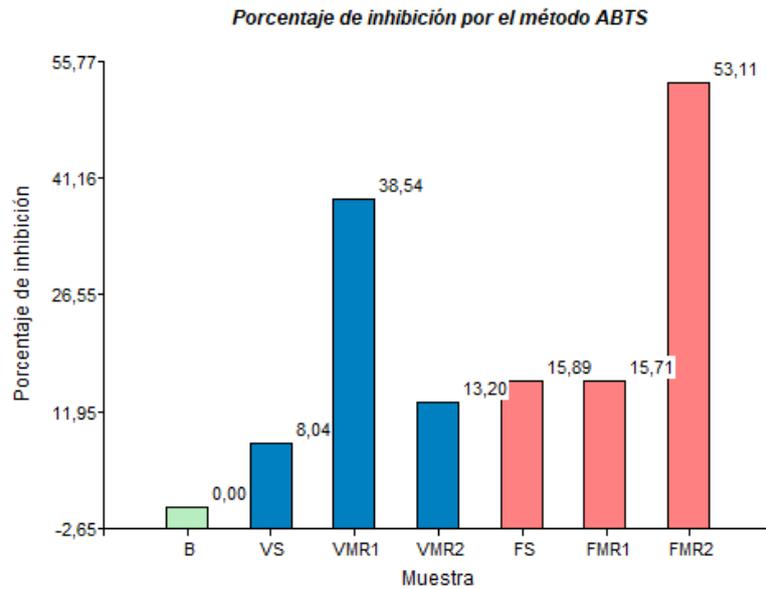
### ***Determinación de la capacidad antioxidante método ABTS***

La base del ensayo ABTS es la interacción entre un antioxidante y el catión radical ABTS•+ (Ilyasov *et al.*, 2020). Los resultados fueron la obtención de 38,54% de inhibición en VMR1 y 53,11% por parte de la muestra FMR2.

Al contrario de la muestra VS, la muestra sana presentando un menor poder reductor con 8,04% y FMR1 con 15,71% en el estado de fructificación.

**Figura 6**

*Porcentaje de inhibición de los cultivares Cavendish Valery por el método ABTS*



Para la determinación del porcentaje de inhibición se utilizó la curva de calibración de Trolox, el cuál expresa la cantidad la actividad equivalente en Trolox sobre la cantidad de la muestra fresca. De acuerdo a la figura 6, los mejores resultados de la actividad antioxidante es la planta en estado de fructificación R2 conteniendo 380, 41 mg de Trolox/ g de planta la muestra fresca, seguido de la planta en estado vegetativo R1 con 263,76 mg Trolox / g muestra fresca.

**Figura 7**

*Media descriptiva de la capacidad antioxidante método ABTS*

**Medidas resumen**

Muestras	Variable	n	Media	D.E.	E.E.	Mediana
FMR1	Valores	9	0,67	0,02	0,01	0,67
FMR2	Valores	9	0,37	0,03	0,01	0,37
FS	Valores	9	0,67	0,01	3,6E-03	0,67
VMR1	Valores	9	0,49	0,03	0,01	0,50
VMR2	Valores	9	0,69	0,01	3,5E-03	0,69
VS	Valores	9	0,74	0,01	3,1E-03	0,74

De acuerdo con el resultado de análisis de varianza de las plantas sanas en relación con las plantas enfermas indican una diferencia significativa en la

determinación de la capacidad inhibitoria dando un  $P_{valor} < 0,05$ . Obsérvese en la figura 7.

### Figura 8

*ANOVA de la capacidad antioxidante por el método de ABTS*

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Valores	54	0,98	0,98	3,20

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,90	5	0,18	477,62	<0,0001
Muestras	0,90	5	0,18	477,62	<0,0001
Error	0,02	48	3,8E-04		
Total	0,92	53			

La prueba de Tukey realiza una comparación entre las medias para discernir las diferencias de los resultados. De acuerdo a la figura 8 la muestra de la planta en estado de fructificación que posee la enfermedad tanto R1, la planta en estado vegetativo con Moko R2 y la planta en estado de fructificación, no posee diferencias significativas.

### Figura 9

*Prueba Tukey para la capacidad antioxidante por el método de ABTS*

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,02716

Error: 0,0004 gl: 48

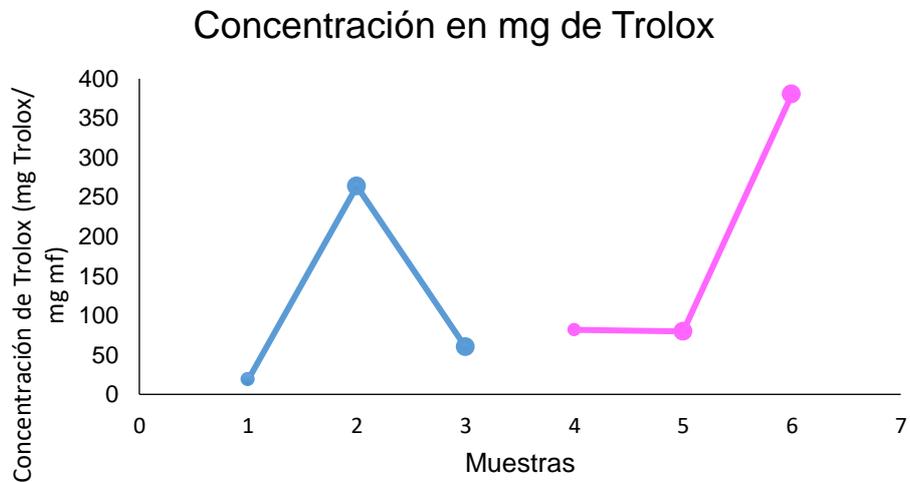
Muestras	Medias	n	E.E.	
FMR2	0,37	9	0,01	A
VMR1	0,49	9	0,01	B
FS	0,67	9	0,01	C
FMR1	0,67	9	0,01	C
VMR2	0,69	9	0,01	C
VS	0,74	9	0,01	D

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

En la figura 9 presenta una comparación de medias entre las plantas sanas confrontadas con las plantas en diferentes estados de desarrollo y que presentan la enfermedad del Moko, evidenciando a las muestras VMR1 y FMR2 como las que presentan una mayor concentración de Trolox por gramo de muestra fresca utilizada.

**Figura 10**

*Comparación de medias entre plantas sanas y enfermas de la variedad Cavendish Valery en la actividad antioxidante por el método de ABTS*

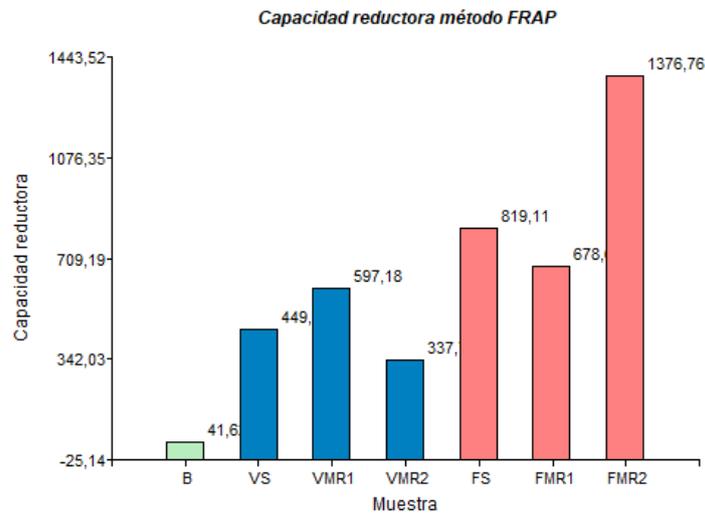
***Determinación de la capacidad antioxidante método FRAP***

El ensayo FRAP se evalúa el efecto de la transferencia de electrones con la reducción del Hierro (Mesa-Vanegas *et al.*, 2015). Los resultados obtenidos fueron la obtención de la capacidad reductora 1376,76 de mg de  $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\text{L}$  y 597,18 mg de  $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\text{L}$  en las muestras FMR2 y VMR1 respectivamente.

Al contrario de la muestra FMR1 y VMR2 que obtuvieron un menor valor del poder reductor con 337,78 mg de  $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\text{L}$  y 678,63 mg de  $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\text{L}$ .

**Figura 11**

*Porcentaje de inhibición del cultivar Cavendish Valery por el método FRAP*



Para la determinación de la capacidad reductora en las muestras mediante la utilización del método FRAP se muestran en la figura 11. Indicando que mayor sea el resultado, mayor antioxidante posee. Las muestras con mayor contenido de antioxidantes son VMR1 en el estado vegetativo con 1,38 y la muestra en estado de fructificación con 2,38.

Las muestras con menor cantidad de antioxidantes son la muestra en estado vegetativo VMR2 con 1,05 y en estado de fructificación FMR1 con un valor de 1,49.

**Figura 12**

*Media descriptiva de la capacidad antioxidante método FRAP*

**Medidas resumen**

Muestras	Variable	n	Media	D.E.	E.E.	Mediana
FMR1	Valores	9	1,49	0,04	0,01	1,50
FMR2	Valores	9	2,38	0,03	0,01	2,37
FS	Valores	9	1,67	0,05	0,02	1,68
VMR1	Valores	9	1,38	0,02	0,01	1,39
VMR2	Valores	9	1,05	0,02	0,01	1,06
VS	Valores	9	1,20	0,02	0,01	1,19

De acuerdo con el resultado de análisis de varianza de las plantas sanas en relación con las plantas enfermas indican una diferencia significativa en la

determinación de la capacidad inhibitoria dando un  $P_{valor} < 0,05$ . Obsérvese en la figura 13.

### Figura 13

ANOVA de la capacidad antioxidante por el método de FRAP

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Valores	54	1,00	0,99	2,02

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	9,95	5	1,99	2083,58	<0,0001
Muestras	9,95	5	1,99	2083,58	<0,0001
Error	0,05	48	9,6E-04		
Total	10,00	53			

La prueba de Tukey realiza una comparación entre las medias para discernir las diferencias de los resultados. De acuerdo a la figura 14 todas las muestras poseen diferencias significativas.

### Figura 14

Prueba Tukey para la capacidad antioxidante por el método de FRAP

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,04324

Error: 0,0010 gl: 48

Muestras	Medias	n	E.E.	
VMR2	1,05	9	0,01	A
VS	1,20	9	0,01	B
VMR1	1,38	9	0,01	C
FMR1	1,49	9	0,01	D
FS	1,67	9	0,01	E
FMR2	2,38	9	0,01	F

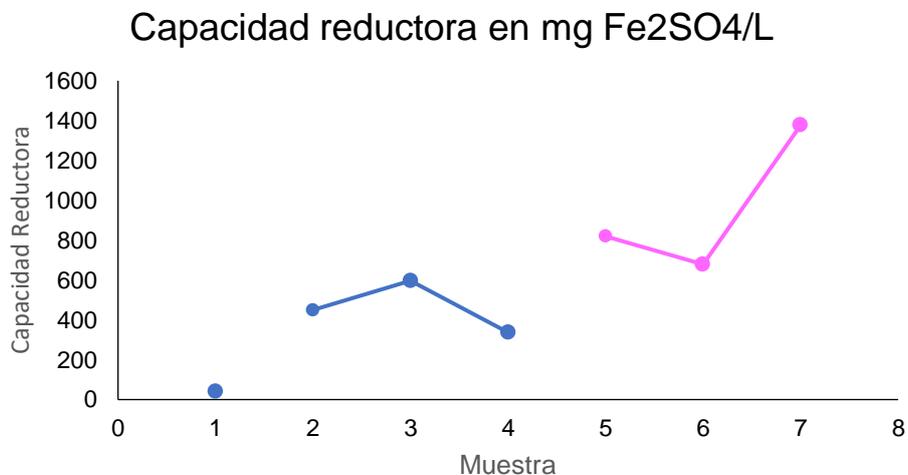
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

En la figura 15 presenta una comparación de medias entre las plantas sanas confrontadas con las plantas en diferentes estados de desarrollo y que presentan la enfermedad del Moko, evidenciando a las muestras VMR1 y FMR2 como las que presentan una mayor capacidad de reducción por la concentración de sulfato de hierro por gramo de muestra fresca utilizada.

**Figura 15**

*Comparación de medias entre plantas sanas y enfermas de la variedad Cavendish*

*Valery en la actividad antioxidante por el método de FRAP*

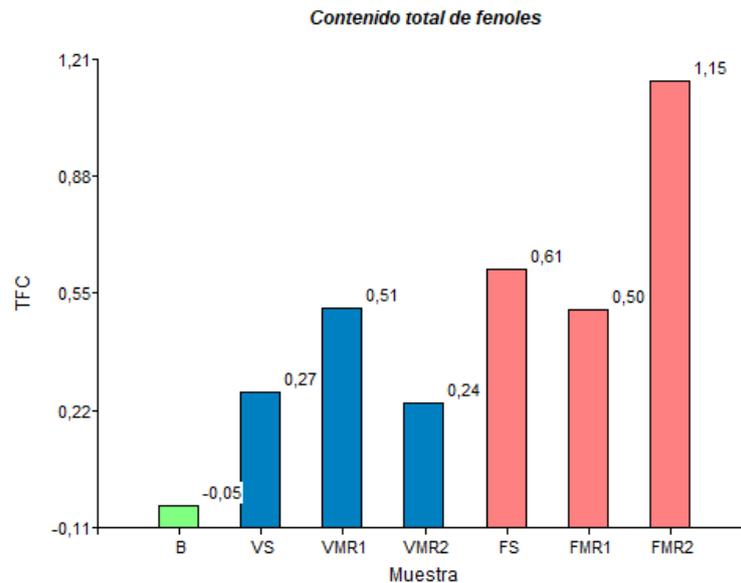
**Cuantificación de fenoles totales**

La producción de fenoles totales se determinó con el método de Folin-Ciocalteu. La curva estándar utilizada fue ácido gálico, dentro de la curva se pudo identificar la concentración de fenoles que se encontraban dentro del rango. Los resultados de la mayor cantidad de fenoles fueron de las muestras en estado vegetativo VMR1 y en estado de fructificación FMR2 con 0,51 y 1,15 respectivamente.

Los niveles más bajos de fenoles en la presencia de VMR2 y FMR1.

**Figura 16**

*Contenido de fenoles del cultivar Cavendish Valery por el método Folin Ciocalteu*



En la figura 16 se observa los datos obtenidos de la prueba de colorimetría. Mientras mayor sea el valor obtenido, mayor será la concentración de fenoles que posee la muestra. Los valores coinciden con el registro en la concentración de fenoles que se encuentra en el extracto, dando como resultado que las muestras FMR2 y VMR1 poseen una media superior con respecto a la muestra sana y con la otra repetición.

**Figura 17**

*Media descriptiva del contenido de fenoles*

**Medidas resumen**

Muestras	Variable	n	Media	D.E.	E.E.	Mediana
FMR1	Valores	9	1,30	0,06	0,02	1,27
FMR2	Valores	9	2,75	0,11	0,04	2,81
FS	Valores	9	1,55	0,03	0,01	1,56
VMR1	Valores	9	1,31	0,12	0,04	1,37
VMR2	Valores	9	0,71	0,12	0,04	0,74
VS	Valores	9	0,78	0,14	0,05	0,82

De acuerdo con el resultado de análisis de varianza de las plantas sanas en relación con las plantas enfermas indican una diferencia significativa en la

determinación de la concentración de fenoles de la muestra, dando un  $P_{valor} < 0,05$ . Obsérvese en la figura 18.

### Figura 18

ANOVA del contenido de fenoles

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Valores	54	0,98	0,98	7,63

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	24,56	5	4,91	430,52	<0,0001
Muestras	24,56	5	4,91	430,52	<0,0001
Error	0,55	48	0,01		
Total	25,11	53			

La prueba de Tukey realiza una comparación entre las medias para discernir las diferencias de los resultados. De acuerdo a la figura 19 las muestras VMR2 y VS no poseen diferencia significativa, al igual que FMR1 y VMR1. Entre las demás posee diferencia significativa.

### Figura 19

Prueba Tukey para el contenido de fenoles

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,14944

Error: 0,0114 gl: 48

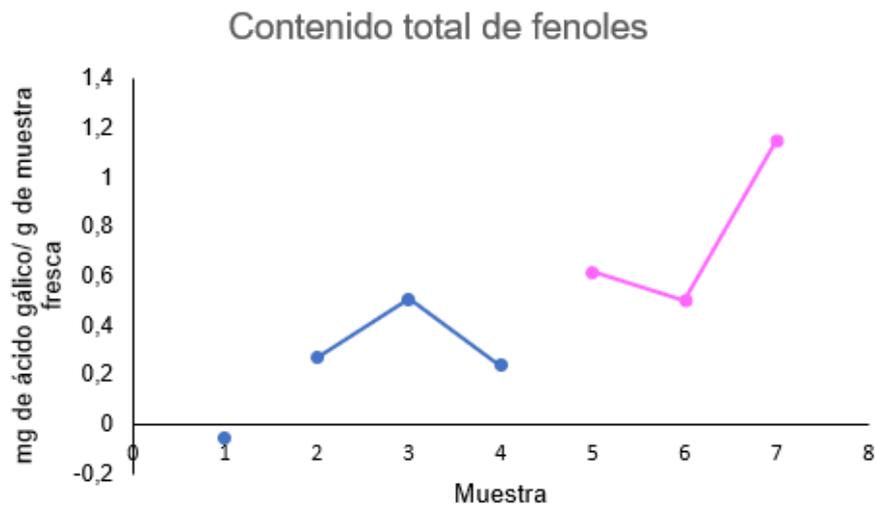
Muestras	Medias	n	E.E.	
VMR2	0,71	9	0,04	A
VS	0,78	9	0,04	A
FMR1	1,30	9	0,04	B
VMR1	1,31	9	0,04	B
FS	1,55	9	0,04	C
FMR2	2,75	9	0,04	D

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

En la figura 20 presenta una comparación de medias entre las plantas sanas confrontadas con las plantas en diferentes estados de desarrollo y que presentan la enfermedad del Moko, evidenciando a las muestras VMR1 y FMR2 como las que presentan una mayor concentración de fenoles.

## Figura 20

*Comparación de medias entre plantas sanas y enfermas de la variedad Cavendish Valery en el contenido de fenoles*

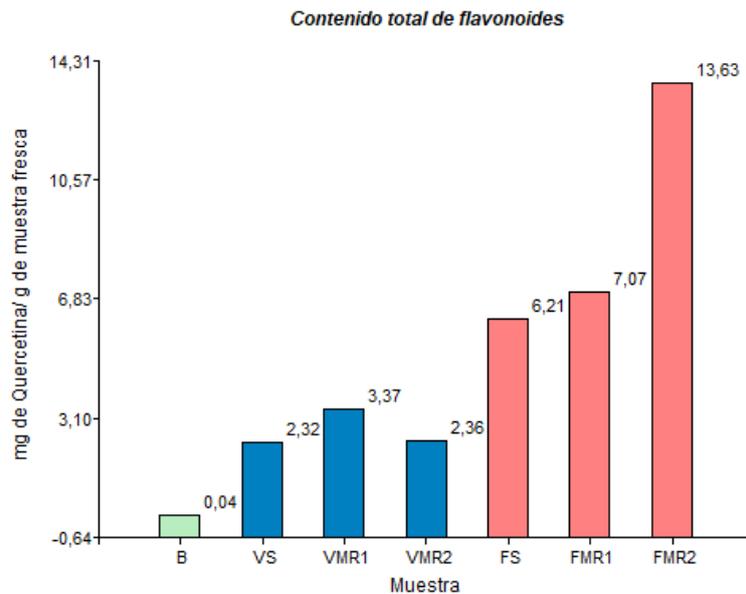


### Quantificación de flavonoides

La producción de flavonoides totales se determinó con el método de colorimetría con  $AlCl_3$ . La curva estándar utilizada fue quercetina, dentro de la curva se pudo identificar la concentración de fenoles que se encontraban dentro del rango. Los resultados de la mayor cantidad de flavonoides fueron de las muestras en estado vegetativo VMR1 y en estado de fructificación FMR2 con 3,37 y 13,63 mg de quercetina por cada gramo de muestra fresca, respectivamente.

## Figura 21

Contenido de flavonoides del cultivar Cavendish Valery por el método  $AlCl_3$



En la figura 21 se observa los datos obtenidos de la prueba de colorimetría. Mientras mayor sea el valor obtenido, mayor será la concentración de fenoles que posee la muestra. Los valores coinciden con el registro en la concentración de flavonoides que se encuentra en el extracto, dando como resultado que las muestras FMR2 y VMR1 poseen una media superior con respecto a la muestra sana y con la otra repetición.

## Figura 22

Media descriptiva del contenido de flavonoides

### Medidas resumen

Muestras	Variable	n	Media	D.E.	E.E.	Mediana
FMR1	Valores	9	2,09	0,13	0,04	2,05
FMR2	Valores	9	4,18	0,13	0,04	4,17
FS	Valores	9	1,84	0,06	0,02	1,85
VMR1	Valores	9	1,01	0,05	0,02	1,02
VMR2	Valores	9	0,72	0,01	4,8E-03	0,72
VS	Valores	9	0,70	0,03	0,01	0,70

De acuerdo con el resultado de análisis de varianza de las plantas sanas en relación con las plantas enfermas indican una diferencia significativa en la

determinación de la concentración de fenoles de la muestra, dando un  $P_{valor} < 0,05$ . Obsérvese en la figura 23.

### Figura 23

*ANOVA del contenido de flavonoides*

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Valores	54	1,00	1,00	4,84

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	78,83	5	15,77	2187,81	<0,0001
Muestras	78,83	5	15,77	2187,81	<0,0001
Error	0,35	48	0,01		
Total	79,17	53			

La prueba de Tukey realiza una comparación entre las medias para discernir las diferencias de los resultados. De acuerdo a la figura 24 las muestras VMR2 y VS no poseen diferencia significativa. Entre las demás muestras poseen diferencia significativa.

### Figura 24

*Prueba Tukey para el contenido de flavonoides*

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,11877

Error: 0,0072 gl: 48

Muestras	Medias	n	E.E.	
VS	0,70	9	0,03	A
VMR2	0,72	9	0,03	A
VMR1	1,01	9	0,03	B
FS	1,84	9	0,03	C
FMR1	2,09	9	0,03	D
FMR2	4,18	9	0,03	E

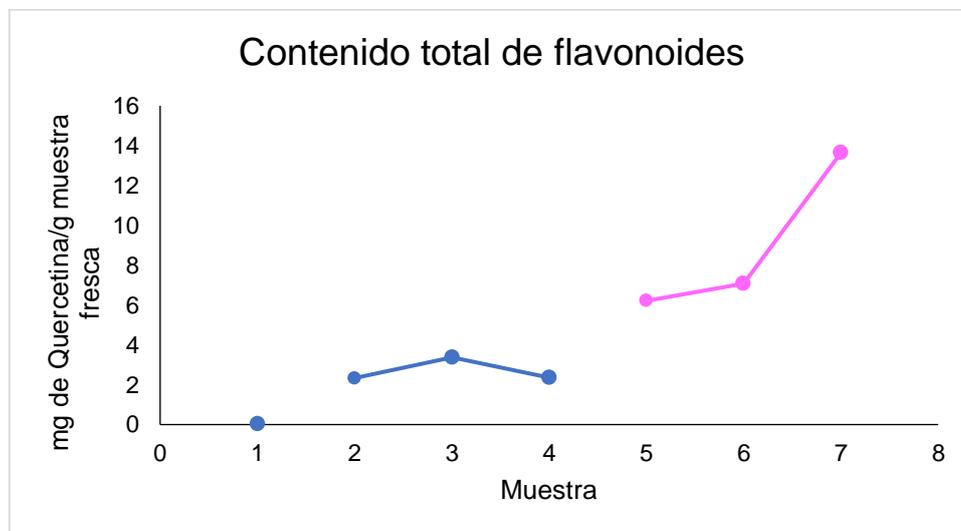
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

En la figura 25 presenta una comparación de medias entre las plantas sanas confrontadas con las plantas en diferentes estados de desarrollo y que presentan la enfermedad del Moko, evidenciando a las muestras VMR1 y FMR2 como las que presentan una mayor concentración de flavonoides.

## Figura 25

*Comparación de medias entre plantas sanas y enfermas de la variedad Cavendish*

*Valery en el contenido de flavonoides*



### Correlación de Pearson entre las pruebas

El coeficiente de correlación de Pearson es una prueba estadística que predecirá la relación entre dos variables continuas. Las relaciones en dichas variables pueden estar entre valores de -1 a +1 como expresiones de correlación negativa y positiva, el valor 0 significa que no existe una correlación (Pripp, 2018).

En la figura 26 presenta la correlación de Pearson entre las variables base del estudio. La correlación positiva cercana a 1 presenta las pruebas de ABTS con DPPH, fenoles con FRAP, presentando unos valores de 0.96 y 0.98 respectivamente. La correlación negativa cercana a -1 son las pruebas fenoles con ABTS, FRAP con DPPH y fenoles con DPPH obteniendo valores de -0.83, -0.70 y -0.76.

**Figura 26**

Valores obtenidos de la correlación entre los métodos para determinar la actividad antioxidante y los compuestos fitoquímicos

Correlación de Pearson: Coeficientes\probabilidades

	DPPH	FRAP	ABTS	Flavonoides1	Fenoles
DPPH	1,00	5,2E-09	0,00	0,04	2,0E-11
FRAP	-0,70	1,00	7,2E-12	0,64	0,00
ABTS	0,96	-0,77	1,00	0,01	0,00
Flavonoides1	0,29	-0,07	0,37	1,00	0,46
Fenoles	-0,76	0,98	-0,83	-0,10	1,00

Los valores de los coeficientes cercanos a 0 no presentan una relación lineal entre las pruebas.

## Capítulo V: Discusión

El banano como cultivo clave para la seguridad alimentaria se considera como el alimento primordial de varios países en desarrollo (Cellier *et al.*, 2015). Sin embargo, las plantas del género *Musa* spp son susceptibles a varios patógenos, entre ellos *Ralstonia solanacearum* raza 2. El marchitamiento bacteriano baja el rendimiento en la producción del banano (Tripathi *et al.*, 2022), por ello el tratamiento y el control de esta enfermedad bacteriana implica el desarrollo de nuevas tecnologías e investigaciones.

La enfermedad del Moko se considera una padecimiento grave, afecta a la planta en cualquier estado de desarrollo y la pérdida de rendimiento puede llegar hasta el 100% en los cultivos (Tripathi *et al.*, 2022). Si bien es cierto que los cultivos son los más afectados, la planta posee mecanismos de defensa como el desarrollo de metabolitos secundarios para eliminar el patógeno de su sistema.

Las muestras corresponden a plantas del género *Musa* que se encuentran en estado vegetativo y de fructificación, las cuales fueron recolectadas de la Estación Experimental INIAP de Santo Domingo. Las muestras enfermas presentaron un mayor contenido de fenoles, flavonoides y de actividad antioxidante en comparación con las muestras sanas.

Las barreras físicas y químicas implicadas en la defensa de las plantas tienen como estrategia ayudar a su supervivencia, que al estar en contacto con algún estrés ya sea biótico o abiótico puede derivar la síntesis de metabolitos secundarios. De acuerdo a Sepúlveda y colaboradores (2003), la síntesis de los metabolitos procede del metabolismo primario (glucólisis, el ciclo de Krebs o vía de shikimato) que dependiendo del grado de estrés al que se encuentre sometido la planta puede variar los niveles de metabolitos secundarios, algunos de ellos tóxicos almacenados en diferentes lugares de la célula vegetal.

Los compuestos fenólicos sintetizados como fenoles simples, ácidos fenólicos, flavonoles y dihidrocalconas son compuestos antibióticos que generan una respuesta contra patógenos. Las fitoalexinas, sintetizadas de *novo*, logran inhibir una diversidad de microorganismos por su acumulación en el sitio infectado (Annie Ewané *et al.*, 2012).

Con base en los resultados, las muestras que mayor porcentaje de inhibición y contenido metabólico son aquellas expuestas a condiciones adversas como son la presencia de *Ralstonia solanacearum* raza 2, lo que implica la inducción de compuestos fitoquímicos para su adaptación y supervivencia. En este sentido, los metabolitos secundarios de la planta *Cavendish Valery* son utilizados como un mecanismo de defensa.

Así mismo, existe una considerable diferencia entre los estados de desarrollo de la planta. El estado vegetativo de las muestras presenta un menor contenido de metabolitos secundarios y de la actividad antioxidante. Los compuestos bioactivos producidos dependen de condiciones ambientales para que genere un impacto adecuado en el desarrollo de las rutas metabólicas asociadas con su biosíntesis (Isah & Isah, 2019). En el estado vegetativo, las plantas utilizan la fotosíntesis y la asimilación de carbono para su crecimiento, desarrollo y defensa, al ser expuestas algún estrés puede alterar en el almacenamiento y síntesis de los metabolitos (Annie Ewané *et al.*, 2012).

Del mismo modo Annie Ewané *et al.* (2012) explica que existe un cambio en el nivel del contenido fenólico en plantas antes y después de la cosecha debido a la exposición de factores como la luz, temperatura, potencial osmótico, nutrición, reguladores de crecimiento, inductores bióticos, el estado de maduración de la fruta, entre otros.

No existe diferencia significativa entre las muestras de estado vegetativo VMR2 que es una planta enferma y la muestra sana VS, puede deberse a que VMR2 presenta principio de la sintomatología producida por la bacteria *Ralstonia solanacearum* raza 2. De igual manera, sucede con las plantas que se encuentran en el estado de fructificación no hay diferencias significativas entre las muestras FMR1 que es la planta enferma y FS, la sana.

Entre los metabolitos secundarios encontrados en plantas del género *Musa* se encuentran flavonoides, lípidos, ácidos fenólicos, alcaloides, lignanos, cumarinas, taninos y terpenos. La fuente de compuestos bioactivos en la planta puede enfocarse en la realización de productos para la industria y la farmacéutica. Además, la caracterización fisicoquímica y su valoración tienen perspectivas potenciales para evolucionar como fuente de antioxidantes primarios, materia prima bioenergética, y como compuestos poliméricos (Deng *et al.*, 2020).

La planta *Musa* con una alta capacidad antioxidante es la muestra FMR2 con una media en todas las pruebas realizadas de 380,40 mg Trolox/ g muestra fresca, 136,97 mg de Trolox/ g muestra fresca, 1376,75 mg Fe/L, 229,83 mg Ácido gálico/ L y 13,63 mg de Quercetina/ g muestra fresca para las pruebas ABTS, DPPH, FRAP, Folin-Ciocalteu y flavonoides respectivamente.

La diferencia entre la prueba de ABTS y DPPH se debe a la naturaleza de la prueba. DPPH es un método económico y sencillo que solo identifica los compuestos hidrofílicos, dejando de lado compuestos lipofílicos como las grasas insaturadas, terpenos que pueden ser identificados por ABTS, así como los compuestos hidrofílicos (Kedare & Singh, 2011).

La correlación entre las variables se calculó mediante la obtención del coeficiente de correlación de Pearson. El cuál se obtuvo una fuerte correlación entre las pruebas de ABTS con DPPH con 0,97, fenoles con FRAP con 0,96 esto se da por

la cantidad de compuestos fenólicos, lipofílicos e hidrofílicos presentes en las muestras responsables de la actividad antioxidante de los compuestos fitoquímicos. La actividad de eliminación de radicales difiere en cada uno de los métodos. DPPH y ABTS se basan en el mecanismo de transferencia de átomos de hidrógeno y la transferencia de un solo electrón. Mientras que para establecer la capacidad reductora mediante el método FRAP se basa en la transferencia de un solo electrón (Youn *et al.*, 2018).

Por lo tanto, las muestras que poseen una correlación negativa como FRAP con DPPH, según los ensayos los compuestos que poseen una alta capacidad reductora férrica no muestran una actividad de barrido con radicales de DPPH. De la misma manera los fenoles con ABTS y DPPH. La que refleja la diferencia de los mecanismos de acción en los ensayos (Kareem *et al.*, 2015).

La importancia de la capacidad antioxidante en las plantas es que evita la degeneración producida por el estrés oxidativo, debido a la donación de un electrón de los compuestos antioxidantes al radical libre. De esta manera se previene el daño oxidativo producida las especies reactivas de oxígeno. El consumo de plantas con un alto contenido de fenoles prevendrá enfermedades degenerativas siendo beneficiosos para la salud (Haminiuk *et al.*, 2012).

## Capítulo VI: Conclusiones y Recomendaciones

En conclusión, las plantas se recolectaron plantas del género *Musa* de la variedad *Cavendish Valery* en diferentes estados de desarrollo con sintomatología de la enfermedad del Moko.

Las muestras de la variedad *Cavendish Valery* arrojaron que las muestras con más alto contenido de fenoles y flavonoides, así como la actividad antioxidante fueron FMR2 y VMR1 presentando un porcentaje de inhibición del 53.109% y 38.54% para la prueba de ABTS, 75.45% y 69.54% para la prueba de DPPH, la capacidad reductora 1376,75 mg Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/L y 597,18 mg Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/L. En el contenido de fenoles totales se obtuvo 0,51 mg GAE/g muestra fresca y 1,15 mg GAE/g muestra fresca para VMR1 y FMR2 respectivamente. Para el contenido de flavonoides totales 3,37 mg Quercetina/g muestra fresca y 13,63 mg Quercetina/g muestra fresca correspondientes a VMR1 y FMR2.

De acuerdo con los resultados, las muestras de la variedad *Cavendish Valery* con sintomatología de la enfermedad del Moko (VMR1 y FMR2) presentaron un alto contenido de fenoles, flavonoides totales y capacidad antioxidante, esto se debe a que la planta utiliza los metabolitos secundarios como mecanismo de defensa frente a un patógeno o estrés abiótico.

El estado fisiológico de la planta también influye en la variación de metabolitos secundarios. Una planta en estado de desarrollo vegetativo utiliza la fotosíntesis y la captura de carbono para redireccionar a procesos de nutrición, y de formación de la planta en donde la síntesis de los metabolitos secundarios se almacenará y permanecerán en diferentes tejidos vegetales.

No hubo diferencia significativa en muestras de cultivares *Musa* de la variedad *Cavendish Valery* (VMR2, FMR1) con sintomatología de la enfermedad del Moko con las muestras sanas, debido al momento de recolección de las hojas no presentaban

una notoria sintomatología de la enfermedad por lo que se deduce que la planta se encontraba en los inicios de la infección producida por la bacteria *Ralstonia solanacearum* raza 2.

La mejor correlación entre los métodos para la identificación de la actividad antioxidante y de los compuestos fitoquímicos en las plantas del género *Musa* fue la correlación positiva de ABTS con DPPH, fenoles con FRAP esto se debe a la presencia de compuestos fenólicos, lipofílicos e hidrofílicos presentes en las muestras.

Por todo lo mencionado previamente se recomienda:

- Analizar los compuestos fitoquímicos y la actividad antioxidantes en diferentes temporadas de recolección y diferentes condiciones de extracción.
- Considerar la variabilidad de metabolitos secundarios que puede existir entre los diferentes estados de desarrollo de la planta como en los diferentes órganos de la planta.
- Realizar un perfil metabólico con el fin de identificar los metabolitos que se encuentren implicados en la defensa.
- Aplicar el método de HPLC-MS para la identificación de estos metabolitos secundarios, lo que ayudaría en la identificación de los compuestos que intervienen en el proceso de defensa. Esto contribuiría en generar alternativas para ayudar en el manejo de la enfermedad.

## Bibliografía

- AGROCALIDAD. (2015). *Plan de acción para el control de Ralstonia solanacearum raza 2*.
- Aguilar, D. A. A., Cevallos, H. V., & Romero, H. C. (2021). Análisis de la producción bananera pre y pos pandemia de la “Asociación “Asocobaoro” periodo 2019-2020. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 4(2), 128-135.
- Alvarez, E., Pantoja, A., Gañán-Betancur, L., & Ceballos, G. (2015). *Current Status of Moko Disease and Black Sigatoka in Latin America and the Caribbean, and Options for Managing Them*.
- Annie Ewané, C., Lepoivre, P., de Bellaire, L. de L., & Lassois, L. (2012). Involvement of phenolic compounds in the susceptibility of bananas to crown rot. A review. *BASE*. <https://popups.uliege.be/1780-4507/index.php?id=8996>
- Blomme, G., Dita, M., Jacobsen, K. S., Pérez Vicente, L., Molina, A., Ocimati, W., Poussier, S., & Prior, P. (2017). Bacterial Diseases of Bananas and Enset: Current State of Knowledge and Integrated Approaches Toward Sustainable Management. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1290. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01290>
- Borges, C. V., Maraschin, M., Coelho, D. S., Leonel, M., Gomez, H. A. G., Belin, M. A. F., Diamante, M. S., Amorim, E. P., Gianeti, T., Castro, G. R., & Lima, G. P. P. (2020). Nutritional value and antioxidant compounds during the ripening and after domestic cooking of bananas and plantains. *Food Research International*, 132, 109061. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109061>
- Borja, J. (2016). La producción de banano bajo el sistema de comercio justo: Un análisis del caso ecuatoriano. *Siembra*, 3(1), 7-10.
- Cellier, G., Moreau, A., Chabirand, A., Hostachy, B., Ailloud, F., & Prior, P. (2015). A Duplex PCR Assay for the Detection of *Ralstonia solanacearum* Phylotype II Strains in *Musa* spp. *PLoS ONE*, 10(3), e0122182. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122182>

- Delgado, R., Morillo, E., Buitrón, J., Bustamante, A., & Sotomayor, I. (2014). First report of Moko disease caused by *Ralstonia solanacearum* race 2 in plantain (Musa AAB) in Ecuador. *New Disease Reports*, 30(1), 23-23.  
<https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2014.030.023>
- Deng, G., Sheng, G., Bi, F., Li, C., Dou, T., Dong, T., Yang, Q.-S., Gao, H., Liu, J., Zhong, X., Peng, M., Yi, G., He, W., & Hu, C. (2020). Metabolic Profiling in Banana Pseudo-Stem Reveals a Diverse Set of Bioactive Compounds with Potential Nutritional and Industrial Applications. *Phyton*, 89, 1-30.  
<https://doi.org/10.32604/phyton.2020.010970>
- Dudonné, S., Vitrac, X., Coutière, P., Woillez, M., & Mérillon, J.-M. (2009). Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1768-1774.  
<https://doi.org/10.1021/jf803011r>
- FAO. (2019). *Compendio estadístico del banano 2018*. 26.
- Frison, E. A., Escalant, J. V., & Sharrock, S. (2004). The global Musa genomic consortium: A boost for banana improvement. *Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology, and Induced Mutations. Proceedings of a Meeting Held in Leuven, Belgium, 24-28 September 2001*, 341-349.
- Haminiuk, C. W. I., Maciel, G. M., Plata-Oviedo, M. S. V., & Peralta, R. M. (2012). Phenolic compounds in fruits – an overview. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(10), 2023-2044. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x>
- Hidalgo, W., Chandran, J. N., Menezes, R. C., Otálvaro, F., & Schneider, B. (2016). Phenylphenalenones protect banana plants from infection by *Mycosphaerella fijiensis* and are deactivated by metabolic conversion. *Plant, Cell & Environment*, 39(3), 492-513. <https://doi.org/10.1111/pce.12630>

- Hölscher, D., Dhakshinamoorthy, S., Alexandrov, T., Becker, M., Bretschneider, T., Buerkert, A., Crecelius, A. C., Waele, D. D., Elsen, A., Heckel, D. G., Heklau, H., Hertweck, C., Kai, M., Knop, K., Krafft, C., Maddula, R. K., Matthäus, C., Popp, J., Schneider, B., ... Swennen, R. L. (2014). Phenalenone-type phytoalexins mediate resistance of banana plants (*Musa* spp.) to the burrowing nematode *Radopholus similis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*(1), 105-110. <https://doi.org/10.1073/pnas.1314168110>
- Ilyasov, I. R., Beloborodov, V. L., Selivanova, I. A., & Terekhov, R. P. (2020). ABTS/PP Decolorization Assay of Antioxidant Capacity Reaction Pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(3), 1131. <https://doi.org/10.3390/ijms21031131>
- INIAP. (2015). *Banano, plátano y otras musáceas – Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias*. <http://www.iniap.gob.ec/pruebav3/banano-platano-y-otras-musaceas/>
- Isah, T., & Isah, T. (2019). Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biological Research*, *52*. <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0246-3>
- Kareem, H. S., Ariffin, A., Nordin, N., Heidelberg, T., Abdul-Aziz, A., Kong, K. W., & Yehye, W. A. (2015). Correlation of antioxidant activities with theoretical studies for new hydrazone compounds bearing a 3,4,5-trimethoxy benzyl moiety. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *103*, 497-505. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.09.016>
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of food science and technology*, *48*(4), 412-422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad

antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, 25, 726-732.

<https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016>

Lescot, T. (2013). *World plantain and banana production systems* [Conference\_item].

Proceedings of the 20th International Meeting ACORBAT: 40 Years Sharing Science and Technology, Fortaleza, Brazil, 9-13 September 2013; s.n.

<https://agritrop.cirad.fr/571452/>

Lopes, S., Borges, C. V., de Sousa Cardoso, S. M., de Almeida Pereira da Rocha, M.

F., & Maraschin, M. (2020). Banana ( *Musa* spp.) as a Source of Bioactive Compounds for Health Promotion. En *Handbook of Banana Production,*

*Postharvest Science, Processing Technology, and Nutrition* (pp. 227-244). John

Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119528265.ch12>

Mansfield, J., Genin, S., Magori, S., Citovsky, V., Sriariyanum, M., Ronald, P., Dow, M.,

Verdier, V., Beer, S. V., Machado, M. A., Toth, I., Salmond, G., & Foster, G. D.

(2012). Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology.

*Molecular Plant Pathology*, 13(6), 614-629. [https://doi.org/10.1111/j.1364-](https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x)

[3703.2012.00804.x](https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x)

Mazid, M., Khan, T. A., & Mohammad, F. (2011). Role of secondary metabolites in

defense mechanisms of plants. *Biology and Medicine*, 3(2), 232-249.

Mejía-Lotero, F. M., Melo-Sabogal, D. V., & Ordoñez-Novoa, P. A. (2016).

*EVALUACIÓN IN-VITRO DEL EXTRACTO FERMENTADO DE PLANTAS EN*

*LA INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DE RALSTONIA SOLANACEARUM,*

*CAUSANTE DE MOKO EN PLÁTANO/EVALUATION IN- VITRO OF EXTRACT*

*FERMENTED OF PLANTS IN INHIBITING THE GROWTH OF RALSTONIA*

*SOLANACEARUM , CAUSATIVE AGENT MOKO IN PLANTAIN - ProQuest.*

[https://www.proquest.com/docview/1783660521?fromopenview=true&parentSe](https://www.proquest.com/docview/1783660521?fromopenview=true&parentSessionId=58CVx%2F%2FfMutCgKqr9LmXp7Lsg50xhu%2Bz0QI%2Fii3kBE%3D&pq-origsite=gscholar&accountid=171372)

[ssionId=58CVx%2F%2FfMutCgKqr9LmXp7Lsg50xhu%2Bz0QI%2Fii3kBE%3](https://www.proquest.com/docview/1783660521?fromopenview=true&parentSessionId=58CVx%2F%2FfMutCgKqr9LmXp7Lsg50xhu%2Bz0QI%2Fii3kBE%3D&pq-origsite=gscholar&accountid=171372)

[D&pq-origsite=gscholar&accountid=171372](https://www.proquest.com/docview/1783660521?fromopenview=true&parentSessionId=58CVx%2F%2FfMutCgKqr9LmXp7Lsg50xhu%2Bz0QI%2Fii3kBE%3D&pq-origsite=gscholar&accountid=171372)

- Mesa-Vanegas, A. M., Zapata-Urbe, S., Arana, L. M., Zapata, I. C., Monsalve, Z., & Rojano, B. (2015). *Actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de Ageratum conyzoides L.* 14, 11.
- Ministerio de Comercio Exterior, E. (2017). *Informe sector bananero ecuatoriano.*
- Ministry on International trade. (2017). *Report on Ecuador's banana sector.*
- Morales, E. L. Á., Córdova, S. A. L., Bravo, M. L. S., & Macías, B. L. C. (2020). Evaluación socioeconómica de la producción de plátano en la zona norte de la Provincia de los Ríos. *Journal of business and entrepreneurial studie*, 4(2), Article 2. <https://doi.org/10.37956/jbes.v4i2.78>
- OECD. (2010). *Section 2—Bananas and plantains (Musa spp.)* (pp. 84-146). OECD. <https://doi.org/10.1787/9789264096158-6-en>
- Pillay, M., & Tripathi, L. (2007). Banana. En C. Kole (Ed.), *Fruits and Nuts* (pp. 281-301). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-34533-6\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-540-34533-6_15)
- Premabati, T., & De Mandal, S. (2020). Chapter 4 - Bacterial diseases of banana: Detection, characterization, and control management. En S. De Mandal & P. Bhatt (Eds.), *Recent Advancements in Microbial Diversity* (pp. 71-85). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821265-3.00004-9>
- Pripp, A. H. (2018). Pearsons eller Spearmans korrelasjonskoeffisienter. *Tidsskrift for Den norske legeforening*. <https://doi.org/10.4045/tidsskr.18.0042>
- Rajurkar, N. S., H, S., & e. (2011). Estimation of Phytochemical Content and Antioxidant Activity of Some Selected Traditional Indian Medicinal Plants. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73(2), 146. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.91574>
- Ricardo, F. Á. S. (2021). Contribución al conocimiento de la problemática fitosanitaria cardinal del cultivo de banano y plátano / Contribution to the knowledge of the cardinal phytosanitary problematic of the banana crop. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 4(3), 4089-4114. <https://doi.org/10.34188/bjaerv4n3-100>

- Rojas, C., Senthil-Kumar, M., Tzin, V., & Mysore, K. (2014). Regulation of primary plant metabolism during plant-pathogen interactions and its contribution to plant defense. *Frontiers in Plant Science*, 5, 17.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00017>
- Sachett, A., Gallas-Lopes, M., Conterato, G. M. M., Herrmann, A., & Piato, A. (2021, junio 15). *Antioxidant activity by DPPH assay: In vitro protocol*. Protocols.io.  
<https://www.protocols.io/view/antioxidant-activity-by-dpph-assay-in-vitro-protoc-btbpnimn>
- Sánchez-García, C., Alvarado-Capó, Y., Acosta-Suárez, M., Cruz-Martín, M., Leiva-Mora, M., & Roque, B. (2009). Efecto de la inoculación artificial de *Mycosphaerella fijiensis* en la inducción de enzimas relacionadas con la defensa en dos genotipos de *Musa*. *Biotecnología Vegetal*, 9(3). <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/319>
- SENASICA. (2019). *Moko del plátano (Ralstonia solanacearum raza 2)*.
- Sepúlveda-Jiménez, G. (2003). *La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas*. 10.
- Shahbandeh, M. (2021, enero 12). *Fruit: World production by type 2019*. Statista.  
<https://www.statista.com/statistics/264001/worldwide-production-of-fruit-by-variety/>
- Teng, S.-K., Abd. Aziz, N. A., Mustafa, M., Laboh, R., Ismail, I. S., & Devi, S. (2019). Preliminary study on the effect of endogenic earthworm on metabolic changes of blood-disease-infected banana. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 52(19-20), 1298-1312.  
<https://doi.org/10.1080/03235408.2019.1706806>
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Hawkins Byrne, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6), 669-675. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>

- Thaweelang, S. (2019). Antioxidant activity and Total Phenolic compounds of Fresh and Blanching Banana blossom (Musa ABB CV.Kluai "Namwa") in Thailand. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 639(1), 012047. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/639/1/012047>
- Torres, J., Rodríguez, H. A., & Arango, R. (2009). Aspectos bioquímicos de la resistencia del banano (Musa acuminata) al ataque del hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. *Tumbaga*, 1(4), 85-96.
- Tripathi, L., Ntui, V. O., & Tripathi, J. N. (2022). Control of Bacterial Diseases of Banana Using CRISPR/Cas-Based Gene Editing. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7), 3619. <https://doi.org/10.3390/ijms23073619>
- Vera-Aviles, D., Suarez-Capello, C., Veloz-Martinez, K., & Simba-Ochoa, L. (2020). Respuestas de 15 cultivares de Musa sp y 2 Heliconias sp frente a la inoculación de *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith, agente causal del Moko. *Centrosur*, 33-46. <https://doi.org/10.37959/cs.v1i7.35>
- Walters, D. (2010). *Plant Defense: Warding off Attack by Pathogens, Herbivores and Parasitic Plants*. John Wiley & Sons, Incorporated. <http://ebookcentral.proquest.com/lib/espeec/detail.action?docID=589241>
- Youn, J. S., Kim, Y.-J., Na, H. J., Jung, H. R., Song, C. K., Kang, S. Y., & Kim, J. Y. (2018). Antioxidant activity and contents of leaf extracts obtained from *Dendropanax morbifera* LEV are dependent on the collecting season and extraction conditions. *Food Science and Biotechnology*, 28(1), 201-207. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0352-y>
- Zaynab, M., Fatima, M., Abbas, S., Sharif, Y., Umair, M., Zafar, M. H., & Bahadar, K. (2018). Role of secondary metabolites in plant defense against pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 124, 198-202. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.08.034>

Zaynab, M., Fatima, M., Sharif, Y., Zafar, M. H., Ali, H., & Khan, K. A. (2019). Role of primary metabolites in plant defense against pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 137, 103728. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103728>

Zhang, Q.-W., Lin, L.-G., & Ye, W.-C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13, 20. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>

## Apéndices