



**Evaluación del estado nutricional, metabólico y biológico de plantas de *Musa acuminata*  
Colla (orito) sanas y afectadas por la enfermedad del Moko**

Ramos Guaytarilla, Lissette Estefanía

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 en Biotecnología

Mihai, Raluca Alexandra, Ph. D

27 de febrero 2023

## Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos

### Informe de originalidad

---

NOMBRE DEL CURSO

Revisión Tesis

NOMBRE DEL ALUMNO

LISSETTE ESTEFANIA RAMOS GUAYTARILLA

NOMBRE DEL ARCHIVO

LISSETTE ESTEFANIA RAMOS GUAYTARILLA - PROYECTO UIC

SE HA CREADO EL INFORME

27 feb 2023

---

#### Resumen

Fragmentos marcados	0	0 %
Fragmentos citados o entrecuillados	0	0 %

---



Firmado electrónicamente por:  
RALUCA ALEXANDRA  
MIHAI

---

**Raluca Alexandra Mihai**

**DIRECTORA DEL PROYECTO**

C.C : 1757487507



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

#### Certificación

Certifico que el trabajo de titulación: **“Evaluación del estado nutricional, metabólico y biológico de plantas de *Musa acuminata* Colla (orito) sanas y afectadas por la enfermedad del Moko”** fue realizado por la señorita **Ramos Guaytarilla Lissette Estefanía**; 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, 27 de febrero de 2023



---

**Raluca Alexandra Mihai**

C.C: 1757487507



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**  
**Carrera de Ingeniería en Biotecnología**

**Responsabilidad de Autoría**

Yo **Ramos Guaytarilla Lissette Estefanía** con cédula de ciudadanía n° 1726486697, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **“Evaluación del estado nutricional, metabólico y biológico de plantas de *Musa acuminata* Colla (orito) sanas y afectadas por la enfermedad del Moko”** 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, 27 de febrero de 2023**

---

**Ramos Guaytarilla Lissette Estefanía**

C.C.: 1726486697



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

**Carrera de Ingeniería en Biotecnología**

**Autorización de Publicación**

Yo **Ramos Guaytarilla Lissette Estefanía**, con cédula de ciudadanía n° 1726486697, autorizo/autorizamos a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **“Evaluación del estado nutricional, metabólico y biológico de plantas de *Musa acuminata* Colla (orito) sanas y afectadas por la enfermedad del Moko”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi/nuestra responsabilidad.

**Sangolquí, 27 de febrero de 2023**

---

**Ramos Guaytarilla Lissette Estefanía**

C.C.: 1726486697

## Dedicatoria

A mis padres Martha y Segundo, por ser tan incondicionales en mi vida, por el esfuerzo que realizan ambos por el bienestar de la familia, ser mis guías en cada decisión a tomar.

A mi hermana Jeanneth y hermano Diego, por ser convertirse en mis cómplices, darme ánimos y demostrarme su amor y cariño siempre, también por no dejarme sola ante ninguna circunstancia.

A mis abuelitos Natividad y Luis, a pesar que ya no se encuentran conmigo, gracias por siempre ser el soporte de toda la familia y enseñarme que nunca es tarde para reivindicarse y amar incondicionalmente a los seres queridos.

A Eduardo por estar siempre presente en mi vida tanto en los momentos buenos como malos, ayudarme a creer en mí y siempre tener las palabras adecuadas para llegar a mí.

A Benjamín por ser la compañía perfecta en las malas noches y motivarme siempre a ser mejor.

Con mucho cariño y amor para ustedes.

*Lisette Estefanía Ramos Guaytarilla.*

## **Agradecimientos**

A mi familia por su paciencia, amor, atención y brindarme ese aliento necesario para alcanzar mis sueños.

Mis amigos Michelle, Gabriela, Karen, María José, María Emilia, Leonardo, Patricio y Bannher gracias por su compañía, consejos, por momentos agradables ya que de una u otra manera hicieron de esta etapa de mi vida inolvidable.

Nelson y Erly gracias por su amistad y por su compañía en la realización del presente trabajo.

A mi tutora Raluca Mihai, gracias su apoyo y palabras motivadoras encaminadas a siempre superarnos y ser mejores, a su vez gracias por la paciencia y a pesar de los inconvenientes generados gracias por enseñarme a no estancarse y buscar alternativas para llegar al objetivo, sin usted no fuese posible el desarrollo del presente trabajo.

A Dayana, Javier y Patricio, gracias por su paciencia e impartir sus conocimientos sobre el tema, contribuyendo al desarrollo del presente trabajo.

*Lisette Estefanía Ramos Guaytarilla*

## Índice de contenidos

Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos.....	2
Certificación .....	3
Responsabilidad de autoría.....	4
Autorización de publicación.....	5
Dedicatoria.....	6
Agradecimientos .....	7
Listado de abreviaturas.....	14
Resumen .....	15
Abstract.....	16
Capítulo I: Introducción .....	17
Antecedentes .....	17
Justificación.....	19
Objetivos .....	22
<i>Objetivo general</i> .....	22
<i>Objetivos específicos</i> .....	22
Hipótesis .....	22
Capítulo II: Marco Teórico .....	23
Origen y distribución.....	23
<i>Zonas de producción</i> .....	23
Clasificación taxonómica .....	24
Características botánicas .....	25
Edafología .....	26
Enfermedades que afectan al cultivo.....	26
<i>Enfermedad del moko</i> .....	27
Mecanismo de defensa de las plantas.....	28

Defensa química en plantas .....	29
<i>Metabolitos primarios</i> .....	29
<i>Metabolitos secundarios</i> .....	30
Compuestos fenólicos.....	30
<i>Método Folin Ciocalteu</i> .....	31
Flavonoides.....	31
<i>Método de AlCl<sub>3</sub></i> .....	32
Capacidad antioxidante .....	32
<i>Método DPPH</i> .....	32
<i>Método FRAP</i> .....	33
<i>Método ABTS</i> .....	33
Capítulo III: Materiales y Métodos .....	33
Zona de estudio.....	33
Recolección de muestras .....	34
<i>Muestreo para el análisis de suelos</i> .....	34
<i>Muestreo para el análisis foliar</i> .....	34
Pretratamiento de muestras .....	35
Preparación de los extractos .....	35
Determinación de principios activos .....	35
<i>Método Folin Ciocalteu</i> .....	36
<i>Método de AlCl<sub>3</sub></i> .....	36
Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos.....	36
<i>Método DPPH</i> .....	37
<i>Método FRAP</i> .....	37
<i>Método ABTS</i> .....	38
Análisis estadístico .....	38

Capítulo IV: Resultados .....	39
Determinación del contenido nutricional .....	40
<i>Análisis de suelo</i> .....	40
<i>Análisis Foliar</i> .....	43
Análisis de concentración de principios activos .....	44
<i>Contenido de compuestos fenólicos</i> .....	44
<i>Contenido de flavonoides</i> .....	45
Análisis de resultados de principios activos .....	46
Determinación de capacidad antioxidante .....	50
<i>DPPH</i> .....	50
<i>FRAP</i> .....	51
<i>ABTS</i> .....	52
Análisis de resultados de capacidad antioxidante.....	53
Análisis de correlación de Pearson.....	57
Capítulo V: Discusión.....	57
Capítulo VI: Conclusiones y Recomendaciones.....	61
Conclusiones.....	61
Recomendaciones.....	62
Bibliografía.....	63
Apéndices .....	74

## Índice de tablas

<b>Tabla 1</b> <i>Clasificación taxonómica del orito</i> .....	24
<b>Tabla 2</b> <i>Identificación de muestras</i> .....	39
<b>Tabla 3</b> <i>Análisis de suelos de plantas de orito sanas</i> .....	40
<b>Tabla 4</b> <i>Análisis de suelo de plantas de orito enfermas de Moko</i> .....	41
<b>Tabla 5</b> <i>Contenido de nutrientes en plantas de orito</i> .....	43
<b>Tabla 6</b> <i>Media descriptiva de compuestos fenólicos</i> .....	44
<b>Tabla 7</b> <i>Media descriptiva de Flavonoides</i> .....	45
<b>Tabla 8</b> <i>Evaluación de supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas</i> .....	47
<b>Tabla 9</b> <i>Media descriptiva de DPPH</i> .....	50
<b>Tabla 10</b> <i>Media descriptiva del método FRAP</i> .....	52
<b>Tabla 11</b> <i>Media descriptiva del método ABTS</i> .....	52
<b>Tabla 12</b> <i>Evaluación de supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas</i> .....	53
<b>Tabla 13</b> <i>Correlación de Pearson entre los principios activos y capacidad antioxidante</i> .....	57

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> <i>Procedimiento del muestreo en hojas de orito</i> .....	34
<b>Figura 2</b> <i>Muestras foliares de Musa acuminata Colla</i> .....	40
<b>Figura 3</b> <i>Contenido de compuestos fenólicos en hojas de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas</i> .....	45
<b>Figura 4</b> <i>Contenido de flavonoides de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas</i> . .....	46
<b>Figura 5</b> <i>Análisis de la varianza del contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas</i> . .....	48
<b>Figura 6</b> <i>Prueba de significancia Tukey sobre el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas</i> .....	48
<b>Figura 7</b> <i>Análisis de la varianza con interacción del contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas</i> .....	49
<b>Figura 8</b> <i>Prueba de significancia Tukey sobre el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas</i> .....	49
<b>Figura 9</b> <i>Contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas</i> .....	50
<b>Figura 10</b> <i>Porcentaje de inhibición de DPPH en Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas</i> .....	51
<b>Figura 11</b> <i>Porcentaje de inhibición de ABTS en Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas</i> . .....	53
<b>Figura 12</b> <i>Análisis de la varianza de la capacidad antioxidante de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas</i> .....	54
<b>Figura 13</b> <i>Prueba de significancia Tukey sobre el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas</i> .....	55

<b>Figura 14</b> <i>Análisis de la varianza con interacción de la capacidad antioxidante de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas.</i> .....	55
<b>Figura 15</b> <i>Prueba de significancia Tukey sobre la capacidad antioxidante de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas</i> .....	56
<b>Figura 16</b> <i>Capacidad antioxidante de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas.</i> .....	56

### Listado de abreviaturas

**TPC:** Contenido total de fenoles

**TFC:** Contenido total de flavonoides

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

**DPPH:** 2,2-difenil-1-picrihidrazilo

**FRAP:** Poder antioxidante reductor férrico

**GAE:** Equivalente de ácido gálico

**QE:** Quercetina

**dw:** Peso seco

**Kg:** Kilogramo

**mg:** Miligramo

**cmol:** Centimol

**H:** Plantas de orito sanas

**St. I:** Plantas de orito cursando etapa inicial de la enfermedad

**St. II:** Plantas de orito cursando etapa intermedia de la enfermedad

**St. III:** Plantas de orito cursando etapa avanzada de la enfermedad

## Resumen

Ecuador es uno de los principales países productores y exportadores de musáceas donde destaca banana Cavendish, banano rojo y orito, este último es una fruta muy nutritiva y exótica, sin duda atractiva para el mercado internacional. Sin embargo, tanto la producción como el rendimiento del orito se ve afectado, ya que, el cultivo es altamente susceptible a la enfermedad del Moko producido por la bacteria *Ralstonia Solanacearum* raza 2 que afecta al sistema vascular de las plantas y desencadena amarillamiento- marchitez en sus hojas, el método comúnmente utilizado es la eliminación de las plantas afectadas. Por ello, se planteó en el presente trabajo analizar el contenido nutricional en el suelo y a nivel foliar, cuantificar principios activos (compuestos fenólicos y flavonoides) y determinar la actividad biológica mediante la capacidad antioxidante presentes en las plantas sanas y afectadas por la enfermedad del Moko para comprender el mecanismo de defensa que emplean las plantas de orito frente a la enfermedad. Se realizaron análisis de suelo y foliares para determinar el contenido de micro y macro nutrientes presentes, en el caso de principios activos se utilizó el método Folin Ciocalteu para compuestos fenólicos y método  $AlCl_3$  para flavonoides; además para cuantificar la capacidad antioxidante se hizo mediante tres métodos DPPH, ABTS y FRAP. Los resultados mostraron que la deficiencia tanto en el suelo como a nivel foliar puede estar relacionado con la presencia de la enfermedad notablemente se afirma que K se relaciona con la síntesis de compuestos fenólicos que son de suma importancia como estrategia de las plantas de orito, es por ello que se evidenció mayor contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en las plantas de orito que cursaban la etapa intermedia de la enfermedad (St.II) en conjunto con una alta cantidad antioxidante. Finalmente, se comprueba una correlación fuertemente positiva entre principios activos y capacidad antioxidante.

*Palabras clave:* orito, musáceas, compuestos fenólicos, flavonoides, nutrientes.

### **Abstract**

Ecuador is one of the main producing and exporting countries of musáceas where Cavendish banana, red banana and orito stand out, the latter being a very nutritious and exotic fruit, being attractive to the international market. However, both the production and the yield of the orito are affected, since the crop is highly susceptible to the Moko disease produced by the bacterium *Ralstonia Solanacearum* race 2 that affects the vascular system of the plants and triggers yellowing-wilting in its leaves, the commonly used method is the removal of the affected plants. For this reason, it was proposed in the present work to analyze the nutritional content in the soil and at the foliar level, to quantify active principles (phenolic compounds and flavonoids) and to determine the biological activity through the antioxidant capacity present in healthy plants and those affected by Moko disease. to understand the defense mechanism used by orito plants against the disease. Soil and foliar analyzes were carried out to determine the content of micro and macro nutrients present. In the case of active principles, the Folin Ciocalteu method was used for phenolic compounds and the  $AlCl_3$  method for flavonoids; In addition, to quantify the antioxidant capacity, it was done using three methods: DPPH, ABTS and FRAP. The results showed that the deficiency of both in the soil and at the foliar level can be related to the presence of the disease, notably it is affirmed that K is related to the synthesis of phenolic compounds that are of the utmost importance as a strategy of orito plants, that is why a higher content of phenolic compounds and flavonoids was evidenced in the orito plants that were in the intermediate stage of the disease (St.II) together with a high amount of antioxidants. Finally, a strongly positive correlation between active principles and antioxidant capacity is verified.

*Keywords:* orito, musaceas, phenolic compounds, flavonoids, nutrients

## Capítulo I: Introducción

### Antecedentes

El inicio del cultivo de las musáceas radica en las islas del sudeste asiático hace aproximadamente 10.000 años, la producción extensa de este tipo de cultivos fue generada gracias a su domesticación por parte de los agricultores, gracias a aquello se cuenta con la presencia de diversas variedades del cultivo en la actualidad (Martínez & Rey, 2021).

La competitividad a nivel mundial en la producción y distribución de las musáceas, ha determinado un gran índice de incurrancia en la exportación de los países de América Latina y el Caribe, en especial de Ecuador, que es considerado en el mercado internacional como el país exportador número uno de plátanos y bananas, con una participación de 6,64 millones de toneladas anuales, afirmado por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación en el año 2018 (Mayorga et al., 2022).

La producción de musáceas ha sido motivada en el país por su variedad, el cual ha llevado al mercado internacional a partir de la década de los cuarenta, al exportar las bananas, como baby banana (orito), banano rojo y la demanda mayoritaria de Cavendish (Mayorga et al., 2022). Sin embargo, desde hace tiempo las musáceas han sido empleadas por sus numerosos beneficios como sus hojas, flores, cáscara de la fruta que poseen propiedades antibacterianas y antioxidantes, las partes comestibles, tanto el fruto como el pseudotallo son fuente de energía (Y. Sharma et al., 2016).

El cultivo de las musáceas, como es el caso del plátano y banano que incluye la baby banana (orito) contiene un grado de participación relevante a nivel local, debido a su implicación en la alimentación diaria del ser humano, seguido del arroz, trigo y la leche, el género *Musa* cubre aproximadamente 5.6 millones de hectáreas en Ecuador, Filipinas, Costa Rica, Colombia y Guatemala (Lara et al., 2021). Por tanto, la baby banana es uno de los cultivos más predominantes en la exportación de musas conjuntamente con Cavendish, considerado como el segundo producto no petrolero, exportable para Ecuador, generando el

incremento de la economía, plazas de empleo y nuevas oportunidades sociales para el país en vías de desarrollo.

En la actualidad los frutos continúan siendo indispensables en la alimentación del ser humano proporcionando seguridad alimentaria, ya que son una fuente de nutrientes especialmente de potasio, sodio, así como rico en azúcares, ayudando al desarrollo del mecanismo de contracción muscular, además de ser considerados como excelentes suplementos dietéticos al tener vitaminas, minerales y carbohidratos (Y. Sharma et al., 2016).

Su uso también se ha centrado a fines medicinales generalmente presentados como extractos a nivel de raíz para aliviar dolor de muelas, infecciones cutáneas, quemaduras y diarrea, en cambio la utilización de flor y fruto para aliviar el dolor abdominal, finalmente el pseudotallo para afecciones nerviosas; inclusive el extracto de la hoja, al ser una mezcla de polihidrofenoles y taninos confiere propiedades antibióticas contra *Mycobacterium phlei* y *Rhodococcus* (Ortiz et al., 2021)

Es por ello, que el cuidado de las plantaciones de musáceas en el país, es un evento crítico para los grandes y pequeños productores, debido al incremento de plagas, como es la enfermedad del Moko, desencadenada por la bacteria *Ralstonia Solanacearum* raza 2, que causa grandes pérdidas de innumerables extensiones de cultivo, siendo así un factor que genera intriga y preocupación en el sector agrícola, el cual fue detectado por primera vez en octubre de 2013, en el Cantón Manabí, acontecida en el plátano barraganete con necrosis en tejido vascular de rizomas y pseudotallo (Delgado et al., 2014).

Las plantaciones sufren de un quebranto en su rendimiento y productividad, debido a la presencia del Moko, el cual conlleva consecuencias como pérdidas económicas, desempleo para el sector agrícola, al ser una fuente principal de ingresos tras el trabajo directo e indirecto ejecutado por los obreros de las diferentes haciendas productoras del país.

La presencia de la bacteria *Ralstonia Solanacearum* raza 2, induce marchitez a la planta, el cual reduce la productividad y existe un colapso de sus hojas más jóvenes, dando

inicio a que en algunos casos los frutos inmaduros de las plantas se presenten con un color amarillento y pudrición seca de la pulpa, el cual se expone en infecciones tempranas o precedente a la floración (Ceballos et al., 2014). Los síntomas percibidos por las plantaciones, pueden tardar en desarrollarse varias semanas, debido a que se requiere de un análisis para el reconocimiento del Moko, que puede dar presencia en cualquier estado fenológico del cultivo (Ceballos et al., 2013).

El manejo para el cuidado de las plantaciones de musáceas está bajo diversas condiciones, debido a que la bacteria *Ralstonia Solanacearum* raza 2 perdura alrededor de 2 a 10 años en suelos en descanso, posterior a estar cultivadas con musáceas infectadas, así como es transmitida por insectos, herramientas, contacto de las raíces de las plantaciones, agua contaminada, transporte de colinos infectados y residuos vegetales (Llano et al., 2018). Por lo tanto, la multiplicación de los patógenos se declina instantáneamente en los cultivos susceptibles de medidas de prevención empleada por los agricultores.

El control fitosanitario es una herramienta empleada por las técnicas de carácter preventivo que defienden a una zona definida en una localidad del país, por lo que actualmente se maneja un protocolo de seguridad fitosanitario, como es el caso de la desinfección de la plantación y desimanación de plagas, con la finalidad de emplear monitoreo en puntos estratégicos para la detección de plagas que disminuyen la productividad de la plantación (AGROCALIDAD, 2020).

### **Justificación**

*Musa acuminata* Colla (orito), ha experimentado cambios en su actividad económica, debido al aumento de las exportaciones en un 10,83% en 2021 a comparación del año 2020, debido al incremento de adquisiciones por parte de África, Estados Unidos, Europa del Sur y Cono Sur (El Universo, 2021). A diferencia de la disminución en la exportación del banano orgánico en un 4,16%, debido a la disminución de la adquisición del Bloque de la Unión Europea; Sin embargo, es importante recalcar que el género *Musa* en el año 2022, contiene

una representación del 2% del PIB general y el 35% del PIB agrícola, formada por 8.000 hectáreas de cultivo orgánico de orito (AGROCALIDAD, 2022).

El cultivo de *Musa acuminata* Colla, es un cultivo tradicional exótico, debido a que en su gran mayoría las hectáreas producidas son de origen orgánico, por lo que en gran parte están en responsabilidad de pequeños y medianos productores agrícolas, situado en las provincias de El Oro, Guayas, Cotopaxi, Bolívar, Azuay, Chimborazo, Esmeraldas y Santo Domingo (MAGAP, 2018).

Las áreas dedicadas al cultivo de banano y plátano son propensas a presentar varios problemas fitosanitarios que son causados por plagas o enfermedades en donde el índice de afectación a los cultivares está condicionado por el ambiente y la forma de manejo de las plantas (Asociación de Bananeros de Colombia, Augura, 2009).

La incertidumbre en los cultivos de orito, se debe a que es susceptible ante enfermedades y plagas que disminuyen la productividad de la plantación, conforme a la marchitez bacteriana originada por *Ralstonia Solanacearum* raza 2, que puede incitar a la muerte del cultivo, debido a mutaciones de la bacteria a linajes virulentos (Torres et al., 2014). Tal es el caso que, para el empleo de un método eficaz de manejo para la enfermedad, se han realizado pruebas moleculares, con la finalidad de tipificar el microorganismo causante del Moko y su erradicación (Lara et al., 2021).

La enfermedad del Moko es de gran preocupación después de la Sigatoka Negra porque ha causado grandes pérdidas de plantaciones provocando un reemplazo total de los cultivares por árboles frutales ya que se ha reportado pérdidas de producción alrededor del 70-100% con casos que se han extendido por América del Sur y el Caribe es decir Brasil, Colombia, Ecuador, Guyana, Surinam, Perú y Venezuela (Álvarez et al., 2015).

La enfermedad originada por *Ralstonia Solanacearum* raza 2 en el orito, se evidencia en su sintomatología externa, puesto que enlaza directamente con la transmisión e infección; por ejemplo, en las plantaciones pequeñas tienen presencia a través del marchitamiento y

amarillamiento en las hojas, a diferencia que en plantaciones jóvenes y adultas hacen referencia a la flacidez empleada en las hojas, como la manifestación de una franja de color amarillo bordeando la hoja, llegando a secar el centro de la hoja y dañando el tejido vegetal, lo que genera necrosis (Obregón et al., 2008).

El método más utilizado para la destrucción de las plantaciones de orito afectadas por el Moko, empleadas por los agricultores de las diferentes haciendas productoras, consiste en la eliminación de aproximadamente nueve plantas aparentemente sanas por cada planta afectada, por lo que se procede aplicar glifosato al 20%, con la finalidad de poder prevenir los costos altos por mantenimiento en las zonas afectadas (Obregón et al., 2011).

Se ha pronunciado, que existe una gran problemática por la presencia en América Latina y el Caribe de la enfermedad del Moko, originada por la bacteria *Ralstonia Solanacearum* raza 2, provocando un riesgo de amplia dispersión, conforme a su afectación de alto grado en las etapas de desarrollo de la plantación de musáceas, dando como resultado la disminución de la producción hasta en un 80% de su totalidad (Bautista et al., 2016).

En la actualidad, no existe un método para la recuperación del cultivo de orito lo más recomendable es su eliminación, sin embargo, se puede implementar el plan de acción ante la presencia del Moko por parte de AGROCALIDAD, ya que según Diario La Hora (2022), durante el 2021 se detectaron 84 hallazgos confirmados de síntomas de la enfermedad en plantas de banano o plátano distribuidos en 11 provincias.

Ante la problemática, se plantea con el presente trabajo analizar el contenido nutricional a nivel de suelo y foliar en conjunto con la cuantificación de principios activos y determinación de la actividad biológica mediante la capacidad antioxidante presentes en las plantas sanas y afectadas por la enfermedad del Moko de tal forma que se establezca el rol de cada factor en la defensa de las plantas.

## Objetivos

### **Objetivo general**

Evaluar el estado nutricional, metabólico y biológico de plantas de *Musa acuminata* Colla (orito) sanas y afectadas por la enfermedad del Moko.

### **Objetivos específicos**

- Recolectar muestras de plantas de orito sanas e infectadas con el patógeno *Ralstonia solanacearum* raza 2, en las tres etapas del desarrollo de la enfermedad.
- Determinar el contenido nutricional de las plantas de orito sanas y afectadas por la enfermedad del Moko, empleando análisis de suelo y foliares para establecer su rol en la defensa de la planta.
- Analizar la concentración de principios activos (fenoles y flavonoides) implicados en la defensa de la planta de orito, tanto sana como infectadas por la bacteria *Ralstonia solanacearum* raza 2 empleando métodos espectrofotométricos.
- Medir la capacidad antioxidante mediante ensayos espectrofotométricos DPPH, FRAP y ABTS en plantas de orito sanas y afectadas por la enfermedad de Moko cursando las tres etapas del desarrollo de la enfermedad, para establecer su rol en la defensa de la planta.
- Realizar comparaciones de las características metabólicas, nutricionales y biológicas de plantas de orito sanas y afectadas por la enfermedad del Moko.

### **Hipótesis**

El estado nutricional, la concentración de principios activos y la capacidad antioxidante están relacionados con la defensa de las plantas de *Musa acuminata* Colla, frente a la enfermedad del Moko.

## Capítulo II: Marco Teórico

### Origen y distribución

Los bananos se originaron principalmente en las zonas tropicales del sudeste asiático, por ello, se considera como centro de origen Malasia, posteriormente su distribución se extendió por la India y Birmania (Kumar et al., 2021). Además, se cree que la amplia distribución de este cultivo a lo largo del tiempo se dio a través de material vegetal transportado por el hombre, en la actualidad a nivel mundial existen más de mil variedades de banano (Heslop-Harrison & Schwarzacher, 2007).

La diversidad de cultivares de bananos y plátanos se han generado por hibridaciones intraespecíficos e interespecíficos de dos especies silvestres *Musa acuminata* Colla y *Musa balbisiana* que dieron lugar a cultivares diploides, triploides y tetraploides que en su mayoría son comestibles (Mathew & Negi, 2017). En el caso del orito es un diploide AA que contiene siete subespecies en su mayoría no están bien definidas, pero son muy atractivos por presentar distinta distribución, morfología y algunos son estériles o poco fértiles (S. Silva O., 2000).

El orito es también denominado como bocadillo, banana bebé, lady finger, sucrier y murapo de acuerdo a la región donde es cultivado siendo reconocido por ser una fruta muy dulce y de tamaño pequeño, además de ser identificado como una variedad de menor tamaño que la variedad Cavendish (Robinson & Saúco, 2010). Actualmente la banana bebé se cultiva en América Central, África y Filipinas, sin embargo, varios países se destacan como: Brasil, Costa Rica, Venezuela, Kenia, Ecuador y Colombia (Pino et al., 2017).

### Zonas de producción

Para la economía de países productores de bananos es primordial contar con la exportación de esta fruta para obtener ingresos ya que el banano es considerado una de las frutas más consumidas y comercializadas a nivel mundial, aunque la variedad con mayor acogida en mercado internacional es la banana Cavendish también se exporta en menor escala el orito (Nadal-Medina et al., 2009).

El cultivo de orito en el Ecuador al inicio era destinado exclusivamente para consumo interno de la población y cubre una superficie de aproximadamente 6.839 hectáreas en total que se encuentran localizadas en las provincias de El Oro, Cotopaxi, Guayas, Bolívar y Santo Domingo (INIAP, 2021).

Las exportaciones de orito van incrementando cada año debido a su alta demanda por países que consideran a esta variedad de banano como una fruta exótica tal es el caso de Rusia, Unión Europea, Japón, Estados Unidos, Francia y China (FAO, 2022).

Es por ello, que el orito ecuatoriano ya ha tenido un impacto en el mercado internacional empresas como Earthfructifera, Exportadora del Sur y Asociación de Pequeños Productores Bananeros se dedican a la producción y exportación de banana bebé, bananos orgánicos y banana Cavendish dentro de sus principales productos (Ministerio de Comercio Internacional, 2018).

### **Clasificación taxonómica**

Las bananas son plantas que pertenecen a la familia de las Musáceas del género *Musa* el mismo que comprende alrededor de 65 especies entre bananos y plátanos tanto silvestres como domesticados, por tanto, este género posee cuatro secciones: Eumusa, Callimusa, Rhosochlamys y Australimusa, por ello, se destaca Eumusa al tener frutos de interés comercial son sin semilla y de pulpa abundante, por ende, se considera una especie importante a *Musa acuminata* Colla que forma parte de los frutos comestibles (Mathew & Negi, 2017).

### **Tabla 1**

*Clasificación taxonómica del orito*

<b>Taxón</b>	<b>Categoría</b>
Reino	Plantae
División	Magnoliphyta
Clase	Liliopsida
Orden	Zingiberales

<b>Taxón</b>	<b>Categoría</b>
Familia	Musaceae
Género	<i>Musa</i>
Especie	<i>Musa acuminata</i>
	Colla

*Nota.* Recuperado de A Comprehensive Review on Phytochemical, Nutritional, and Therapeutic Importance of *Musa acuminata* por Kumar et al., 2021, International Journal of Current Research and Review, (13), p. 114-124.

### **Características botánicas**

*Musa acuminata* Colla (orito) es una planta monocotiledónea herbácea que posee un tallo subterráneo denominado rizoma o cormo se refiere a un eje bulboso que da lugar al desarrollo del follaje y raíces adventicias, por tanto, se origina un pseudotallo cónico delgado formado por las vainas foliares superpuestas comprende la parte aérea de la planta que alcanza de 2 a 3,6 m de altura y aproximadamente 25 cm de diámetro (Lim, 2012).

Las hojas se disponen de forma espiral porque brotan en el centro del pseudotallo y su crecimiento se extiende hasta 2,5 m de largo y 0,5 m de ancho, son grandes elípticas- oblongas de margen entero y nervaduras pinnadas tienen una coloración marrón en la base del pecíolo (Castro, 2015).

Presentan una inflorescencia que se origina como tallo floral desde el cormo el mismo que crece por el pseudotallo y emerge en forma de bellota que se desprende cuando el desarrollo del racimo está a la mitad, por tanto, las flores forman círculos concéntricos situados en las bases de las brácteas, en la zona basal se encuentran flores femeninas son gran tamaño en donde los ovarios son bien desarrollados sin embargo por ausencia de polinización generan frutos partenocárpicos, en cambio, en la zona distal se encuentran flores masculinas que presentan ovarios atrofiados no dan lugar a frutos, tienen polen al terminar la inflorescencia estas quedan expuestas (Rosales, 2008).

Posteriormente, se forma el racimo que contiene varias manos que aproximadamente de 14 a 18 dedos por cada una; los frutos son pequeños de 6 a 12 cm de largo y 1,5 a 3,0 de ancho, la pulpa es carnosa de color blanco marfil cuando alcanzan la madurez el pericarpio es de 2 mm y su coloración es amarillo (Castro, 2015).

### **Edafología**

El cultivo de musáceas, se encuentran entre las regiones tropicales y subtropicales con diferentes propiedades fisicoquímicas y biológicas medidas cualitativa o cuantitativamente con la finalidad de proveer los indicadores para determinar la capacidad del suelo (Villarreal et al., 2013). Pese a la aplicación de técnicas e insumos ha provocado que el cultivo de las musáceas disminuya la productividad por el agotamiento de los suelos (Rosales et al., 2010).

Los agricultores son recomendados por el ente de Regulación y Control, en el cual se especifica, que la selección de los suelos para cultivos debe ser desarrollados en una topografía relativamente plana para evitar al máximo la erosión del mismo (Turner et al., 2005). Un suelo que contenga materia orgánica, apoya el proceso de mineralización para el sustento del cultivo (Monsalve-C et al., 2017); por lo que la degradación de la materia orgánica indica a través del proceso inherente a los microorganismos heterotróficos el nivel de la actividad microbiana del suelo (Paolini, 2018).

La plantación de musáceas exige de suelos profundos, que contengan estructuras y texturas francas que posean pH, ácidos levemente alcalinos y bajos contenidos de carbonato de calcio que permitan un buen drenaje en la zona de cultivo (Cigales & Pérez, 2011). Por otro lado, la baja fertilidad del suelo es causada por las plagas, mala gestión de cultivos, estrés y enfermedades conllevadas por la sequía de agua (Van Asten et al., 2011), limitando de esa manera su producción.

### **Enfermedades que afectan al cultivo**

En las especies del género *Musa* se ha dado mayor interés a ciertas enfermedades a las que son altamente susceptibles como el Mal de Panamá y la Sigatoka Negra ambas son

enfermedades fúngicas, sin embargo, ahora toma relevancia el impacto que pueden causar también las bacterias en los cultivos como el banano donde cada vez es más urgente adoptar prácticas de control eficientes entre las enfermedades bacterianas presentes por el marchitamiento foliar es el causado por *Xanthomonas campestris* y *Ralstonia solanacearum* raza 2 (Blomme et al., 2017).

### **Enfermedad del moko**

La enfermedad del Moko afecta alrededor de 200 especies donde se incluyen las bananas y plátanos, es causada por la bacteria *Ralstonia solanacearum* raza 2 y es fácilmente identificada porque desencadena una marchitez vascular por un bloqueo de vasos del xilema dificultando el transporte de agua (Álvarez et al., 2015).

La afección provocada por la enfermedad se genera cuando la bacteria penetra el cultivo ya sea de forma natural por estomas o por daños mecánicos provocados por herramientas contaminadas sin importar la fase del desarrollo de la planta, por tanto, la dispersión de la enfermedad ocurre fácilmente porque la bacteria puede permanecer latente en materia orgánica del suelo y reservorios de agua contaminada destinada para el riego (Álvarez et al., 2015).

En cultivares jóvenes el progreso de infección es mucho más agresivo inicia con el amarillamiento de las hojas en desarrollo en conjunto con la necrosis de la hoja principal, sin embargo, en una planta ya en producción existe una coloración rojiza a negra en los frutos, al igual que hay necrosis en la flor masculina (Manzo-Sánchez et al., 2014).

Adicionalmente, la sintomatología a nivel interno se evidencia al realizar un corte transversal del cormo y observar a los haces vasculares con líneas de coloración marrón o negro debido a la infección, en el pseudotallo es evidente la segregación de un exudado bacteriano y se observa los haces vasculares de color café porque existe un taponamiento por presencia de sustancias poliméricas extracelulares (Alarcón & Jiménez, 2012)

**Agente causal.**

La bacteria *Ralstonia Solanacearum* raza 2, se refiere a un amplio rango de hospederos, debido a su fácil diseminación, alta variabilidad fisiológica y genética, por eso se debe contar con un riguroso control en las zonas afectadas (Obregón et al., 2008). El agente causal conlleva a la presencia del marchitamiento y amarillamiento de las hojas, dando inicio por las hojas más jóvenes, a su vez la pudrición seca de la pulpa (S. O. Silva et al., 2000). Se incluye el diagnóstico temprano anterior a la floración, motivo por el cual se denota un desarrollo anormal del racimo.

*Ralstonia Solanacearum* raza 2, es determinada como una especie heterogénea que, debido a su diversidad genética, se ha clasificado en cinco razas respecto a su rango de hospederos y 6 biovars referente a su capacidad metabólica por el uso de fuentes de carbono (Perea et al., 2011).

Naturalmente como patógeno difunde por el suelo a las diferentes zonas infectadas, por lo que a su rara vez pueden ser reutilizadas, inclusive una vez realizada la rotación con plantaciones no hospedantes, por lo que se trata de controlar con plantaciones resistentes y tolerantes a través de medidas de saneamiento profiláctico. (Peeters et al., 2013).

**Mecanismo de defensa de las plantas**

Las plantas contienen un sin número de nutrientes que apoyan al desarrollo de la misma, tal es el caso de los macronutrientes como nitrógeno, potasio, magnesio, calcio, fósforo, azufre; por otro lado, se sitúan los micronutrientes que se presentan en una porción más pequeña en los tejidos vegetales como manganeso, hierro, zinc, cloruro, cobre, cobalto y níquel (Maathuis & Diatloff, 2013); sin embargo, los cultivos también deben sintetizar proteínas de transporte para absorber nitrógeno con la finalidad de obtener eficiencia en el uso de los nutrientes (Escudero & Mediavilla, 2003).

Las plantas han desarrollado varias estrategias para minimizar el daño causado por organismos invasores y disminuir el impacto que pueda tener en el rendimiento del cultivo, por

ello se hace alusión a mantener rasgos de resistencia y tolerancia respectivamente (Mitchell et al., 2016). Los nutrientes aportan a la supervivencia al cultivo mediante vías sistemáticas (Camacho et al., 2020).

Por lo tanto, las plantas para defenderse emplean como primera línea el reconocimiento de patrones moleculares asociados a microorganismos (PAMPs) los mismos que para ser identificados requieren de receptores específicos ubicados en la superficie celular (PRRs) tras la detección de PAMPs se genera la activación de respuestas como protección al ataque del patógeno que incluyen flujo de iones específicos, estrés oxidativo, síntesis de fitoalexinas entre otras (Jones & Dangl, 2006).

La segunda línea de defensa se da por interacción de moléculas denominadas efectores que son producidos y específicos de cada patógeno, capaces de suprimir la inmunidad de la planta por ende los mismos son reconocidos por proteínas R entonces se desencadena una respuesta hipersensible determinada por la presencia de una muerte rápida de las primeras células infectadas de tal forma que no es posible la expansión del patógeno en la planta (Bent & Mackey, 2007).

Las plantas utilizan como sistema de defensa barreras físicas, que incluyen estructuras morfológicas especiales como tricomas, espinas o ceras que son útiles para disuadir, principalmente plagas de insectos, a su vez al lograr detectar la presencia de algún patógeno su forma de defenderse, es produciendo sustancias químicas y proteínas que logran eliminar o retrasar el desarrollo y reproducción del organismo invasor (War et al., 2012).

### **Defensa química en plantas**

Los componentes químicos presentes en las plantas se dividen acorde al rol que desempeñan en los procesos metabólicos son primarios y secundarios (Montiel, 1980).

#### ***Metabolitos primarios***

Están ampliamente distribuidos en la naturaleza y presentes en todas las plantas son los azúcares, ácidos orgánicos y aminoácidos que son componentes indispensables en el

crecimiento, desarrollo de las plantas; se reconocen como moléculas de señalización que generan una respuesta de defensa por medio de una transducción de señales y el proceso de reconocimiento de organismos invasores (Rojas et al., 2014). Por tanto, este tipo de metabolitos brindan suministros que se requiere para los procesos como la fotosíntesis, translocación y respiración (Rojas et al., 2014).

### ***Metabolitos secundarios***

Se denomina metabolitos secundarios o principios activos, se trata de sustancias que no están asociadas de forma directa con el crecimiento y desarrollo de las plantas más bien se consideran como el producto de los metabolitos primarios, cuya función se enfoca en aumentar su supervivencia, por ende, están principalmente involucrados en la adaptación a diferentes entornos porque brindan una protección contra el estrés ambiental y defensa frente a la invasión de patógenos, insectos y herbívoros, es por eso que la activación de su síntesis va a depender de la circunstancia adversa que atraviese la planta (Twajj & Hasan, 2022).

De acuerdo a su composición se ha categorizado a los metabolitos secundarios de la siguiente manera: grupos fenólicos (contienen azúcares simples y benceno), terpenos y esteroides (tienen carbono e hidrógeno) y compuestos que contienen nitrógeno (Twajj & Hasan, 2022).

Las especies vegetales que pertenecen a la familia Musaceae contienen una diversidad de metabolitos secundarios en diferentes partes de las plantas como frutos, pseudotallo, hojas, flor y raíces, específicamente se ha encontrado compuestos fenólicos, carotenoides y fitoesteroides donde algunos actúan como antioxidantes; adicionalmente, en el pseudotallo de *Musa acuminata* se identificaron flavonoides, compuestos fenólicos, saponinas, taninos, alcaloides y glucósidos cardíacos (Jirakiattikul et al., 2021).

### ***Compuestos fenólicos.***

Son los metabolitos secundarios más comunes del reino vegetal pues son utilizados por las plantas principalmente para la biosíntesis de lignina y pigmentos, protección contra el

ataque de patógenos; dichos compuestos son de gran importancia también para el ser humano ya que poseen propiedades beneficiosas al ser antioxidantes, antimicrobianos, antiinflamatorios, cardioprotectores y antialérgicos (Bastola et al., 2017).

### ***Método Folin Ciocalteu***

Es un ensayo colorimétrico que sirve para determinar la concentración total de grupos hidroxilo existentes en diferentes extractos vegetales o alimentos.

Se producen reacciones de tipo oxido-reducción. porque se genera una transferencia de electrones por parte de compuestos fenólicos, hacia los complejos de ácido fosfotúngstico-fosfomolibdico en un medio alcalino formado por el carbonato de sodio, este último permite la formación de grupos de iones fenolato y por ende existe una reducción de los compuestos ácidos que contiene el reactivo de Folin Ciocalteu; al estar presentes en la reacción, elementos como el tungsteno y molibdeno, su estado de oxidación se reduce de 6+ a 5+ oxidando el anillo fenólico, por ende, la cuantificación de compuestos fenólicos estará en función del grado de reducción de molibdeno y tungsteno (Carmona et al., 2021).

Por lo tanto, resulta un cambio inicial de coloración de amarillo a azul, aunque la tonalidad dependerá del número de grupos fenólicos que reaccionen y se determina por espectrofotometría de luz visible a 765 nm. Adicionalmente, para la cuantificación se realiza basándose en una curva de calibración utilizando ácido gálico como estándar por su alta solubilidad en agua y bajo costo; sin embargo, es posible emplear ácido ferúlico, catecol y ácido clorogénico (Bastola et al., 2017).

### **Flavonoides**

Los flavonoides son sustancias fotoquímicas, solidas cristalizadas presenciando un color blanco o amarillento, siendo fácilmente oxidantes teniendo consigo efecto antioxidante (López, 2002). Tiene una subdivisión según su estructura química, tal como es el caso de las antocianinas y antoxantinas (Ochoa & Ayala, 2004), No obstante, son pigmentos naturales que hacen presencia en los vegetales, siendo metabolitos secundarios, establecidos

particularmente por una estructura benzo y pirano, protegiendo al organismo del perjuicio de los agentes oxidantes, por ejemplo, los rayos ultravioletas y sustancias químicas que se muestran en los alimentos (Martinez et al., 2002).

Además, son de vital importancia para el desarrollo y funcionamiento de las plantaciones (Cartaya et al., 2001), en la que tiene reacción de respuesta a la luz y controlan los niveles de auxinas reguladoras del crecimiento siendo antifúngicos y bactericidas, con la finalidad de cuidar el cultivo ante el daño natural de los organismos (Soriano et al., 2006).

### ***Método de AICI3***

Es uno de los métodos más idóneos para conocer el contenido total de flavonoides, posterior a una extracción de plantas, con un solvente porque existe una gran afinidad por parte de los flavonoides para unirse con iones metálicos como el aluminio se considera que sucede en proporción 1:1 y los estándares más utilizados son quercetina, catequina y rutina (Shraim et al., 2021).

### **Capacidad antioxidante**

Los antioxidantes son un conjunto de moléculas inhibidoras del estrés oxidativo de nivel celular, el cual está asociado a la evolución de las enfermedades (Rivas et al., 2015). Es así que, la intervención de los antioxidantes en la defensa de la planta ante patógenos, se da en el control de las cascadas de oxidación, protegiendo así contra los daños oxidativos a las células (Peralta & Volke, 2012).

### ***Método DPPH***

Es un método colorimétrico que permite evaluar la capacidad antioxidante cuyo fundamento se basa en la existencia de un radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) que es estable y presenta deslocalización del electrón desapareado, el mismo que al estar en contacto con una sustancia donadora de un átomo de hidrógeno se produce una reducción de DPPH, es decir hay un cambio de coloración de violeta a amarillo debido a una disminución de absorbancia (Kedare & Singh, 2011).

Para la ejecución del método se emplea como estándar al ácido ascórbico o trolox, donde los valores de absorbancia se miden a una longitud de onda comprendida entre 515-520 nm; para el reporte de resultados se considera el término concentración inhibitoria al 50% ( $IC_{50}$ ) que hace referencia a la concentración de sustrato que induce al 50% de reducción de color de DPPH (Kedare & Singh, 2011).

### ***Método FRAP***

Es un ensayo colorimétrico que se fundamenta en la reducción de un complejo  $Fe^{3+}$ -TPTZ que es incoloro y al entrar en contacto con un compuesto antioxidante se genera una transferencia de un electrón y se forma un complejo  $Fe^{2+}$ -TPTZ de coloración azul a un pH de 3,6 es decir en medio ácido, el mismo que es necesario para la solubilidad del hierro; si bien el TPTZ es el ligando de unión del Fe se puede emplear ferrozina y además se usa como estándar sulfato ferroso heptahidratado o soluciones de iones ferrosos para realizar la cuantificación se mide en un espectrofotómetro a 593 nm (Christodoulou et al., 2022).

### ***Método ABTS***

Se fundamenta en la capacidad que poseen los compuestos antioxidantes para la captación del catión radical ABTS, sucede por transferencia de electrones y desencadena un decremento en la absorbancia que produce un cromóforo azul verdoso que puede ser medido a una longitud de onda 734 nm; la formación del catión radical ABTS viene dada por una mezcla de ABTS 7mM y persulfato de potasio 2,45 mM en relación 1:1 (Xiao et al., 2020).

## **Capítulo III: Materiales y Métodos**

### **Zona de estudio**

Las muestras vegetales y de suelo fueron recolectadas en la Hacienda “Las Marías”-Tenka ubicada en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, cantón Santo Domingo, parroquia El Esfuerzo a una altura de 580 msnm en las coordenadas GPS 0°22'53.3" S, 79°12'46.5" W.

## Recolección de muestras

### ***Muestreo para el análisis de suelos***

Para el análisis de suelos derivados de plantas sanas o enfermas de Moko se realizó un muestreo con pala, se tomó una muestra por cada cultivar de estudio de forma independiente plantas sanas y enfermas, al haber seleccionado el sitio de muestreo se eliminó la cobertura vegetal principalmente piedras, raíces y otros restos que se encuentran adheridos al suelo, se marcó con la pala la profundidad de aproximadamente 20 cm en forma de "V" del ancho de la pala, además se eliminan los bordes aproximadamente 2 a 3 cm; posteriormente, se colocó el suelo en fundas plásticas correctamente etiquetadas.

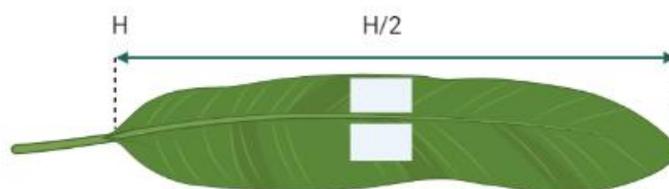
Después de cada muestreo se desinfectaron las herramientas con amonio cuaternario, adicionalmente, las muestras fueron transportadas en una hielera térmica al laboratorio CICTE de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE ubicado en Sangolquí.

### ***Muestreo para el análisis foliar***

En plantas de orito tanto sanas como enfermas de Moko que cursaban las 3 etapas de la enfermedad, se recolectaron por cada planta, la hoja N°3 descartando la hoja bandera, se verificó que la misma este en buenas condiciones, posteriormente el corte se efectuó en la mitad de la hoja de ambos lados de la nervadura central (Figura 1), por consiguiente después de cada muestreo, la desinfección se hizo con amonio cuaternario y las muestras se colocaron en bolsas plásticas, finalmente fueron trasladadas en una hielera térmica al laboratorio CICTE de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE ubicado en Sangolquí.

## Figura 1

*Procedimiento del muestreo en hojas de orito*



### **Pretratamiento de muestras**

A partir de las muestras recolectadas, se destinó una cierta cantidad de suelo y hojas distinguiendo entre plantas sanas y enfermas con Moko para la determinación de contenido de micro y macro nutrientes.

Para hojas, el material seco se analizó el contenido de N por el método micro- Kjeldahl, la cantidad de nutrientes como K, Ca, Mg, Fe, Zn y Cu se determinó por espectrofotometría de absorción atómica, sin embargo, el P se determinó por un método colorimétrico mediante la reacción de vanadato molibdato y el método turbidimétrico para B, finalmente el S por fotometría. Se realizó el anterior procedimiento para las muestras de suelo.

A partir de las muestras foliares de orito, se extrajo una cantidad mínima para obtener el extracto de las mismas, entonces fueron lavadas con agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente durante una semana, posteriormente, al contar ya con muestras secas se trituraron empleando un mortero hasta obtener la cantidad suficiente.

### **Preparación de los extractos**

Los extractos se realizaron en tubos Falcon de 15 mL usando 1 g de muestra seca en 9 mL de etanol al 99,5% se dejó en reposo durante 72 horas en oscuridad, se hizo la extracción por triplicado. Posteriormente, se hizo diluciones para extracto proveniente de planta sana, etapa I y etapa 2 de 1:6, para etapa III de 1:2 que fueron utilizadas para la determinación de principios activos y capacidad antioxidante.

### **Determinación de principios activos**

La cuantificación de los principales principios activos tanto compuestos fenólicos y flavonoides en plantas de orito sanas y afectadas por la enfermedad del Moko se midieron empleando dos métodos espectrofotométricos – colorimétricos como Folin Ciocalteu y  $AlCl_3$ , los productos de las reacciones son medidas a una determinada longitud de onda.

### ***Método Folin Ciocalteu***

El procedimiento que se presenta a continuación fue definido por Pekal & Pyrzynska (2014). Se agregó 0,4 mL de muestra en conjunto con 0,4 mL de reactivo de Folin 1N y 2 mL de agua destilada, se mantuvo en reposo durante 5 minutos a la oscuridad; posteriormente, se añadió 0,4 mL de carbonato de sodio al 20% y 0,8 mL de agua destilada para el blanco se empleó en lugar de extracto diluido etanol absoluto, se conservó en reposo durante 1 hora en oscuridad, el ensayo se hizo por triplicado y las absorbancias se midieron a 765 nm obteniendo tres mediciones de cada una.

La concentración de compuestos fenólicos existentes en los extractos provenientes de las muestras foliares de plantas de orito sanas e infectadas por la enfermedad se obtuvieron teniendo como referencia la curva de calibración donde se usó como estándar ácido gálico a una concentración de 0-500 mg/L cuya ecuación es  $y=0,0061x+0,1393$  ( $R^2= 0,9941$ ), los resultados se han reportado en mg GAE/ g dw.

### ***Método de $AlCl_3$***

La metodología para el siguiente ensayo fue publicada por Fernanda et al., (2018). Se añadió 1 mL de extracto diluido correspondiente, 1,5 mL de alcohol absoluto, 0,1 mL acetato de sodio 1M, 0.1 mL tricloruro de aluminio al 10% y 2.3 mL de agua destilada, posteriormente se mantuvo en reposo durante 40 minutos; cabe recalcar que para el blanco se utiliza etanol y no se debe colocar tricloruro de aluminio, para medir las absorbancias se realizó a una longitud de onda de 435nm tomando en cuenta que el ensayo se hizo por triplicado.

En la elaboración de la curva de calibración se eligió como estándar quercetina de concentración 0-150 ppm cuya ecuación es la siguiente  $y=0,0149x+0.0983$  ( $R^2=0,9915$ ), las unidades para los resultados del ensayo corresponden a mg QE/ g dw.

### **Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos**

La capacidad antioxidante de plantas de orito sanas y afectadas por la enfermedad del Moko se midió empleando tres métodos espectrofotométricos – colorimétricos DPPH, FRAP y

ABTS que se basan en reacciones cuyo fundamento es la transferencia de electrones, por ende, los productos de las reacciones son medidas a una determinada longitud de onda.

### **Método DPPH**

El protocolo para la realización del presente ensayo fue establecido por Baliyan et al., (2022) y se realizó ciertas modificaciones. Se colocó 0,1 mL de cada solución de extracto y 2,9 mL de solución DPPH 0,2 mM en etanol, en el blanco en lugar de la muestra se añadió 0,1 mL de solvente, el ensayo se ejecutó por triplicado, se mantuvo en reposo por 30 minutos en oscuridad, finalmente se realizó la lectura de absorbancias por tres veces a 517 nm y los resultados se expresaron en  $\mu\text{mol Trolox/g dw}$ . Adicionalmente para la elaboración de la curva de calibración se emplearon soluciones estándar de Trolox entre 0- 2,5 mM, cuya ecuación corresponde a  $y=18.073x+1.2252$  ( $R^2= 0.9868$ ).

Por lo tanto, se determinó la capacidad inhibitoria con la fórmula presentada a continuación:

$$\text{Inhibición (\%)} = \frac{Abs_{blanco} - Abs_{muestra}}{Abs_{blanco}} * 100$$

### **Método FRAP**

Para el ensayo FRAP o poder antioxidante reductor férrico se realizó el método definido por Sudan et al., (2014) con ciertas modificaciones. En primer lugar, se preparó la solución FRAP que incluyó 100 mL buffer acetato 300 mM pH 3,6, 10 mL TPTZ 10 mM en HCl 40 mM y 10 mL  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  20 mM. En la ejecución del ensayo se colocó 0,1 mL de muestra, 0,3 mL de agua destilada y 3 mL de solución de trabajo FRAP, se dejó en reposo durante 4 minutos; los resultados fueron medidos en un espectrofotómetro UV-VIS a 593 nm obteniendo 3 mediciones y el ensayo por muestra se ejecutó por triplicado.

La preparación de la curva de calibración consistió en utilizar como estándar una solución acuosa de sulfato ferroso en concentraciones entre 0 a 2,5 mM, cuya ecuación

corresponde a  $y=0,5981x-0.0082$  ( $R^2=0.9989$ ) y los valores resultantes se manifestaron como  $Fe^{2+}$   $\mu\text{mol/g dw}$  (Xiao et al., 2020).

### **Método ABTS**

El procedimiento para el presente ensayo fue descrito por Xiao et al., (2020) con algunas modificaciones. En primera instancia, se preparó la solución madre de ABTS con antelación de 24 horas, se mezcló en relación 1:1 ABTS 7mM y persulfato de potasio 2,45 mM ambos se disuelven en agua. Por lo tanto, la solución madre se diluyó con etanol al 99,5% hasta conseguir una absorbancia de  $0.7\pm 0.05$  a 734 nm a la que se denominó solución de trabajo.

Se procedió a colocar 20 $\mu\text{L}$  de muestra y 2mL de solución de trabajo de ABTS entonces se dejó reposar 7 minutos en oscuridad, el ensayo se ejecutó por triplicado cada dilución y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro de UV-VIS a 734 nm se recopiló 3 mediciones.

En la elaboración de la curva de calibración el estándar fue Trolox a una concentración de 0-2.5 mM cuya ecuación es  $y=34,102+9.2946$  ( $R^2=0.9612$ ), los resultados se expresaron en  $\mu\text{mol Trolox/g dw}$ .

La captación de radicales ABTS se determinó empleando la siguiente ecuación en función del % de inhibición:

$$\text{Inhibición (\%)} = \frac{Abs_{blanco} - Abs_{muestra}}{Abs_{blanco}} * 100$$

### **Análisis estadístico**

Tras obtener los resultados de las pruebas que se ejecutaron por triplicado, los resultados se reportaron como medias y desviación estándar. En primer lugar, se realizó el Test de Shapiro- Wilk para contrastar la normalidad en el conjunto de datos obtenidos y el Test de Levene para confirmar la homogeneidad de las varianzas, con la finalidad de cumplir dichos criterios y realizar pruebas paramétricas.

Por ende, para principios activos se realizó un diseño factorial mixto 2x4 y en el caso de capacidad antioxidante se hizo un diseño factorial 3x4, en ambos se realizó un análisis ANOVA de doble vía, seguido por comparaciones de medias con la Prueba de Tukey. Adicionalmente, se realizó una prueba de correlación de Pearson para constatar las relaciones existentes entre principios activos y la capacidad antioxidante. Todos los análisis se realizaron en InfoStat con el nivel de significancia  $\alpha=0,05$ .

## Capítulo IV: Resultados

### Recolección de muestras

Se recolectaron 4 muestras de *Musa acuminata* Colla identificando de manera correcta la hoja N° 3, sin embargo, para la identificación de cada una, se denominó de la siguiente forma:

**Tabla 2**

*Identificación de muestras*

Muestra	Nombre	Descripción	Abreviatura
1	Plantas de orito sanas	Hojas verdes sin perforaciones	H
2	Plantas de orito cursando etapa inicial de la enfermedad	Hojas jóvenes con indicios de amarillamiento y márgenes oscuros	St I
3	Plantas de orito cursando etapa intermedia de la enfermedad	Debilitamiento en la unión del limbo con el peciolo, hojas más bajas con amarillamiento	St II
4	Plantas de orito cursando etapa avanzada de la enfermedad	Desecación de hojas y hoja bandera amarillenta no erguida	St III

*Nota.* Descripción y abreviatura de las etapas de la enfermedad en función de la sintomatología en plantas de orito con presencia de Moko y plantas de orito sanas.

Por lo consiguiente, tal como se muestra en la Tabla 2, se obtuvo como resultado del muestreo empleado en la Hacienda Las Marías, las plantas de orito sanas y enfermas en diferentes etapas de la enfermedad.

## Figura 2

Muestras foliares de *Musa acuminata* Colla



## Determinación del contenido nutricional

### Análisis de suelo

Los resultados del análisis de suelo en plantas de *Musa acuminata* Colla (orito) sanas y enfermas, se presentan en las Tablas 3 y 4, la misma que indica diferencias significativas entre los valores de suelo sano vs enfermo fueron comparados en base a las referencias descritas por INIAP para la Región Costa.

### Tabla 3

*Análisis de suelos de plantas de orito sanas.*

Parámetro Analizado	Unidad	Contenido adecuado			Suelo sano	Resultado
		Bajo	Medio	Alto		
pH a 25°C	---	-	-	-	6.59	Neutro

Parámetro Analizado	Unidad	Contenido adecuado			Suelo sano	Resultado
		Bajo	Medio	Alto		
Materia orgánica	%	< 3,1	3,1- 5,0	> 5,0	4,15	Medio
Nitrógeno	%	< 0,15	0,15-0,30	> 0,30	0,21	Medio
Fósforo	mg/kg	< 8,0	8,0-14,0	> 14,0	7,9	Bajo
Potasio	cmol/kg	< 0,20	0,20-0,40	> 0,40	0,27	Medio
Calcio	cmol/kg	< 5,0	5,0-9,0	> 9,0	5,14	Medio
Magnesio	cmol/kg	< 1,6	1,6-2,3	> 2,3	1,02	Bajo
Hierro	mg/kg	< 20,0	20,0-40,0	> 40,0	225,4	Alto
Manganeso	mg/kg	< 5,0	5,0-15,0	> 15,0	4,41	Bajo
Cobre	mg/kg	< 1,1	1,1-4,0	> 4,0	7,81	Alto
Zinc	mg/kg	< 3,0	3,0-7,0	> 7,0	3,26	Medio
Boro	mg/kg	< 0,20	0,20-0,49	> 0,49	1,34	Alto
Azufre	mg/kg	< 6,0	6,0-11,0	> 11,0	14,85	Alto

*Nota.* Determinación de exceso y deficiencia de nutrientes presentes en el suelo sano donde se cultiva *Musa acuminata* Colla.

A continuación, en el suelo sano se presencia una deficiencia determinado por un bajo contenido de los siguientes nutrientes: fósforo 7,9 mg/kg, magnesio 1,02 cmol/kg y manganeso con 4,41 mg/kg, a su vez un exceso del contenido de hierro 225,4 mg/kg, boro 1,34 mg/kg y azufre con 14,85mg/kg.

#### **Tabla 4**

*Análisis de suelo de plantas de orito enfermas de Moko.*

Parámetro Analizado	Unidad	Contenido adecuado			Suelo con presencia de la Enfermedad del Moko	Resultado
		Bajo	Medio	Alto		
pH a 25°C	---	-	-	-	6,36	Ligeramente ácido

Parámetro Analizado	Unidad	Contenido adecuado			Suelo con presencia de la Enfermedad del Moko	Resultado
		Bajo	Medio	Alto		
Materia orgánica	%	< 3,1	3,1- 5,0	> 5,0	3,95	Medio
Nitrógeno	%	< 0,15	0,15-0,30	> 0,30	0,20	Medio
Fósforo	mg/kg	< 8,0	8,0-14,0	> 14,0	5,3	Bajo
Potasio	cmol/kg	< 0,20	0,20-0,40	> 0,40	0,13	Bajo
Calcio	cmol/kg	< 5,0	5,0-9,0	> 9,0	2,50	Bajo
Magnesio	cmol/kg	< 1,6	1,6-2,3	> 2,3	0,72	Bajo
Hierro	mg/kg	< 20,0	20,0-40,0	> 40,0	247,7	Alto
Manganeso	mg/kg	< 5,0	5,0-15,0	> 15,0	2,42	Bajo
Cobre	mg/kg	< 1,1	1,1-4,0	> 4,0	7,74	Alto
Zinc	mg/kg	< 3,0	3,0-7,0	> 7,0	1,64	Bajo
Boro	mg/kg	< 0,20	0,20-0,49	> 0,49	2,32	Alto
Azufre	mg/kg	< 6,0	6,0-11,0	> 11,0	14,34	Alto

*Nota.* Determinación de exceso y deficiencia de nutrientes presentes en el suelo con presencia de la enfermedad del Moko donde se cultiva Musa acuminata Colla.

El suelo con presencia de la Enfermedad del Moko tiene un pH ligeramente ácido correspondiente a 6,36, además, existe deficiencia de ciertos nutrientes, es decir un contenido bajo de fósforo con un 5,3 mg/kg, potasio 0.13 cmol/kg, calcio 2,50 cmol/kg, magnesio 0,72 cmol/kg, manganeso 2,42 mg/kg y zinc con 1,64 mg/kg.

Por otra parte, tanto en el suelo sano como el suelo con presencia de la enfermedad del Moko, el % de nitrógeno permanece constante alrededor del 0,20 mostrando estar dentro del intervalo normal estipulado, sin embargo, en el caso del cobre está presente con un 7,81 y 7,74 mg/kg respectivamente. Para el suelo con presencia de la Enfermedad del Moko existe exceso de ciertos nutrientes, es decir un contenido alto de hierro de 247,7 mg/kg, boro 2,32 mg/kg y azufre con 14,34 mg/kg.

### **Análisis Foliar**

Los resultados del análisis de foliar en plantas de *Musa acuminata* Colla (orito) sanas y enfermas, se presentan en la Tabla 5.

**Tabla 5**

*Contenido de nutrientes en plantas de orito*

<b>Parámetro Analizado</b>	<b>Unidad</b>	<b>Plantas de orito sana</b>	<b>Plantas de orito enferma</b>
Cenizas	%	9,86	13,55
Materia Orgánica	%	90,14	86,45
Nitrógeno	%	2,49	2,45
Fósforo	%	0,14	0,12
Potasio	%	4,03	4,45
Calcio	%	0,48	0,78
Magnesio	%	0,22	0,13
Hierro	mg/kg	93,93	114,95
Manganeso	mg/kg	59,46	97,46
Cobre	mg/kg	8,99	7,00
Zinc	mg/kg	18,49	15,99
Boro	mg/kg	11,50	11,00
Azufre	%	0,21	0,26

*Nota.* Determinación del contenido de nutrientes en plantas de oritos sanas y con presencia de la enfermedad del Moko.

Se determina que el contenido de nutrientes en plantas de orito sanas y con la presencia de la enfermedad del Moko son semejantes para nitrógeno que oscila entre 2,49 y 2,45 %, fósforo en 0,14 y 0,12%, potasio en 4,03 y 4,45%, boro en 11,00 y 11,50 mg/kg y azufre en 0,21 y 0,26% respectivamente. Adicionalmente, existen diferencias significativas en

cuanto a la presencia de los nutrientes en gran cantidad de calcio en 0,48 y 0,78%, hierro en 93,93 y 114,95 mg/kg y manganeso en 59,46 y 97,46 mg/kg respectivamente.

### **Análisis de concentración de principios activos**

#### ***Contenido de compuestos fenólicos***

En base a los resultados del método de Folin Ciocalteu, tal como se muestra en la Tabla 6 en función de las medias, las plantas de orito cursando etapa intermedia de la enfermedad (St. II) presenta mayor cantidad de compuestos fenólicos con 4,11 mg GAE/g dw mientras que las plantas de orito sanas (H) posee 1,20 mg GAE/g dw siendo la de menor contenido fenólico.

**Tabla 6**

*Media descriptiva de compuestos fenólicos*

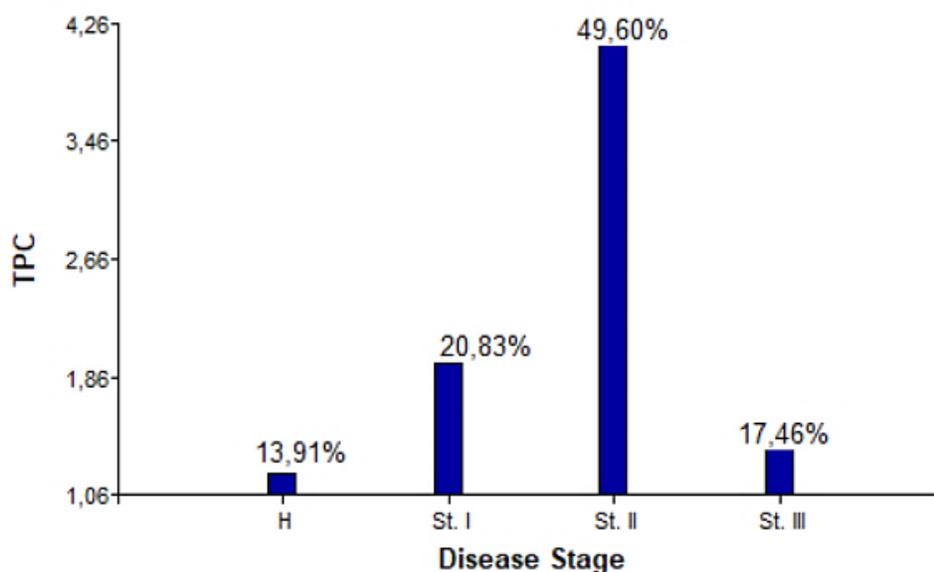
<b>Disease</b>	<b>TPC (mg GAE/g dw)</b>					
	<b>Stage</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>Mean</b>	<b>St. Dev.</b>
H		1,192	1,449	0,971	1,204	0,195
St. I		2,126	2,069	1,670	1,955	0,203
St. II		4,049	4,315	3,978	4,114	0,145
St. III		1,389	1,362	1,401	1,384	0,016

*Nota.* Promedio del contenido de fenoles en las diferentes muestras de los cultivos de *Musa acuminata* Colla.

De acuerdo a lo mencionado anteriormente, en la Figura 4 se presenta una comparación en término porcentual, en el cual se evidencia que el contenido fenólico en la planta de orito cursando etapa intermedia de la enfermedad (St.II), corresponde a un 49,60%, sin embargo, en de las plantas de orito cursando etapa inicial de la enfermedad (St. I ) es del 20,63% y en el caso de las plantas de orito cursando etapa avanzada de la enfermedad (St. III) y plantas de orito sanas (H) , con un 17,46% y 13,91% respectivamente.

**Figura 3**

Contenido de compuestos fenólicos en hojas de *Musa acuminata* Colla (orito) sanas y enfermas.



### Contenido de flavonoides

Como resultados del método  $AlCl_3$ , se visualiza en la Tabla 7, acorde a las medias, se afirma que la predominancia en flavonoides en los extractos etanólicos se da en las plantas de orito cursando etapa intermedia de la enfermedad (St.II), ya que presenta mayor cantidad de flavonoides con 2,59 mg QE/g dw, por otro lado, existe un contenido mínimo de flavonoides en las plantas de orito cursando etapa avanzada de la enfermedad (St. III) que posee 0,24 mg QE/g dw.

**Tabla 7**

Media descriptiva de Flavonoides

Disease Stage	TFC (mg QE/g dw)				
	R1	R2	R3	Mean	St. Dev.
H	0,394	0,394	0,488	0,425	0,044
St. I	1,900	1,708	1,976	1,801	0,078
St. II	3,054	2,510	2,193	2,586	0,355

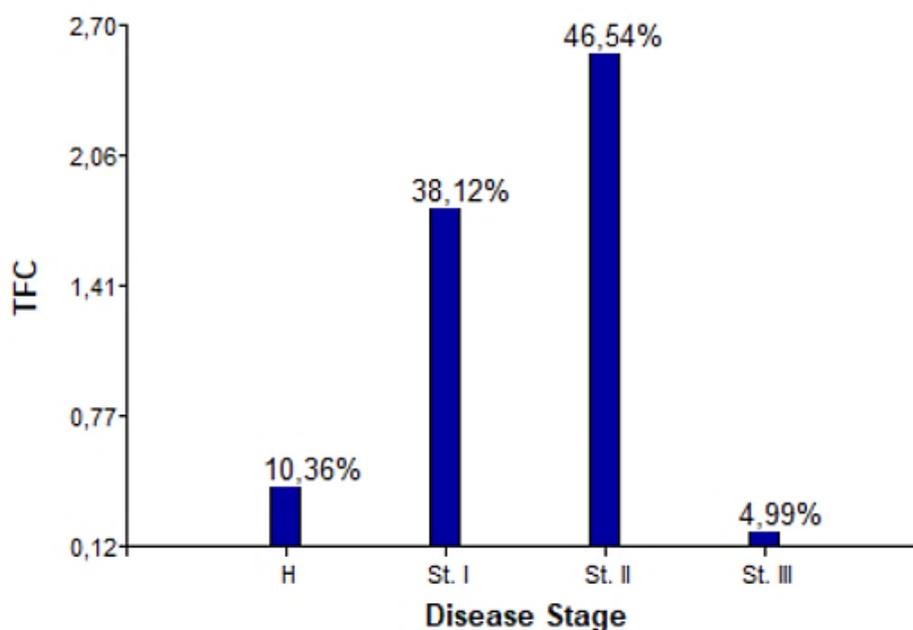
Disease Stage	TFC (mg QE/g dw)				
	R1	R2	R3	Mean	St. Dev.
St. III	0,244	0,245	0,235	0,242	0,005

*Nota.* Promedio del contenido de flavonoides en las diferentes muestras de los cultivos de *Musa acuminata* Colla.

Por consiguiente a lo mencionado anteriormente, se determina que el contenido de flavonoides expresado en porcentaje en las plantas de orito cursando etapa intermedia de la enfermedad (St.II), corresponde a un 46,54%, a diferencia, que en las plantas de orito cursando etapa inicial de la enfermedad (St. I ) es del 38,12% y en el caso de las plantas de orito cursando etapa avanzada de la enfermedad (St. III) y plantas de orito sanas (H) , con un 4,99% y 10,36% respectivamente.

#### Figura 4

*Contenido de flavonoides de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas.*



#### Análisis de resultados de principios activos

Previo a la realización del ANOVA, se verificó si los datos obtenidos en los resultados cumplen con los criterios establecidos para realizar una estadística paramétrica, por lo cual se

empleó Test Shapiro- Wilk para confirmar si cumple con una distribución normal, por lo tanto, se evidencia en la Tabla 9,  $p \geq 0.05$  siendo el p valor altamente significativo por ende cumple con la normalidad.

Además, otro supuesto a cumplir es la homogeneidad entre varianzas por el Test Levene que fue  $p \geq 0.05$ , es decir, la varianza es constante (Tabla 8). Por lo tanto, se comprobó que se cumplen de forma correcta ambos supuestos lo que significó el realizar pruebas paramétricas para el análisis de principios activos presentes. Se procedió a aplicar un diseño experimental 2x4.

**Tabla 8**

*Evaluación de supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas*

<b>Supuestos de normalidad y homogeneidad</b>					
<b>Test Shapiro – Wilk</b>					
<b>Variable</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>D.E.</b>	<b>W*</b>	<b>P - value</b>
RDUO value	24	0,00	0,31	0,94	0,2175
<b>Test- Levene</b>					
<b>Variable</b>		<b>F- value</b>		<b>Pr (&gt;) F</b>	
RABS value		1,3297		0,2993	

*Nota.* Determinación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas previo a la realización de pruebas paramétricas.

El análisis de ANOVA indica el efecto de dos factores que son los ensayos de determinación de contenido de compuestos fenólicos y de flavonoides, el otro factor es la etapa de la enfermedad ante una variable de respuesta que es la concentración, como se evidencia en la Figura N el p-valor si es significativo para ambos factores.

**Figura 5**

*Análisis de la varianza del contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas.*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	30,81	4	7,70	65,29	<0,0001
Assay	4,87	1	4,87	41,26	<0,0001
Disease Stage	25,94	3	8,65	73,30	<0,0001
Error	2,24	19	0,12		
Total	33,06	23			

Al realizar la comparación de medias con la Prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95%, las plantas (St. II) y (St. I) muestran diferencias significativas, aunque no sucede lo mismo con las plantas (St. III y St. I) las cuales no muestran diferencias significativas, por lo tanto, se constata que la etapa de la enfermedad influye en el contenido de principios activos tanto de compuestos fenólicos como de flavonoides

**Figura 6**

*Prueba de significancia Tukey sobre el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas.*

Error: 0,1180 gl: 19

Disease Stage	Medias	n	E.E.	
St. III	0,81	6	0,14	A
H	0,81	6	0,14	A
St. I	1,88	6	0,14	B
St. II	3,35	6	0,14	C

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

A continuación, se presenta el análisis de ANOVA con interacción que engloba los dos factores anteriormente mencionados y el tercer factor que representa su interacción es decir ensayo \* etapa de la enfermedad ante una variable de respuesta que es la concentración, como se evidencia en la Figura 7 el p-valor si es significativo para los tres factores.

**Figura 7**

*Análisis de la varianza con interacción del contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas.*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	32,35	7	4,62	104,90	<0,0001
Assay	4,87	1	4,87	110,51	<0,0001
Disease Stage	25,94	3	8,65	196,31	<0,0001
Assay*Disease Stage	1,54	3	0,51	11,63	0,0003
Error	0,70	16	0,04		
Total	33,06	23			

En la Prueba de Tukey al comparar las medias en la interacción de factores, principalmente muestra que no existen diferencias significativas entre el contenido de flavonoides y compuestos fenólicos de (St. III) y (St. I).

**Figura 8**

*Prueba de significancia Tukey sobre el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas.*

Error: 0,0441 gl: 16

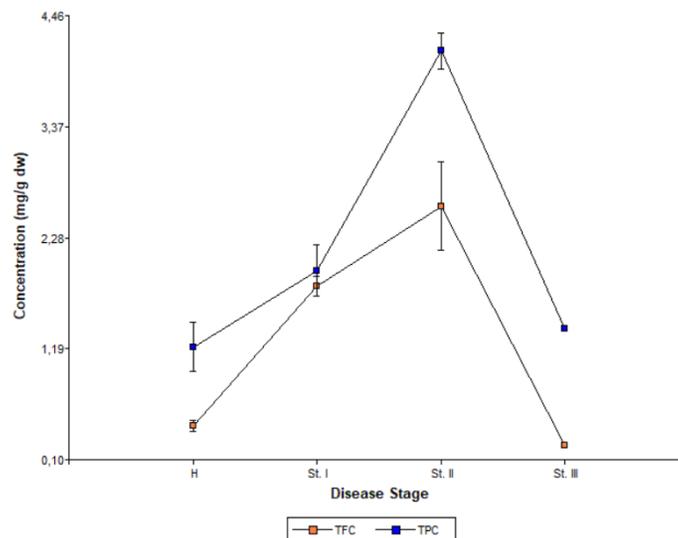
Disease Stage	Assay	Medias	n	E.E.		
St. III	TFC	0,24	3	0,12	A	
H	TFC	0,43	3	0,12	A	
H	TPC	1,20	3	0,12		B
St. III	TPC	1,38	3	0,12		B C
St. I	TFC	1,80	3	0,12		C
St. I	TPC	1,96	3	0,12		C
St. II	TFC	2,59	3	0,12		D
St. II	TPC	4,11	3	0,12		E

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

En la Figura 9, se afirma que la mayor concentración de compuestos fenólicos y flavonoides se da en (St. II) y las más bajas en (H y St. III), por lo cual, cabe resaltar que independientemente del ensayo realizado, la etapa de la enfermedad es la que influye directamente en el contenido de principios activos (compuestos fenólicos y flavonoides).

## Figura 9

Contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de *Musa acuminata* Colla (orito) sanas y enfermas.



## Determinación de capacidad antioxidante

### DPPH

La determinación de capacidad antioxidante por el método DPPH es mayor en la plantas de orito cursando etapa intermedia de la enfermedad (St.II) con un promedio de 24,65  $\mu\text{mol Trolox/g dw}$ , por el contrario en las plantas de orito cursando etapa avanzada de la enfermedad (St. III) resulta en un promedio de 19,81  $\mu\text{mol Trolox/g dw}$  seguido por las plantas de orito cursando etapa inicial de la enfermedad (St. I) que corresponde a 17,35  $\mu\text{mol Trolox/g dw}$ .

**Tabla 9**

*Media descriptiva de DPPH*

Disease Stage	DPPH ( $\mu\text{mol TROLOX/ g dw}$ )					
	R1	R2	R3	Mean	St. Dev.	% inhibición
H	14,876	14,464	14,051	14,464	0,337	5,045
St. I	15,702	18,593	17,767	17,354	1,216	6,012
St. II	24,375	25,201	24,375	24,650	0,389	8,454

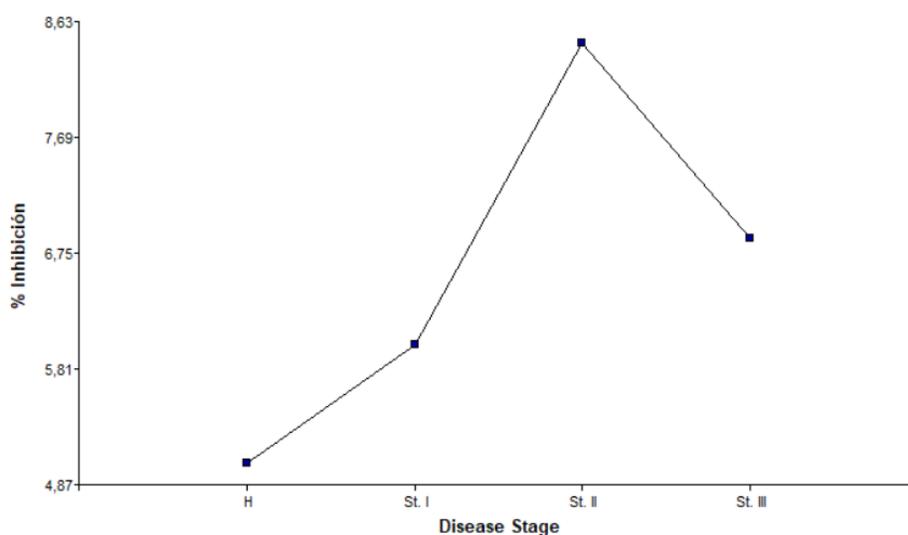
Disease	DPPH ( $\mu\text{mol TROLOX/ g dw}$ )					
Stage	R1	R2	R3	Mean	St. Dev.	% inhibición
St. III	19,901	19,970	19,586	19,819	0,167	6,870

*Nota.* Ensayo de DPPH expresado en % de inhibición.

La Figura 10 denota que el % de inhibición del radical DPPH parte de 5,045% en plantas de orito sanas (H) y alcanza su máximo valor de 8,454% en plantas de orito cursando etapa intermedia de la enfermedad (St. II).

### Figura 10

*Porcentaje de inhibición de DPPH en Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas.*



### FRAP

Los resultados obtenidos de la capacidad antioxidante empleando el método FRAP es decir basado en la reducción del ión férrico, muestra que las plantas de orito cursando etapa intermedia de la enfermedad (St.II) es de  $41.803 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g dw}$  siendo el de mayor capacidad reductora seguido por las plantas de orito cursando etapa inicial de la enfermedad (St. I) con  $37,916 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g dw}$  y finalmente las plantas de orito sanas (H) con  $13.779 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g dw}$  con menos poder reductor.

**Tabla 10***Media descriptiva del método FRAP*

Disease	Fe <sup>2+</sup> Reduction Potential (Fe <sup>2+</sup> + $\mu$ mol/g dw)					
	Stage	R1	R2	R3	Mean	St. Dev.
H		13,674	13,493	14,170	13,779	0,286
St. I		38,502	38,502	36,742	37,916	0,830
St. II		41,392	43,408	40,609	41,803	1,179
St. III		17,409	17,499	19,967	18,291	1,185

*Nota.* Promedio del poder reductor de Fe<sup>2+</sup> en las diferentes muestras.

**ABTS**

La determinación de capacidad antioxidante por el ensayo ABTS es predominante en las plantas de orito cursando etapa intermedia de la enfermedad (St.II) con un promedio de 29,396  $\mu$ mol Trolox/g dw, por otro lado, en las plantas de orito cursando etapa avanzada de la enfermedad (St. III) resulta en un valor de 9,729  $\mu$ mol Trolox/g dw siendo este con la menor capacidad antioxidante.

**Tabla 11***Media descriptiva del método ABTS*

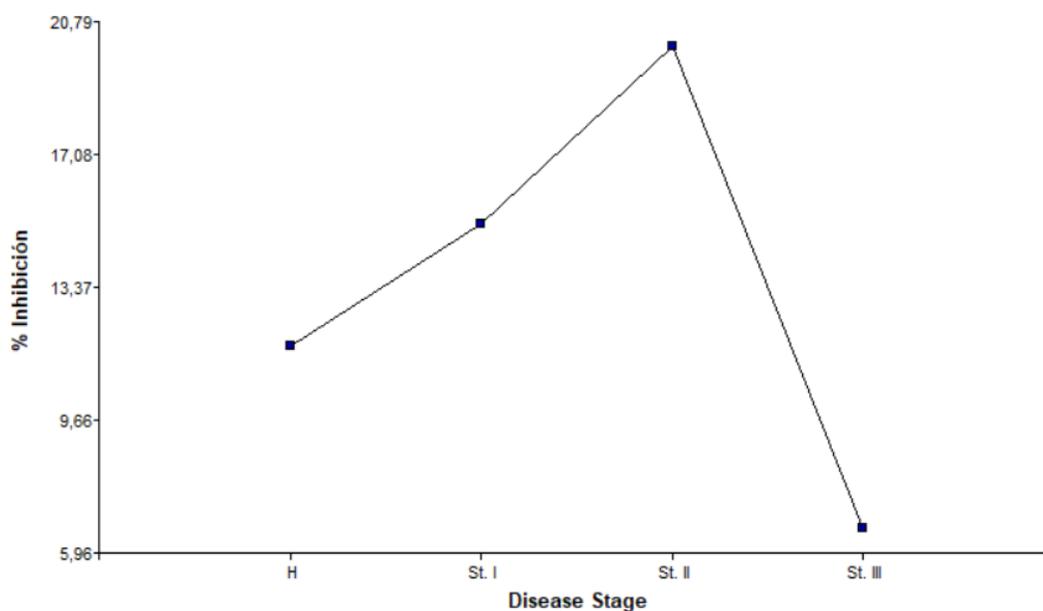
Disease	ABTS ( $\mu$ mol TROLOX/ g dw)						
	Stage	R1	R2	R3	Mean	St. Dev.	% inhibición
H		13,708	17,355	17,355	16,139	1,719	11,741
St. I		22,998	21,539	20,119	21,552	1,175	15,160
St. II		28,142	28,142	31,904	29,396	1,773	20,113
St. III		10,407	10,292	8,487	9,729	0,879	6,630

*Nota.* Ensayo de ABTS expresado en % de inhibición.

La Figura 11 representa el % de inhibición del radical ABTS donde su porcentaje de inhibición es mayor en plantas de orito cursando etapa intermedia de la enfermedad (St.II) correspondiente al 20,113, al contrario de las plantas de orito cursando etapa avanzada de la enfermedad (St. III) cuyo % de inhibición es el más bajo 6,630%

**Figura 11**

Porcentaje de inhibición de ABTS en *Musa acuminata* Colla (orito) sanas y enfermas.



### Análisis de resultados de capacidad antioxidante

En primera instancia, se verificó si los resultados obtenidos cumplen con los criterios establecidos para realizar pruebas paramétricas, para lo cual se empleó Test Shapiro- Wilk para confirmar si cumple con una distribución normal como evidencia en la Tabla 13.  $p \geq 0.05$  siendo el p valor altamente significativo cumple con la normalidad. Además, para comprobar la homogeneidad entre varianzas se realizó el Test Levene que fue  $p \geq 0.05$ , es decir, la varianza es constante (Tabla 12).

**Tabla 12**

*Evaluación de supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas*

Supuestos de normalidad y homogeneidad					
Variable	N	Test Shapiro – Wilk		W*	P - value
		Media	D.E.		
RDUO value	36	0,00	1.08	0.98	0.9238
Test- Levene					
Variable				F- value	Pr (>) F

Supuestos de normalidad y homogeneidad		
RABS value	0.3436	0.9658

*Nota.* Determinación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas previo a la realización de pruebas paramétricas.

El análisis de ANOVA se ejecutó con la finalidad de evaluar el efecto de dos factores que son los ensayos para la determinación de la capacidad antioxidante analizada por tres métodos (DPPH, FRAP y ABTS), el otro factor es la etapa de la enfermedad en las plantas de orito, por ende, se refleja en la Figura 12 que el p-valor si es significativo para ambos factores, donde se considera que la etapa de la enfermedad influye en la capacidad antioxidante.

### Figura 12

*Análisis de la varianza de la capacidad antioxidante de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas.*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2425,98	5	485,20	18,54	<0,0001
Assay	620,95	2	310,47	11,87	0,0002
Disease Stage	1805,03	3	601,68	23,00	<0,0001
Error	784,96	30	26,17		
Total	3210,94	35			

En la comparación de medias utilizando la Prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95%, las plantas (St. III) y (St. I) no muestran diferencias significativas, igual que en el caso de las plantas (St. I y St. II) las cuales tampoco presentan diferencias significativas en los métodos utilizados para determinar la capacidad antioxidante.

**Figura 13**

*Prueba de significancia Tukey sobre el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas.*

Error: 26,1654 gl: 30

Disease Stage	Medias	n	E.E.	
H	14,79	9	1,71	A
St. III	15,95	9	1,71	A
St. I	25,61	9	1,71	B
St. II	31,95	9	1,71	B

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

A continuación, se presenta el ANOVA con interacción de ambos factores anteriormente mencionados, como se observa en la Figura N el p-valor si es significativo para los tres factores, resaltando que la interacción de dichos factores influye sobre la capacidad antioxidante que presentan las plantas sanas y enfermas.

**Figura 14**

*Análisis de la varianza con interacción de la capacidad antioxidante de Musa acuminata Colla (orito) sanas y enfermas.*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3170,17	11	288,20	169,63	<0,0001
Disease Stage	1805,03	3	601,68	354,15	<0,0001
Assay	620,95	2	310,47	182,75	<0,0001
Disease Stage*Assay	744,19	6	124,03	73,01	<0,0001
Error	40,77	24	1,70		
Total	3210,94	35			

En relación a la comparación de medias con la Prueba de Tukey en un nivel de confianza del 95%, al analizar la interacción se constata que todas las plantas de orito tienen diferencias significativas como se presencia en la Figura 15 y 16.

Figura 15

Prueba de significancia Tukey sobre la capacidad antioxidante de *Musa acuminata* Colla (orito) sanas y enfermas

Error: 1,6989 gl: 24

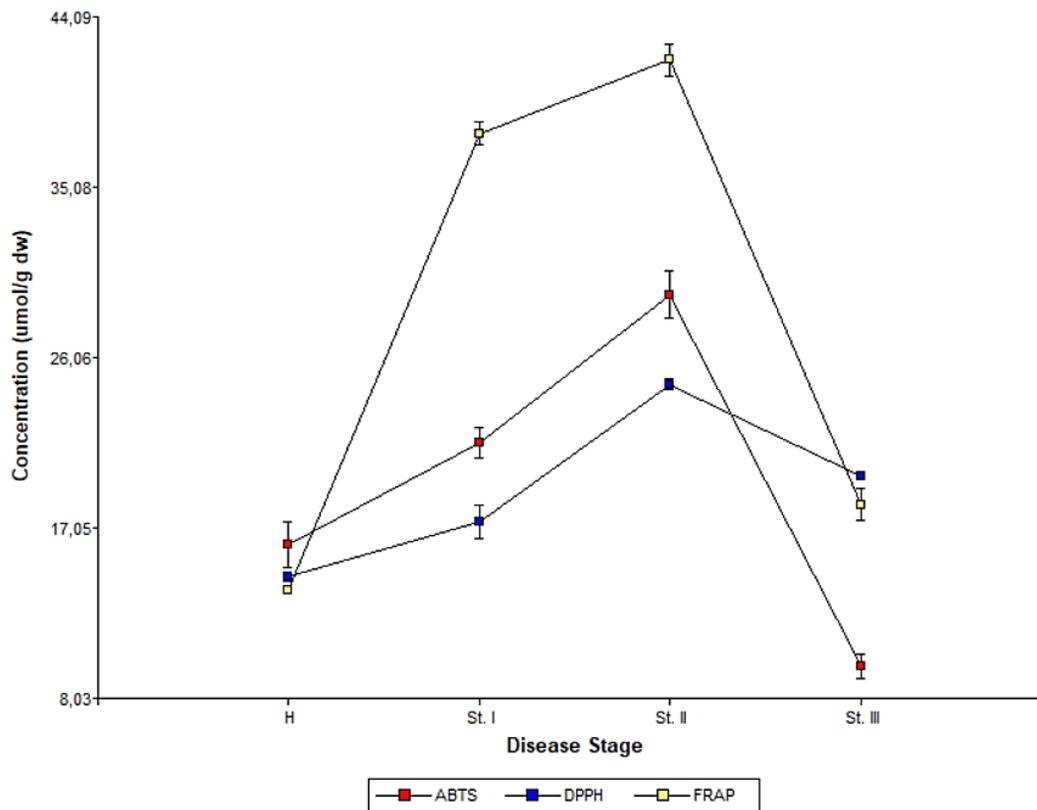
Assay Disease Stage Medias n E.E.

Assay	Disease Stage	Medias	n	E.E.	
ABTS	St. III	9,73	3	0,75	A
FRAP	H	13,78	3	0,75	B
DPPH	H	14,46	3	0,75	B C
ABTS	H	16,14	3	0,75	B C D
DPPH	St. I	17,35	3	0,75	B C D
FRAP	St. III	18,29	3	0,75	C D E
DPPH	St. III	19,82	3	0,75	D E
ABTS	St. I	21,55	3	0,75	E F
DPPH	St. II	24,65	3	0,75	F
ABTS	St. II	29,40	3	0,75	G
FRAP	St. I	37,92	3	0,75	H
FRAP	St. II	41,80	3	0,75	I

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

Figura 16

Capacidad antioxidante de *Musa acuminata* Colla (orito) sanas y enfermas.



### Análisis de correlación de Pearson

El coeficiente de correlación de Pearson permite conocer el grado de asociación entre dos variables cuantitativas, es decir, en el presente caso entre principios activos y capacidad antioxidante la misma que se muestra en la Tabla 13.

Es evidente la existencia de una correlación positiva en la capacidad antioxidante entre FRAP con ABTS y DPPH siendo 0,83 y 0,64 respectivamente, sin embargo, ABTS y DPPH muestra una correlación positiva moderada ya que corresponde a 0,52, por otro lado, la correlación en principios activos es positiva porque es del 0,88 entre TPC y TFC. De otra manera, se afirma que TFC se correlaciona de forma positiva con FRAP, ABTS y DPPH, ya que representa 0,95, 0,91 y 0,63, siendo esta última moderada. De forma similar sucede con el TPC al tener una correlación positiva fuerte con ABTS, DPPH y FRAP 0,86, 0,85 y 0,82 respectivamente.

**Tabla 13**

*Correlación de Pearson entre los principios activos y capacidad antioxidante*

<b>Correlación de Pearson</b>	<b>DPPH</b>	<b>FRAP</b>	<b>ABTS</b>	<b>TFC</b>	<b>TPC</b>
DPPH	1				
FRAP	0,64	1			
ABTS	0,52	0,83	1		
TFC	0,63	0,95	0,91	1	
TPC	0,85	0,82	0,86	0,88	1

*Nota.* Correlación de pruebas realizadas durante el estudio.

### Capítulo V: Discusión

Las plantas durante su crecimiento y desarrollo se enfrentan a desafíos que incluyen sobrevivir a condiciones de estrés biótico desencadenado por la presencia de plagas de insectos, hongos y bacterias, además de un estrés abiótico que incorpora sequía, radiación ultravioleta y salinidad, etc (Sharma et al., 2019).

Es por ello que las plantas emplean mecanismos útiles como defensa ante esas circunstancias que resultan desfavorables, comprende la producción de principios activos y una nutrición completa y equilibrada de la planta como forma de protección a nivel estructural.

Por lo tanto, se afirma que en primera instancia el contenido de nutrientes presentes en el suelo es crucial para conocer el acceso a nutrientes que tendría la planta es decir la disponibilidad de nutrientes presentes. En base a los resultados obtenidos del análisis nutricional de suelo en plantaciones de orito sana se evidencia un alto contenido de hierro, cobre, boro y azufre también un bajo contenido de fósforo, magnesio y manganeso. Esto se debe a que los suelos de las zonas tropicales y subtropicales de América Latina y el Caribe, se caracterizan por presentar deficiencia nutricional y toxicidad en aluminio y hierro (Moreira et al., 2016). En cambio, el exceso de boro puede ser causada por la aplicación de fertilizante muy frecuente (Vargas et al., 2007).

Además de lo anterior, en el análisis de suelo con incidencia de la enfermedad del Moko se muestra adicional un bajo contenido de potasio, calcio y zinc. Un equilibrio inadecuado en el contenido nutricional puede desencadenar una predisposición de que las plantas sean atacadas por patógenos, además, puede ser una causa para incrementar la susceptibilidad o aumentar la agresividad en que se presentan las enfermedades (Bautista et al., 2016).

En cuanto al análisis foliar, al potasio (K) se le considera como un elemento esencial, se ha reportado que su deficiencia está ligada con la susceptibilidad a enfermedades si son de origen bacteriano corresponde a un 69% y a su vez que está relacionado con la síntesis de metabolitos secundarios como los compuestos fenólicos, es decir que tiene participación directa en los mecanismos de defensa de las plantas (Tripathi et al., 2022).

Se conoce que tanto los compuestos fenólicos como flavonoides están inmersos en la defensa de las plantas contra patógenos, básicamente el mecanismo consiste en aumentar la síntesis de esos compuestos con la finalidad de disminuir el crecimiento del patógeno, sin embargo, dentro del mecanismo de defensa contiene la muerte del huésped, necrosis y síntesis

de otros compuestos que pueden ser tóxicos con el objetivo de eliminar al organismo invasor; además su síntesis puede estar relacionado con el estrés de tipo abiótico (Chowdhary et al., 2022).

Es por ello, en cuanto a lo obtenido en el presente trabajo se determina que las plantas de orito cursando etapa intermedia de la enfermedad (St. II) presenta mayor cantidad de compuestos fenólicos mientras que las plantas de orito sanas (H) presentan menor contenido fenólico, lo que quiere decir que la planta St. II emplea una respuesta de defensa contra el ataque de la bacteria *Ralstonia Solanacearum* raza 2 mediante estos compuestos, por otro lado, el resultado en las plantas de orito sanas puede estar relacionado al indicios de estrés ambiental. De similar forma sucede con la concentración de flavonoides es mayor en plantas St. II, por ende, se afirma que dichos principios activos constituyen una estrategia de defensa contra en este caso la bacteria.

Al ser los compuestos fenólicos de gran importancia, se ha encontrado mediante la cuantificación por HPLC, los principales compuestos fenólicos presentes en un cultivar de musáceas como es el banano, los cuales son: ácido ferúlico, ácido vanílico, ácido rosmarínico, catequina y ácido siríngico (Salama et al., 2020), lo que es muy probable que en el orito contenga también este tipo de compuestos al pertenecer a las musáceas.

El estrés oxidativo es evidenciado en la progresión de enfermedades como el Moko, es por ello la importancia de compuestos antioxidantes en la planta como el orito ya que es la forma más idónea de combatir efectos tóxicos de los radicales libres (Kasote et al., 2015), con lo mencionado coincide con los resultados obtenidos se concluye que las plantas de orito cursando etapa intermedia de la enfermedad (St.II) tienen mayor capacidad antioxidante que se relaciona a su vez con el contenido de principios activos.

Se afirma también el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides tiene una correlación positiva fuerte con ABTS, DPPH y FRAP que son los métodos para la determinación de capacidad antioxidante, dicho hallazgo se asemeja al estudio de Salama et

al., (2020), sobre la capacidad antioxidante en banano donde la actividad antioxidante de las muestras vegetales estuvo significativamente correlacionada con la presencia de compuestos fenólicos siendo estos los que actúan como donadores de un átomo de hidrógeno o de un electrón.

En base a todo lo anteriormente mencionado, el presente trabajo tiene como finalidad determinar si el estado nutricional, la concentración de principios activos y la capacidad antioxidante están relacionados con la defensa de las plantas de *Musa acuminata* Colla, frente a la enfermedad del Moko.

Se constató que un adecuado contenido de nutrientes a nivel de suelo y foliar proporciona a nivel de cultivo bienestar, mayor rendimiento y protección contra agentes patógenos, se ha informado que nutrientes como K al estar en una concentración adecuada puede aumentar la concentración de fenoles en la planta y a nivel metabólico intervienen nutrientes como Mn y Zn (Tripathi et al., 2022).

Como tal los principios activos analizados en el trabajo tanto los compuestos fenólicos como flavonoides tienen propiedades antioxidantes, es por ello, que se evidencia a mayor contenido de principios activos mayor capacidad antioxidante como se demuestra en las plantas de orito cursando etapa intermedia de la enfermedad (St. II) muestra la mayor concentración de principios activos al comparar con las plantas de orito sanas (H), además se confirmó que en general las plantas de orito enfermas independientemente de la etapa de la enfermedad en sí mantienen un mecanismo de defensa activo porque hay síntesis de dichos compuestos donde se comprueba que su síntesis es específica según la condición en la que se encuentre la planta.

Adicionalmente, el contar con la presencia de dichos compuestos es significativo ya que se ha reportado que los compuestos fenólicos y compuestos relacionados con la lignina y suberina funcionan como componentes indispensables para generar un bloqueo o restricción para la bacteria *Ralstonia Solanacearum* raza 2 (Kashyap et al., 2022).

## Capítulo VI: Conclusiones y Recomendaciones

### Conclusiones

Las plantas de *Musa acuminata* Colla (orito) que fueron recolectadas, tanto sanas como afectadas cursando las tres etapas de la enfermedad del Moko, se diferenció acorde a la sintomatología foliar.

En base a los análisis de suelo y foliares mostraron semejanzas, en la deficiencia de manganeso, magnesio y fósforo, a su vez exceso notable de hierro cobre, boro y azufre que principalmente están relacionados con características que presenta el tipo de suelo donde se cultiva el orito.

Las plantas de orito cursando la etapa intermedia de la enfermedad (St.II) mostraron mayor contenido de compuestos fenólicos y flavonoides, como parte del mecanismo de defensa las plantas pueden incrementar la síntesis de dichos compuestos con el objetivo de limitar la diseminación del patógeno en otras partes de la planta.

La capacidad antioxidante se determinó empleando los métodos DPPH, ABTS y FRAP, donde el mayor contenido se encontró en plantas de orito cursando la etapa intermedia de la enfermedad (St.II), por ende poseen mayor protección ante el daño oxidativo.

En última instancia al comparar el estado nutricional, concentración de principios activos y la actividad biológica en plantas de orito sanas y enfermas, se concluye que los macro y micro nutrientes son indispensables y en nutrientes como K, Mn y Zn tienen participación metabólica, al existir deficiencia puede una planta ser susceptible o incrementar la gravedad de la enfermedad; a nivel metabólico los compuestos fenólicos y flavonoides son excelentes antioxidantes, debido a que se evidenció que las plantas de orito, cursando la etapa intermedia de la enfermedad (St.II) mostró mayor cantidad de principios activos y capacidad antioxidante, es decir que ambos factores son directamente proporcionales, lo mismo que se corrobora con el análisis de coeficiente de Pearson porque mantiene una correlación fuertemente positiva entre dichos factores.

## **Recomendaciones**

Se recomienda para análisis de suelo y foliar, contemplar las condiciones ambientales, ya que pueden afectar a la obtención de resultados sobreestimados, a su vez a nivel foliar realizar más estudios con el objetivo de contar con valores estándar de nutrientes.

Con la finalidad de conocer la presencia de otros principios activos en las plantas de orito, se sugiere realizar un tamizaje fitoquímico.

Identificar y cuantificar mediante HPLC compuestos fenólicos para determinar aquel que está presente en mayor proporción y se relacione directamente con la defensa de las plantas de orito frente a la enfermedad del Moko, ya que la información y estudios que abarquen la problemática es limitada.

## Bibliografía

- AGROCALIDAD. (2020). *Recomendaciones para la implementación de arcos de desinfección, rodiluvios y pediluvios*. <https://www.gestionderiesgos.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/MAG-AGROCALIDAD-Recomendaciones-para-la-implementaci%C3%B3n-de-arcos-de-desinfecci%C3%B3n-rodiluvios-y-pediluvios.pdf>
- AGROCALIDAD. (2022). BANANO – Agrocalidad. *Banano*. [https://www.agrocalidad.gob.ec/BPA/?dt\\_portfolios=banano](https://www.agrocalidad.gob.ec/BPA/?dt_portfolios=banano)
- Alarcón, J., & Jimenez, I. A. (2012). *Manejo fitosanitario del cultivo del plátano (Musa spp.)*. Produmedios. <https://www.ica.gov.co/getattachment/08fbb48d-a985-4f96-9889-0e66a461aa8b/-nbsp;Manejo-fitosanitario-del-cultivo-de>
- 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*.
- Asociación de Bananeros de Colombia, Augura. (2009, septiembre 10). Identificación y manejo integrado de plagas en banano y plátano en Magdalena y Urabá en Colombia. *Bananotecnia*. <https://bananotecnia.com/articulos/identificacion-y-manejo-integrado-de-plagas-en-banano-y-platano-en-magdalena-y-uraba-en-colombia/>
- Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R. P., & Chang, C.-M. (2022). Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*, 27(4), 1326. <https://doi.org/10.3390/molecules27041326>
- Bastola, K. P., Guragain, Y. N., Bhadriraju, V., & Vadlani, P. V. (2017). Evaluation of Standards and Interfering Compounds in the Determination of Phenolics by Folin-Ciocalteu Assay Method for Effective Bioprocessing of Biomass. *American Journal of Analytical Chemistry*, 8(6), Art. 6. <https://doi.org/10.4236/ajac.2017.86032>

- Bautista, L. G., Bolaños-Benavides, M. M., Abaunza-González, C. A., Arguelles-Cárdenas, J. H., & Forero-Camacho, C. A. (2016). Moko de plátano y su relación con propiedades físicas y químicas en suelos del departamento de Quindío Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 10(2), Art. 2.  
<https://doi.org/10.17584/rcch.2016v10i2.5066>
- Bent, A. F., & Mackey, D. (2007). Elicitors, effectors, and R genes: The new paradigm and a lifetime supply of questions. *Annual Review of Phytopathology*, 45, 399-436.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.45.062806.094427>
- 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. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2017.01290>
- Camacho, M. A., Ramos-Ramos, D. A., Ávila-Serrano, N. Y., Sánchez-Bernal, E. I., & López-Garrido, S. J. (2020). Las defensas físico-químicas de las plantas y su efecto en la alimentación de los rumiantes. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 443-453.
- Carmona, J. C., Taborda-Ocampo, G., & González-Correa, C. H. (2021). Folin-Ciocalteu Reaction Alternatives for Higher Polyphenol Quantitation in Colombian Passion Fruits. *International Journal of Food Science*, 2021, e8871301.  
<https://doi.org/10.1155/2021/8871301>
- Cartaya, O., Inés, & Reynaldo, S. (2001). Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22(2), 5-15.
- Castro, M. (2015). *Phytochemical analysis of Baby Banana peels (Musa acuminata) in relation with a hyperpigmentation phenomenon.*
- Ceballos, G., Álvarez, E., & Bolaños, M. M. (2014). Reducción de poblaciones de *Ralstonia solanacearum* raza 2 (Smith) en plátano (*Musa AAB Simmonds*) con aplicación de

- extractos de *Trichoderma* sp. (Alexopoulos y Mims) y bacterias antagonistas. *Acta Agronómica*, 63(1), Art. 1. <https://doi.org/10.15446/acag.v63n1.43121>
- Ceballos, G., Alvarez, E., Pantoja, A., & Gañán-Betancur, L. (2013). *Estado del arte y opciones de manejo del Moko y la Sigatoka en América Latina y el Caribe*.
- Chowdhary, V., Aloopampil, S., V. Pandya, R., & G. Tank, J. (2022). Physiological Function of Phenolic Compounds in Plant Defense System. En F. A. Badria (Ed.), *Biochemistry* (Vol. 26). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.101131>
- Christodoulou, M. C., Orellana Palacios, J. C., Hesami, G., Jafarzadeh, S., Lorenzo, J. M., Domínguez, R., Moreno, A., & Hadidi, M. (2022). Spectrophotometric Methods for Measurement of Antioxidant Activity in Food and Pharmaceuticals. *Antioxidants*, 11(11), Art. 11. <https://doi.org/10.3390/antiox11112213>
- Delgado, R., Morillo, E., Buitrón Bustamante, J. L., & Sotomayor Herrera, I. A. (2014). *First report of Moko disease caused by Ralstonia solanacearum race 2 in plantain (Musa AAB) in Ecuador*. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/3382>
- Diario La Hora. (2022, septiembre 16). *1.13 hectáreas afectadas por el 'moko del plátano'* – *Diario La Hora*. Diario La Hora. <https://www.lahora.com.ec/santo-domingo/1-13-de-hectareas-afectadas-por-el-moko-del-platano/>
- El Universo. (2021, julio 3). *Ocho mercados compraron menos banano a Ecuador, pero Estados Unidos adquirió más*. El Universo. <https://www.eluniverso.com/noticias/economia/ocho-mercados-compraron-menos-banano-a-ecuador-pero-estados-unidos-adquirio-mas-nota/>
- Escudero, A., & Mediavilla, S. (2003). Dinámica interna de los nutrientes: *Ecosistemas*, 12(1), Art. 1. <https://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/247>
- FAO. (2022). *FAO publications catalogue 2022*. FAO. <https://doi.org/10.4060/cc2323en>
- Fernanda, M. A. H. F., Andriani, R. D., Estulenggani, Z., & Kusumo, G. G. (2018). Identification and Determination of Total Flavonoids in Ethanol Extract of Old and Young Angsana

- Leaves (*Pterocarpus indicus* Willd.) Using Visible Spectrophotometry: *Proceedings of the 2nd International Conference Postgraduate School*, 541-544.  
<https://doi.org/10.5220/0007546605410544>
- Heslop-Harrison, J. S., & Schwarzacher, T. (2007). Domestication, genomics and the future for banana. *Annals of Botany*, 100(5), 1073-1084. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm191>
- INIAP. (2021). *Desarrollo de agrotecnologías como estrategia ante la amenaza de enfermedades que afecten la producción de Musáceas en el Ecuador*.  
[https://www.iniap.gob.ec/wp-content/uploads/2022/01/Proyecto%20COE\\_2021\\_12\\_29.pdf](https://www.iniap.gob.ec/wp-content/uploads/2022/01/Proyecto%20COE_2021_12_29.pdf)
- Jirakiattikul, Y., Rithichai, P., Songsoem, K., & Itharat, A. (2021). Elicitation of Salicylic Acid on Secondary Metabolite Production and Antioxidant Activity of In Vitro *Musa acuminata* L. cv. 'Gros Michel' Shoots. *CURRENT APPLIED SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 569-578.
- Jones, J. D. G., & Dangl, J. L. (2006). The plant immune system. *Nature*, 444(7117), Art. 7117.  
<https://doi.org/10.1038/nature05286>
- Kashyap, A., Jiménez-Jiménez, Á. L., Zhang, W., Capellades, M., Srinivasan, S., Laromaine, A., Serra, O., Figueras, M., Rencoret, J., Gutiérrez, A., Valls, M., & Coll, N. S. (2022). Induced ligno-suberin vascular coating and tyramine-derived hydroxycinnamic acid amides restrict *Ralstonia solanacearum* colonization in resistant tomato. *New Phytologist*, 234(4), 1411-1429. <https://doi.org/10.1111/nph.17982>
- Kasote, D. M., Katyare, S. S., Hegde, M. V., & Bae, H. (2015). Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Applications. *International Journal of Biological Sciences*, 11(8), 982-991. <https://doi.org/10.7150/ijbs.12096>
- 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>

- Kumar, N., Ved, A., Yadav, R., & Prakash, O. (2021). A Comprehensive Review on Phytochemical, Nutritional, and Therapeutic Importance of *Musa acuminata*. *International Journal of Current Research and Review*, 13, 114-124.  
<https://doi.org/10.31782/IJCRR.2021.13901>
- Lara, S., Vera Aviles, D., Cabanilla Lamulle, M., & González Osorio, B. (2021). Desarrollo comunitario: Producción de Musácea en dos zonas de la costa ecuatoriana. *Revista de ciencias sociales*, 27(Extra 3), 340-354.
- Lim, T. K. (2012). *Musa acuminata* (AA Group) 'Sucrier'. En T. K. Lim (Ed.), *Edible Medicinal And Non Medicinal Plants: Volume 3, Fruits* (pp. 498-501). Springer Netherlands.  
[https://doi.org/10.1007/978-94-007-2534-8\\_65](https://doi.org/10.1007/978-94-007-2534-8_65)
- Llano, G., Álvarez, E., & Ceballos, G. (2018). Manejo de Moko de plátano en el Litoral Pacífico. *Sabia. Revista Científica: Sabia. Rev. Cient.*, 4(1), 95-104.
- López, M. T. (2002). Flavonoides. *Offarm*, 21(4), 108-113.
- Maathuis, F. J. M., & Diatloff, E. (2013). Roles and functions of plant mineral nutrients. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 953, 1-21. [https://doi.org/10.1007/978-1-62703-152-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-152-3_1)
- MAGAP. (2018). *Firman primer contrato para la venta directa de banano orito entre productores y exportadores – Ministerio de Agricultura y Ganadería*.  
<https://www.agricultura.gob.ec/firman-primer-contrato-para-la-venta-directa-de-banano-orito-entre-productores-y-exportadores/>
- Manzo-Sánchez, G., Orozco-Santos, M., Martínez-Bolaños, L., Garrido-Ramírez, E., Canto-Canche, B., Manzo-Sánchez, G., Orozco-Santos, M., Martínez-Bolaños, L., Garrido-Ramírez, E., & Canto-Canche, B. (2014). Diseases of quarantine and economic importance in banana tree (*Musa* sp.) in México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 32(2), 89-107.

- Martínez, G., & Rey, J. C. (2021). Bananos (Musa AAA): Importancia, producción y comercio en tiempos de Covid-19. *Agronomía Mesoamericana*, 32, 1034-1046.  
<https://doi.org/10.15517/am.v32i3.43610>
- Martinez, S., González-Gallego, J., Culebras, J., & Tuñón, J. (2002). Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr Hosp*, 17.
- Mathew, N. S., & Negi, P. S. (2017). Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of wild banana (Musa acuminata Colla): A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 196, 124-140. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.12.009>
- Mayorga, M. A., Flores, L. R., Mejía, A. L., & Quimi, C. Q. (2022). Efecto del distanciamiento de siembra en la productividad del banano (Musa acuminata) Santa Elena – Ecuador. *Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS - ISSN 2806-5794.*, 4(5), Art. 5.
- Ministerio de Comercio Internacional. (2018). *General information on the sector Economic importance of the banana sector.*  
<http://cairochamber.org.eg/images/58%D9%85%D9%88%D8%B2-ilovepdf-compressed.pdf>
- Mitchell, C., Brennan, R. M., Graham, J., & Karley, A. J. (2016). Plant Defense against Herbivorous Pests: Exploiting Resistance and Tolerance Traits for Sustainable Crop Protection. *Frontiers in Plant Science*, 7.  
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2016.01132>
- Monsalve-C, O. I., Gutiérrez-D, J. S., & Cardona, W. A. (2017). Factores que intervienen en el proceso de mineralización de nitrógeno cuando son aplicadas enmiendas orgánicas al suelo. Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 11(1), Art. 1.  
<https://doi.org/10.17584/rcch.2017v11i1.5663>
- Montiel, M. (1980). *Introducción a la flora de Costa Rica*. Editorial Universidad de Costa Rica.

- Moreira, D., Castro, C., Agricultura, P. I. R. y G. I. de R. en la, & Euroclima-lica, P. (2016). *Suelos vivos y sanos para la adaptación al cambio climático*.  
<https://repositorio.iica.int/handle/11324/3016>
- Nadal-Medina, R., Manzo-Sánchez, G., Orozco-Romero, J., Orozco-Santos, M., & Guzmán-González, S. (2009). DIVERSIDAD GENÉTICA DE BANANOS Y PLÁTANOS (*Musa* spp.) DETERMINADA MEDIANTE MARCADORES RAPD. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 32(1), 1-7. <https://doi.org/10.35196/rfm.2009.1.1-7>
- Obregón, M., Rodríguez Gaviria, P. A., Morales Osorio, J. G., & Salazar Yepes, M. (2008). HOSPEDANTES DE *Ralstonia solanacearum* EN PLANTACIONES DE BANANO Y PLÁTANO EN COLOMBIA. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 61(2), 4518-4526.
- Obregón, M., Rodríguez, P. A., & Salazar, M. (2011). Supervivencia de *Ralstonia solanacearum* en suelo y tejido de plantas de banano en Urabá, Colombia. *Fitosanidad*, 15(2), 91-97.
- Ochoa, C. I., & Ayala, A. A. A. (2004). Los Flavonoides: Apuntes Generales y su Aplicación en la Industria de Alimentos. *INGENIERÍA Y COMPETITIVIDAD*, 6(2), Art. 2.  
<https://doi.org/10.25100/iyc.v6i2.2280>
- Ortiz, F., Mejía Delgado, E., Espinoza Salcedo, M. V., Ortiz Hernández, F., Mejía Delgado, E., & Espinoza Salcedo, M. V. (2021). Efecto antibacteriano de la *Musa acuminata* (Musaceae) frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. *Arnaldoa*, 28(1), 125-138.  
<https://doi.org/10.22497/arnaldoa.281.28107>
- Paolini, J. E. (2018). Actividad microbiológica y biomasa microbiana en suelos cafetaleros de los Andes venezolanos. *REVISTA TERRA LATINOAMERICANA*, 36(1), 13.  
<https://doi.org/10.28940/terra.v36i1.257>
- Peeters, N., Guidot, A., Vailleau, F., & Valls, M. (2013). *Ralstonia solanacearum*, a widespread bacterial plant pathogen in the post-genomic era. *Molecular Plant Pathology*, 14(7), 651-662. <https://doi.org/10.1111/mpp.12038>

- Pełal, A., & Pyrzynska, K. (2014). Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Analytical Methods*, 7(9), 1776-1782.  
<https://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x>
- Peralta, M., & Volke, T. (2012). La defensa antioxidante en las plantas: Una herramienta clave para la fitorremediación. *Revista mexicana de ingeniería química*, 11, 75-88.
- Perea, J. M., García Estrada, R. S., Allende Molar, R., Carrillo Fasio, J. A., León Félix, J., Valdez Torres, B., & López Soto, F. S. M. (2011). Identificación de Razas y Biovares de *Ralstonia solanacearum* Aisladas de Plantas de Tomate. *Revista mexicana de fitopatología*, 29(2), 98-108.
- Pino, J. A., Winterhalter, P., & Castro-Benítez, M. (2017). Odour-active compounds in baby banana Fruit (*Musa acuminata* AA Simmonds cv. Bocadillo). *International Journal of Food Properties*, 20(sup2), 1448-1455. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1349142>
- Rivas, E., Muñoz, L., Benítez Cruz, N., & Balcázar Morales, N. (2015). Actividad antioxidante, contenido fenólico total y citotoxicidad de extractos polares obtenidos de plantas antidiabéticas colombianas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 20(3), 277-289.
- Robinson, J. C., & Saúco, V. G. (2010). *Bananas and Plantains*. CABI.
- 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. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00017>
- Rosales, M. (2008). El Cultivo del plátano en Venezuela: Desde el campo hasta la mesa. *Agroalimentaria*, 14(27), 125-127.
- Rosales, Pocasangre, L. E., Trejos, J., & Pena, W. (2010). *Guía de Diagnóstico de la Calidad y Salud de Suelos Bananeros*. 79.
- Salama, Z. A., Aboul-Enein, A. M., Gaafar, A. A., Asker, M. S., Aly, H. F., & Ahmed, H. A. (2020). In-vitro Antioxidant, Antimicrobial and Anticancer Activities of Banana leaves (*Musa acuminata*) and Olive leaves (*Olea europaea* L.) as by-products. *Research*

- Journal of Pharmacy and Technology*, 13(2), 687-696. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2020.00132.8>
- Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., & Zheng, B. (2019). Response of Phenylpropanoid Pathway and the Role of Polyphenols in Plants under Abiotic Stress. *Molecules*, 24(13), 2452. <https://doi.org/10.3390/molecules24132452>
- Sharma, Y., Chauhan, A., Bala, K., & Nagar, A. (2016). Comparative Study of Different Parts of Fruits of Musa Sp. On the Basis of their Antioxidant Activity. *Der Pharmacia Lettre*, 8, 88-100.
- Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., & Hijji, Y. M. (2021). Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT*, 150, 111932. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111932>
- Silva, S., O. (2000). *Mejoramiento genético de las bananeras en Brasil [Genetic improvement of the banana crop (Musa spp.) in Brazil]*. 12.
- Silva, S. O., De Mello Vêras, S., Gasparotto, L., Pires de Matos, A., Cordeiro, J. M., & Boher, B. (2000). *Evaluación de Musa spp. Para la resistencia a la enfermedad de Moko (Ralstonia solanacearum, raza 2) [Evaluation of Musa spp. For resistance to Moko disease (Ralstonia solanacearum, race 2)]*. 9(1), 19-20.
- Soriano, J., Guerrero-Legarreta, I., & Ponce, E. (2006, octubre 20). *Acción antioxidante de los flavonoides de frutas y verduras para la preservación de la salud*. 46-54.
- Sudan, R., Bhagat, M., Gupta, S., Singh, J., & Koul, A. (2014). Iron (Fell) Chelation, Ferric Reducing Antioxidant Power, and Immune Modulating Potential of Arisaema jacquemontii (Himalayan Cobra Lily). *BioMed Research International*, 2014, 179865. <https://doi.org/10.1155/2014/179865>
- Torres, C., Casas, M., & Díaz, J. (2014). *Manejo de Ralstonia Solanacearum raza 2 a través de productos químicos y biológicos | ITECKNE*. 10(2), 217-223. <https://doi.org/10.15332/iteckne.v10i2.399>

- Tripathi, R., Tewari, R., Singh, K. P., Keswani, C., Minkina, T., Srivastava, A. K., De Corato, U., & Sansinenea, E. (2022). Plant mineral nutrition and disease resistance: A significant linkage for sustainable crop protection. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 883970. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.883970>
- Turner, D. W., Rosales, F. E., & Plantain, I. N. for the I. of B. and. (2005). *Banana root system: Towards a better understanding for its productive management/Sistema radical del banano: hacia un mejor conocimiento para su manejo productivo: Proceedings of an international symposium held in San José, Costa Rica, 3-5 November 2003/Memorias de un simposio internacional, San José, Costa Rica, 3-5 noviembre 2003*. <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/104730>
- Twaij, B. M., & Hasan, M. N. (2022). Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. *International Journal of Plant Biology*, *13*(1), Art. 1. <https://doi.org/10.3390/ijpb13010003>
- Van Asten, P. J. A., Fermont, A. M., & Taulya, G. (2011). Drought is a major yield loss factor for rainfed East African highland banana. *Agricultural Water Management*, *98*(4), 541-552. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2010.10.005>
- Vargas, A., Arias, F., Serrano, E., & Arias, O. (2007). Toxicidad de boro en plantaciones de banano (*Musa AAA*) en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*. <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agrocost/article/view/6795>
- Villarreal, J., Pla-Sentis, I., Agudo-Martínez, L., Villaláz-Pérez, J., Rosales, F., & Pocasangre, L. (2013). Índice de calidad del suelo en áreas cultivadas con banano en Panamá. *Agronomía Mesoamericana*, *24*(2), 301. <https://doi.org/10.15517/am.v24i2.12530>
- War, A. R., Paulraj, M. G., Ahmad, T., Buhroo, A. A., Hussain, B., Ignacimuthu, S., & Sharma, H. C. (2012). Mechanisms of plant defense against insect herbivores. *Plant Signaling & Behavior*, *7*(10), 1306-1320. <https://doi.org/10.4161/psb.21663>

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>

## Apéndices