



**UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA**

DOCTORADO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y BIOQUÍMICA DE
ACCESIONES SILVESTRES DE GUAYABA**

**TESIS
QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA**



**PRESENTA:
ALBA GISSELA FAJARDO ORTÍZ**

**BAJO LA SUPERVISIÓN DE:
DR. JUAN PORFIRIO LEGARIA SOLANO**

**CHAPINGO, ESTADO DE MÉXICO
2018**

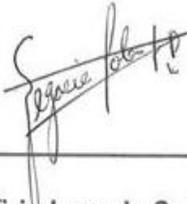


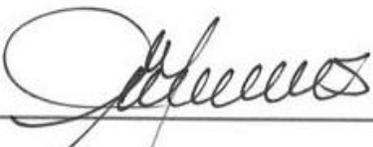
Instituto de Horticultura

CARACTERIZACIÓN MORFOLOGICA Y BIOQUÍMICA DE ACCESIONES SILVESTRES DE GUAYABA

Tesis realizada por Alba Gissela Fajardo Ortiz bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR: 
Dr. Juan Porfirio Legaria Solano

ASESOR: 
Dr. Juan Martínez Solís

ASESOR: 
Dr. Jaime Sahagún Castellanos

LECTOR EXTRENO: 
Dra. Diana Guerra Ramírez

DEDICATORIA

Como olvidarte, si te veo todos los días en nuestro hijo,
con todo mi amor
A Ramón Hernández Correa
y Emiliano Hernández Fajardo

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo por brindarme la oportunidad de formarme académicamente.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACyT, por financiar mi educación.

Al Dr. Juan Porfirio Legaria Solano, por su inmenso apoyo y su dirección profesional que hizo posible la realización de este trabajo.

Al Dr. Juan Martínez Solís, por su comprensión y ayuda en estos años de estudio.

A la Dra. Diana Guerra Ramírez, por sus valiosos y acertados aportes a este trabajo.

AL M. C. Jairo Enrique Granados Moreno, porque gracias a sus conocimientos, y motivación se finalizó la segunda parte de este proyecto.

Al Dr. Jaime Sahagún Castellanos, por sus aportes académicos a mi formación profesional.

AL M.C. Álvaro Celis Forero, por permitirme ingresar a su equipo de investigación: Mejoramiento y biotecnología de la provincia de Sumapaz.

A la Universidad de Cundinamarca por facilitar las instalaciones, reactivos y el apoyo técnico en la fase experimental de esta investigación.

A la M.C. Mercedes Cuenca Condoy, por ser incondicional y fuente de admiración a través de esta experiencia.

A las Dras: Marcela Betancourt y Jessica Medrano, por sus aportes a esta investigación y apoyo indiscutible en esta etapa de mi vida.

Al M.C. Martín Gaona, por su amistad en estos cuatro años que me ayudaron a creer, y por supuesto por su compañía en las clases de inglés

Al M.C. Manuel Díaz, que a través de estos años siempre estuvo presente, mil gracias.

A la maestra Natalia Pavlova González Rosas, por sus apoyo logístico y emocional.

A los laboratoristas: Heliana Torres Opayome, Alberto Suarez Quiñonez, Jeison David Montoya, Yimy Leonardo Villalobos Gutiérrez y Humberto Morales, de los laboratorios de Química, Microbiología, Suelos y Fisiología de la Universidad de Cundinamarca, por su colaboración y disposición en el trabajo de laboratorio.

Al personal administrativo del posgrado: Ángeles Pérez y Rogelio Deheza Méndez, por guiarme en estos años de estudio junto a ellos.

DATOS BIOGRÁFICOS



Alba Gissela Fajardo Ortiz nació en la ciudad de Bogotá D.C, hija de Marco Tulio Fajardo Beltrán y María Vidalia Ortiz Ariza y hermana de William Andrés, Dalia del Pilar y Diego Alejandro Fajardo Ortiz. Gissela cursó sus estudios de primaria, bachillerato, preparatoria y licenciatura en la ciudad de Fusagasugá, Cundinamarca. Para obtener el grado de Ingeniera Agrónoma de la Universidad de Cundinamarca, realizó su estancia y tesis profesional en el Centro de Investigación en Palma de Aceite CENIPALMA desde 2004 a 2005, realizando la determinación de la sintomatología de la enfermedad marchitez letal de la palma de aceite. Como profesional continuó investigando en el cultivo de palma de aceite en UNIPALMA S. A (2006) como ingeniero asistente de investigación en mejoramiento de semillas. Gracias al apoyo de la empresa logró cursar en 2008 la especialización en Cultivos Perennes Industriales en la Universidad Nacional de Colombia. Ese mismo año se vinculó con la empresa SAPUGA S. A, donde se encargó del Departamento de sanidad vegetal, enfrentó varios retos, como la conformación del Comité de la sub-zona de Puerto Gaitán y su representación en el Comité Regional de la zona Oriental. En 2011 inició sus estudios de posgrado en la Universidad Autónoma Chapingo en el programa de Agroforestería para el Desarrollo Sostenible y en 2014 empezó a cursar el Doctorado en Ciencias en Horticultura en la misma Universidad.

RESUMEN GENERAL

Caracterización morfológica, bioquímica y enzimática de accesiones silvestres de guayaba

Fajardo-Ortíz, Alba Gissela¹, Legaria-Solano, Juan Porfirio²

La guayaba (*Psidium guajava* L.) es originaria de América y es la especie comercial más importante de la familia Myrtaceae. Sus frutos aportan ácido ascórbico y recientemente se ha reportado su capacidad antioxidante. En este trabajo se caracterizó la morfología y bioquímica en frutos de seis accesiones de guayaba silvestre: 'Silvania', 'Cumaca', 'Pandi', 'Venecia', 'Guavio' y 'Udec', todas de la provincia de Sumapaz, Colombia. Las características morfológicas evaluadas fueron: peso de fruto, de corteza y de cavidad seminal, esfericidad, grosor de corteza, relación peso de fruto con peso de la cavidad seminal y porcentaje de corteza en relación al peso total del fruto. Las variables bioquímicas evaluadas fueron: acidez valorable total, grados Brix, pH y vitamina C. El peso promedio de frutos fue de 78.16 g, índice de redondez 92 %, grados Brix promedio 8.62 y contenido de vitamina C 170.82 mg 100 g⁻¹. El análisis de agrupamiento determinó que la accesión 'Guavio' conformó un solo grupo indicando un origen diferente al resto de accesiones. Para empezar a conocer la capacidad antioxidante de los frutos de la región se analizaron las enzimas catalasa (CAT) y peroxidasa (POD). Se evaluaron los factores fisicoquímicos temperatura (4-60 °C) y pH (4-10), que afectan la velocidad de la reacción enzima-sustrato, los valores óptimos determinados fueron: CAT 25 °C y pH 5, y POD 22° C y pH 6, encontrándose dentro de los rangos reportados para otras frutas como uva y pitahaya. Comparando los resultados obtenidos con los valores reportados en la literatura se puede indicar que existe potencial para mejoramiento genético en las accesiones silvestres estudiadas.

Palabras claves: *Psidium guajava*, caracterización, morfología, catalasa, peroxidasa.

Tesis de Doctorado Ciencias en Horticultura, Instituto de Horticultura, Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo.

1. Tesista.
2. Director de tesis.

ABSTRACT

Morphological, biochemical and enzymatic characterization of wild guava accessions

Fajardo-Ortíz, Alba Gissela¹, Legaria-Solano, Juan Porfirio²

The guava (*Psidium guajava* L.) is native to the Americas and is the most important commercial species in the Myrtaceae family. Its fruits are a main source of ascorbic acid (AA) and recently the antioxidant capacity of guava fruits has also been reported. The aim of this research was to characterize the morphology and biochemistry of six wild accessions of guava: 'Silvania', 'Cumaca', 'Pandi', 'Venecia', 'Guavio' and 'Udec', all of them from Sumapaz, Colombia. Average fruit weight was 78.16 g, with a 92 % roundness index, 8.62 Brix level and vitamin C content of 170.82 mg 100 g⁻¹. Cluster analysis showed that the 'Guavio' accession formed a single group and the other accessions another. To start to know its antioxidant capacity, the enzymes catalase (CAT) and peroxidase (POD) were evaluated. The physicochemical factors temperature (4-60 °C) and pH (4-10), which affect the reaction speed, were assessed. The optimal values were: CAT 25 °C and pH 5, and POD 22° C and pH 6. These values are within the intervals reported for other fruits such as grapes and pitahaya. Comparing with the values in the literature it can be indicated that there is potential for plant breeding in the wild accessions studied.

Index words: *Psidium guajava*, characterization, morphology, catalase, peroxidase.

Doctoral Thesis in Horticultural Sciences, Horticultural Institute, Crop Science Department, Autonomous University of Chapingo.

1. Author.
2. Reviser

CONTENIDO GENERAL

INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
OBJETIVOS.....	4
GENERAL.....	4
ESPECÍFICOS.....	4
LITERATURA CITADA	5
CAPITULO I. REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
REVISIÓN DE LITERATURA.....	8
1.1 Zonas geográficas y producción agrícola en la provincia de Sumapaz	8
1.2 Caracterización Morfológica.....	9
1.2.1 Variabilidad genética y caracterización de especies vegetales.....	9
1.2.2 Caracterización de la variabilidad	10
1.2.3 Descriptores.....	11
1.3 Descriptores en guayaba	11
1.4 Caracterización Bioquímica	14
1.4.1. Antioxidantes	15
1.4.2. Antioxidantes no enzimáticos.....	16
1.4.3 Ácido ascórbico.....	17
1.4.4. Antioxidantes enzimáticos.....	18
1.4.5 Peroxidasa	18
1.4.6 Catalasa.....	18
1.5. Cinética enzimática.....	18
1. 7. LITERATURA CITADA	20
CAPITULO II. CARACTERIZACIÓN DE GENOTIPOS DE GUAYABA (<i>Psidium guajava</i> L.) MEDIANTE VARIABLES MORFOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS DE FRUTOS	24
2.1. RESUMEN.....	25
2.2. ABSTRACT.....	26
2.3 INTRODUCCIÓN	27
2.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
2.4.1 Caracterización morfológica.....	30
2.4.2. Evaluación bioquímica	30

2.4.3 Análisis de datos	31
2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
2.5.1 Morfología de fruto	32
2.5.2. Características bioquímicas	34
2.5.3. Correlaciones entre características.....	38
2.5.4. Análisis de agrupamientos	39
2.5.5. Análisis de componentes principales	39
2.6. CONCLUSIONES	41
2.7. LITERATURA CITADA	42
CAPÍTULO III. ACTIVIDADES DE LAS ENZIMAS CATALASA Y PEROXIDASA EN FRUTOS DE GUAYABA (<i>Psidium guajava</i> L.)	45
3.1. INTRODUCCIÓN	46
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	48
3.2.1. Material vegetal	48
3.2.2. Extracción de la enzima	48
3.2.3. Actividad de la CAT	49
3.2.4. Actividad de la POD.....	50
3.2.5. Determinación de proteínas.....	50
3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
3.4. CONCLUSIÓN	52
3.5. LITERATURA CITADA	53

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Características de los sitios de la provincia de Sumapaz donde se colectaron las accesiones de los árboles de guayaba.....	28
Cuadro 2. Resultados de la prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$) para características morfológicas de frutos de accesiones de guayaba..	33
Cuadro 3. Resultados de la prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$) para características bioquímicas de frutos de accesiones de guayaba...	
¡Error! Marcador no definido.	
Cuadro 4. Valores promedio, desviaciones estándar, coeficiente de variación y mínimos y máximos de las variables evaluadas en genotipos de guayaba de la provincia de Sumapaz.....	37
Cuadro 5. Valores de correlación entre las características del fruto de las accesiones de guayaba.....	38
Cuadro 6. Eigenvalores, porcentaje de variación individual explicada por cada componente y el porcentaje de varianza acumulada para cinco componentes principales (CP).....	40
Cuadro 7. Contribución de las variables morfológicas y bioquímicas de frutos de guayaba a los cuatro primeros componentes principales (CP).....	40
Cuadro 8. Diferentes concentraciones de sustrato para la cinética enzimática.....	49
Cuadro 9. Curva de calibración para proteína.....	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diferentes morfologías del fruto de guayaba por origen geográfico, localidades y provenientes del programa de mejoramiento en cuba.....	12
Figura 2. Diferentes formas de hojas jóvenes. Tomado de Rodríguez, <i>et al.</i> (2010b).....	12
Figura 3. Color de la piel de la fruta (1) pálido amarillo-verde, (2) amarillo pálido, (3) amarillo oscuro (4) naranja, (5) naranja-verdoso, (6) verde oscuro, (7) rojo.....	13
Figura 4. Superficie de la fruta:(1) liso, (2) desigual, (3) áspero.....	13
Figura 5. Color de la pula: (1) blanco, (2) crema. (3) rosa pálido, (4) rosa, (5) rosa oscuro, (6) naranja-rosa, (7) naranja. Tomado de Rodríguez, <i>et al.</i> (2010a).....	14
Figura 6. Selección de accesiones. (A) ‘Silvania’, (B) ‘Pandi’, (C) ‘Guavio’, (D) ‘Udec’, (E)‘Tibacuy.....	29
Figura 7. Dendrograma de relaciones entre las accesiones de guayabas evaluadas, procedentes de la provincia de Sumapaz, República de Colombia.....	39
Figura 8. Diagrama en 2D mostrando las relaciones entre las accesiones de guayaba evaluada, procedentes de la provincia de Sumapaz, República de Colombia.....	41
Figura 9. Medición del volumen final de los polvos de acetona.....	48
Figura 10. Tratamiento de temperatura para la cinética enzimática.....	49
Figura 11. Temperatura y pH óptimos para la enzima catalasa (CAT) en frutos de guayaba.....	51
Figura 12. Temperatura y pH óptimos para la enzima peroxidasa (POD) en frutos de guayaba.....	52

INTRODUCCIÓN GENERAL

La familia Myrtaceae integra especies importantes con frutas comestibles (Jaiswal y Jaiswal, 2005) entre ellas la guayaba (*Psidium guajava* L.). El árbol fue semi-domesticado hace más de 2,000 años, sin embargo el lugar de origen ha generado controversia entre los historiadores por su gran diversidad fenotípica en árboles y frutos, pero finalmente consideraron que provenía de áreas tropicales de América, distribuyéndose desde México a Perú (Mata y Rodríguez, 1990). Actualmente se encuentran árboles distribuidos en las zonas tropicales y subtropicales del mundo, se cultiva a nivel comercial en: la India, Sudáfrica, Pakistán, Estados Unidos, Australia, Filipinas, Venezuela, Brasil, México, Cuba, Egipto, Tailandia, Indonesia y Colombia (Vento, 2011).

La guayaba se desarrolla bien desde los 0 hasta los 1500 msnm (Mata y Rodríguez 1990). Otros autores han reportado adaptabilidad a 2,000 msnm (Insuasty, Monroy, Díaz, y Bautista, 2014). Un ejemplo del efecto negativo de las condiciones climáticas extremas sobre el cultivo de guayaba, que se pudo apreciar en Hawaii, donde se cultiva desde el nivel del mar hasta los 1,200 msnm, en los dos casos el crecimiento y la producción total de la fruta es inferior, se encontró que los cultivos más exitosos se obtienen entre los 150 y 450 msnm, pero finalmente el cultivo prospera en diferentes escenarios climáticos desde los 0 a 2,000 msnm, este árbol puede sobrevivir en condiciones ecológicas desfavorables y con pocos cuidados agronómicos (Mata y Rodríguez, 1990).

La producción mundial de guayaba es de aproximadamente 1.2 millones de toneladas, siendo la India y Pakistán los mayores productores (50 %), seguidos de México (25 %) y otros países como Colombia, Egipto y Brasil (Tzec, Villaseñor, Romantchik, Soto, y Peña, 2010). En Colombia la producción se concentra principalmente en los Estados de Santander y Boyacá (60 %), Tolima (10 %), Cundinamarca (9 %), Huila, Antioquia, Cauca, Nariño y Atlántico (Insuasty *et al.*, 2014). Como se aprecia por lo datos anteriores, este frutal está diseminado en todo el país, pero tanto la producción como el

área cultivada se han visto reducidas a partir de 2007, las toneladas han disminuido de 107,164 a 70,054 y el área cultivada de 11,671 a 6,907 ha (Agronet, 2016). Lo anterior puede deberse a que la producción de guayaba en Colombia se basa en la utilización de variedades no mejoradas y de bajo rendimiento y sembradas en traspatio. Estas variedades, aunque poco productivas muestran una gran variabilidad genética que debería estudiarse y luego explotarse en programas de mejoramiento genético de la especie (Rueda, Palacio, Muñoz, Saavedra y Bravo, 2006).

Los frutos han llamado la atención por tener características nutricionales importantes como vitamina A, tiamina, riboflavina y minerales como el calcio, hierro y fósforo. También a la guayaba se le han atribuido propiedades medicinales siendo utilizada en medicina tradicional en diferentes países del mundo (Rodríguez *et al.*, 2010). Además contiene ácido ascórbico (AA) o vitamina C, y sus valores son mayores a los encontrados en los jugos de cítricos (Pommer y Murakami, 2009). El AA en guayaba está en tercer lugar en concentración, después de la cereza de Barbados (*Malpighia glabra*) con más de 1,000 mg 100 g⁻¹ de AA y de Angola (*Emblica officinalis*) con 500 a 700 mg 100 g⁻¹, pero estas frutas son ácidas limitando su consumo; mientras que los frutos de la guayaba tienen la ventaja de consumirse en fresco, conserva o procesados (Mata y Rodríguez, 1990).

Otras características del fruto son los altos contenidos de fibra dietética, fracción no digerible, y compuestos fenólicos analizados en la cáscara y pulpa, además tiene capacidad antioxidante por la correlación positiva entre el contenido de fenoles extraíbles y la actividad de eliminación de radicales libres (Jiménez, Rincón, Pulido y Saura, 2001). Además los frutos se pueden utilizar como fuente de antioxidantes naturales para usos alimentarios, farmacéuticos, médicos y comerciales (Flores, Wu, Negrin y Kennelly, 2015).

Por todas las propiedades del fruto mencionadas anteriormente, se decidió evaluar los frutos de la provincia de Sumapaz, ubicada en el Estado de Cundinamarca, Colombia. Esta provincia es una ecorregión central andina, con climas de frío a cálido,

temperaturas entre 2 y 24 °C; alturas desde 480 hasta 3 500 msnm, y precipitaciones entre 1,000 a más de 2,000 mm anuales (Jaller, 2010). Presenta suelos francos y arcillosos, de moderada profundidad y con buen contenido de materia orgánica, aptos para la agricultura. Las actividades económicas de la población son el turismo y la agricultura, en esta última área sobresalen algunos cultivos frutícolas como: tomate de árbol (*Solanum betaceum*), mora (*Rubus fruticosus*), uchuva (*Physalis peruviana*), gulupa (*Passiflora pinnatistipula*) y granadilla (*Passiflora ligularis*); en horticultura: papa (*Solanum tuberosum*), habichuela (*Phaseolus vulgaris*), arveja (*Pisum sativum*), cebolla (*Allium cepa*), frijol arbustivo (*Phaseolus vulgaris*) y tomate (*Solanum lycopersicum*) (Barrientos y Cardona, 2010).

Para lograr identificar las propiedades físicas y bioquímicas de la guayaba es necesario caracterizarlos, mediante el uso de descriptores definidos que permitan determinar su variabilidad genética presentes en determinada región (Hernández, 2013; Martínez *et al.*, 2004. También ayudaría al manejo racional del material vegetal, como su conservación y mejoramiento genético (Tapia, Gutiérrez, Warburton, Santacruz y Villegas, 2005).

OBJETIVOS

GENERAL

Evaluar las características morfológicas y bioquímicas de los frutos de guayaba en la ecoregión de la provincia de Sumapaz, Estado de Cundinamarca, Colombia para conocer las propiedades de los frutos presentes en la región.

ESPECÍFICOS

Caracterizar morfológicamente los frutos de guayaba mediante descriptores altamente discriminantes para lograr encontrar diferencias y similitudes entre las accesiones seleccionadas.

Determinar parámetros bioquímicos: acidez total, grados brix, pH y ácido ascórbico mediante protocolos estandarizados para conocer las cantidades de estos en los frutos de la provincia.

Definir las condiciones físicas óptimas de pH y temperatura para las enzimas catalasa (CAT) y peroxidasa (POD), mediante la exposición a diferentes condiciones térmicas y de pH para conocer la actividad enzimática en los frutos.

LITERATURA CITADA

- Agronet, (2016) Red de información y Comunicación del Sector Agropecuario Colombiano.** Reportes estadísticos.
<http://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/default.aspx>(consultado: marzo de 2018).
- Barrientos, F. J. C., y Cardona J. O. (2010)** Los pequeños productores están limitados para adoptar nuevos cultivos. El caso de las hierbas aromáticas en la región de Sumapaz. Cundinamarca. *Agronomía Colombiana*, 28(1), 99-106.
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180315651011>
- Flores, G. S., Wu, B., Negrin, A., & Kennelly, E. J. (2015)** Chemical composition and antioxidant activity of seven cultivars of guava (*Psidium guajava*) fruits. *Food Chemistry*, 170, 327-335. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.076>
- Hernández-Villarreal A. E. (2013)** Caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. *Bio-Ciencias*, 2(3), 113-118.
<https://doi.org/10.15741/rev%20bio%20ciencias.v2i3.41>
- Insuasty, B., Monroy, R. O. R., Díaz, F. A., y Bautista, D. (2014)** *Manejo Fitosanitario del cultivo de la Guayaba en Santander*. Instituto Colombiano Agropecuario-ICA 40p.
- Jaiswal, U., & Jaiswal, V.S. (2005)** *Psidium guajava*. In: Biotechnology of Fruit and Nut Crops. Litz, R.E. (Ed.) *Biotechnology of Fruit and Nut Crops*. Capítulo 20. CABI Publishing. 394p. <https://doi.org/10.1079/9780851996622.0000>
- Jaller, R. S. (2010)** *Análisis de los sistemas de producción agrícola de las Provincias de Soacha y Sumapaz (Cundinamarca)*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. FAO. Bogotá. 210p.
- Jiménez, E. A., Rincón, M., Pulido, R., & Saura, C. F. (2001)** Guava Fruit (*Psidium guajava* L.) as a New Source of Antioxidant Dietary Fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5489–5493. <https://doi.org/10.1021/jf010147p>
- Martínez-De Lara, J., Barrientos-Lara, M. C., Reyes-De Anda, A. C., Hernández-Delgado, S., Padilla-Ramírez, J. S., y Mayek-Pérez, N. (2004)** Diversidad fenotípica y genética en huertas de Guayabo de Calvillo. Aguascalientes.

Fitotecnia Mexicana, 27(3), 243-249.
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61027304>

- Mata, B. I., y Rodríguez, M. A. (1990)** *Cultivo y Producción del Guayabo*. Trillas. México. 160 p.
- Pommer, C. V., & Murakami, K. R. N. (2009)** Breeding Guava (*Psidium guajava* L.). In: *Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species*. Eds: Jain, S.M., & Priyadarshan, P.M. Springer Science & Business Media. New York. 654p.
- Rodríguez, N. N., Valdés, J., Rodríguez, J. A., Velásquez, J. B., Rivero, D., Martínez, F., González, G., Sourd, D. G., González, L., & Cañizares, J. (2010)** Genetic resources and breeding of guava (*Psidium guajava* L.) in Cuba. *Biotechnología Aplicada*, 27(3), 238-241. <http://scielo.sld.cu/pdf/bta/v27n3/bta07310.pdf>
- Rueda, A. J., Palacio, D., Muñoz, J. E., Saavedra, R., y Bravo, E. (2006)** Caracterización molecular del banco de germoplasma de guayaba *Psidium* spp., del Centro de Investigación Corpoica-Palmira. *Fitotecnia Colombiana*, 6(2), 26-32.
- Tapia, C. E., Gutiérrez, E. M. A., Warburton, M. L., Santacruz, V. A., & Villegas, M. A. (2005)** Characterization of madarin (*Citrus* spp.) Using morphological and AFLP markers. *Interciencia*, 30(11), 687-693.
- Tzec, Y.J. A., Villaseñor, P. C. A., Romantchik, K. E., Soto, E. M., & Peña, P. M. A. (2010)** Una revisión sobre la importancia del fruto de Guayaba (*Psidium guajava* L.) y sus principales características en la postcosecha. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 19(4), 74-82.
- Vento, O. Y. (2011)** *Instructivo técnico para el cultivo de la guayaba*. Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical (IIFT). Habana, Cuba, 38p.

CAPITULO I. REVISIÓN DE LITERATURA

CHAPTER I. LITERATURE REVIEW

REVISIÓN DE LITERATURA

La producción mundial de guayaba es de aproximadamente 1.2 millones de toneladas, siendo la India y Pakistán los mayores productores (50 %), seguidos de México (25 %) y otros países como Colombia, Egipto y Brasil (Tzec, 2010). De esta producción más del 90 % se consume en fresco, si no tiene la calidad adecuada se puede procesar en jugos, encurtidos, secos o enlatados (Thaipong y Boonprakob, 2006). Una de las ventajas del fruto es la disponibilidad durante todo el año, precio accesible, duradero en el transporte y manipulación (Nimishaa, Kherwara, Ajayb, Singhc y Ushaa, 2013).

Además tiene vitaminas A y fibra dietética, las semillas son ricas en ácidos grasos poliinsaturados tipo omega-3 y omega-6. También contiene minerales dietéticos, potasio, magnesio y, en general, un amplio perfil bajo en calorías de nutrientes esenciales, igualmente posee carotenoides y polifenoles, las principales clases de pigmentos antioxidantes, lo que les da un valor antioxidante dietético relativamente alto entre los alimentos vegetales, todas estas características la convierten en una fuente de antioxidantes naturales para la nutrición humana (Fernandes *et al.*, 2010; Nimishaa *et al.*, 2013; Silva y Sirasa, 2018).

1.1 Zonas geográficas y producción agrícola en Colombia

La provincia de Sumapaz, Colombia, presenta alturas desde los 480 a 3 500 msnm, que origina la diversidad de pisos térmicos y microclimas, influenciados por el Páramo del Sumapaz. En consecuencia, se cuenta con climas de Páramo (P), bosque muy húmedo Montano Bajo (bhmMB), bosque húmedo Montano Bajo (bhMB), bosque seco Montano Bajo (bsMB), bosque seco Premontano (bsPM), bosque húmedo Premontano (bhPM), bosque muy seco Premontano (bsmPM), bosque húmedo Montano (bhM) y bosque seco Tropical (bsT), las características mencionadas favorecen el cultivo de diversas hortalizas y frutas, que hacen parte de la economía regional, esta provincia se divide en tres zonas geográficas: norte, central y sur. En ellas se distribuye la producción de frutas y hortalizas (Jaller, 2010).

Zona norte: comprende los municipios de Granada y Silvania, posee los mejores suelos. Su clima es de templado a frío, se produce la mayor cantidad de fruta de exportación como la uchuva, gulupa, granadilla y el tomate de árbol y las hortalizas de crecimiento rápido como arveja y habichuela. Tiene un área de producción de papa, a más de 2 400 msnm en el municipio de Granada.

Zona central: presenta clima cálido, Boquerón y Chinauta en Fusagasugá de 450-900 msnm, hasta clima frío en Los Colorados (3400 msnm), en Pasca. Incluye los municipios de Fusagasugá, Tibacuy, Pasca y Arbeláez.

Zona sur: conformada por los municipios de Pandi, Venecia, Cabrera y San Bernardo, es la zona más cercana al Páramo de Sumapaz, por tanto origina ecosistemas con microclimas especiales, que favorecen el crecimiento de variedades frutícolas de exportación (Jaller, 2010).

En la zona existe potencial para el cultivo de guayaba, pero necesario conocer la variabilidad genética disponible en las poblaciones correspondientes a las condiciones agroclimáticas de cada región productora (Martínez *et al.*, 2004). Para medir la variabilidad genética se requiere la caracterización de recursos fitogenéticos, que consiste en la medición de una colección mediante el uso de descriptores definidos (Hernández, 2013). También se evalúa la representatividad de la colección, la investigación de la estructura genética a través de la determinación de poblaciones identificables, la identificación de duplicados dentro de una colección y la identificación de genes especiales o alelos particulares (Franco e Hidalgo, 2003).

1.2 Caracterización Morfológica

1.2.1 Variabilidad genética y caracterización de especies vegetales

Los organismos vivos están expuestos a la continua interacción con factores bióticos y abióticos, para sobrevivir usan la información contenida en su genoma de acuerdo a las características de su entorno, gracias a esta interacción adaptativa logran acumular información genética dentro de los individuos de su población, transmitida de

generación en generación. Entre los individuos de la población existen variantes y por tanto la suma de todos los individuos con sus respectivas variantes se conoce como variabilidad genética de una especie (Franco e Hidalgo, 2003).

La variabilidad producida puede expresarse o no, en características que permitan identificarlas y entonces se puede agrupar en dos clases: 1. La expresión de las características visibles que conforman el fenotipo; y 2. Las características no expresadas, no visibles, que existen a nivel genómico. La primera clase hace referencia a los caracteres morfo-agronómicos que pueden ser cualitativos o cuantitativos, con mediciones botánicas-taxonómicas entre ellos formas de flor, fruto y hoja; y las características agronómicas incluye forma de hojas; pigmentaciones en raíz, tallo, hojas y flores; color, forma y brillo en semillas; tamaño, forma y color de frutos; arquitectura de planta expresada en hábito de crecimiento y tipos de ramificación, estos descriptores son heredables pero afectados por cambios ambientales (Franco e Hidalgo 2003).

1.2.2 Caracterización de la variabilidad

De acuerdo con Franco e Hidalgo (2003), en el proceso de caracterización de una colección se pueden tener los siguientes objetivos:

- Medir la variabilidad genética del grupo en estudio donde se puede incluir o no diferentes niveles de variabilidad, como fenotípica, evolutiva y molecular.
- Establecer la representatividad de la colección y su relación con la variabilidad de la especie.
- Investigar la estructura genética o composición de la colección en relación con las variantes, son afectados por factores demográficos *in situ*, como el tamaño de la población, biología reproductiva y migración.
- Identificar los porcentajes de duplicidad de accesiones que puedan existir en una misma colección.
- Identificar genes especiales o alelos particulares que se pueden expresar en caracteres visibles. Son utilizados en caso de resistencia a factores bióticos.

1.2.3 Descriptores

Se define al descriptor como una característica o atributo cuya expresión es fácil de medir, y permiten la discriminación fácil entre fenotipos. Estos descriptores han sido desarrollados para un gran número de especies cultivadas, al medir la variabilidad es recomendable seleccionar descriptores que sean altamente discriminatorios, que tienen como ventaja la reducción del tiempo para evitar la toma de datos repetitivos y simplifica el análisis (Franco e Hidalgo, 2003).

1.3 Descriptores en guayaba

Los primeros descriptores para guayaba fueron establecidos por la Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV, por sus siglas en inglés) en 1987, para la aplicación de pruebas de distinción, homogeneidad y estabilidad en guayaba. La medición de caracteres morfológicos es la forma más práctica de evaluar la variación genética, de igual manera se requieren descriptores específicos para la identificación de plantas de una colección, así como la protección de los nombres de los cultivares (Rodríguez *et al.*, 2010a).

En Cuba se llevó a cabo un amplio trabajo de investigación para identificar los descriptores más discriminantes, que permitieran una fácil y rápida clasificación entre fenotipos, además se estandarizaron los caracteres morfológicos a nivel mundial y un número limitado de rasgos adicionales que se consideraron adecuados por consenso de los usuarios, del cultivo, estos incluyen caracteres cuantitativos y cualitativos; para los últimos crearon una escala de valores del uno al nueve para designar los estados dentro de cada descriptor, el número de descriptores aumentó respecto a los de UPOV (1987) , un aporte de este trabajo fue el catálogo de ilustraciones de frutos y hojas (Figuras 1 y 2), que permite una mejor evaluación de las características (Rodríguez, *et al.*, 2010b). Como color de la piel, textura de la superficie y forma del fruto (Figuras 3, 4 y 5).



Figura 1. Morfologías del fruto de guayaba A. Accesiones de diferentes orígenes geográficos: guayaba blanca de Indonesia, NG de Florida (U.S.A) y Seychelles (Seychelles, Islands). B. Accesiones silvestres de localidades en Cuba, Cotorrea, Ibarra y microguayaba. C. Guayabas de polinización abierta y controlada en Cuba, del programa de mejoramiento, EEA1-23, Belic L-2007 y EEA18-10. Tomado de Rodríguez, *et al.* (2010b).



Figura 2. Diferentes formas de hojas jóvenes. Tomado de Rodríguez, *et al.* (2010b).

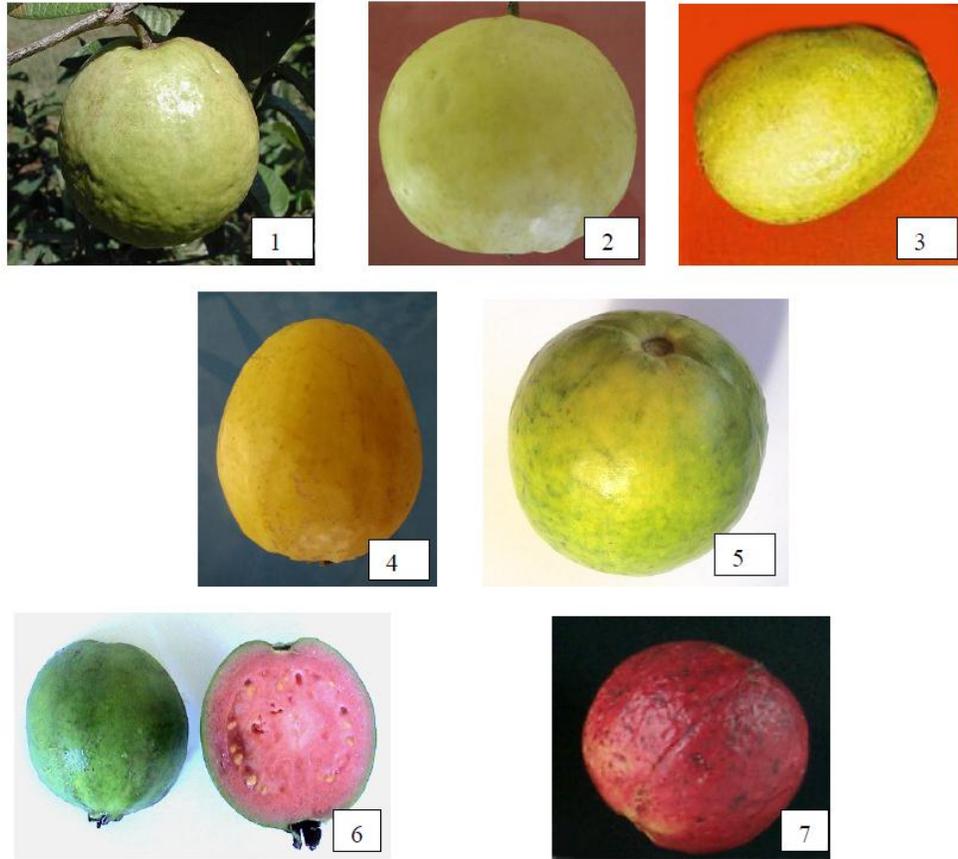


Figura 3. Color de la piel de la fruta (1) pálido amarillo-verde, (2) amarillo pálido, (3) amarillo oscuro (4) naranja, (5) naranja-verdoso, (6) verde oscuro, (7) rojo. Tomado de Rodríguez, *et al.* (2010a).

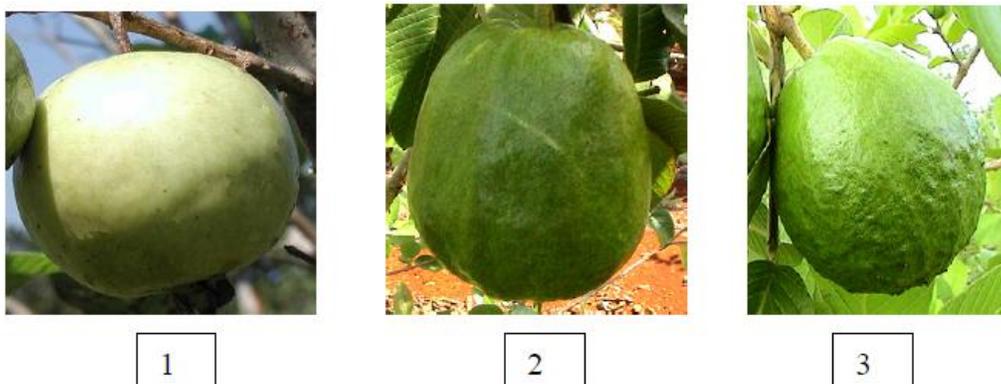


Figura 4. Superficie de la fruta: (1) liso, (2) desigual, (3) áspero. Tomado de Rodríguez, *et al.* (2010a).

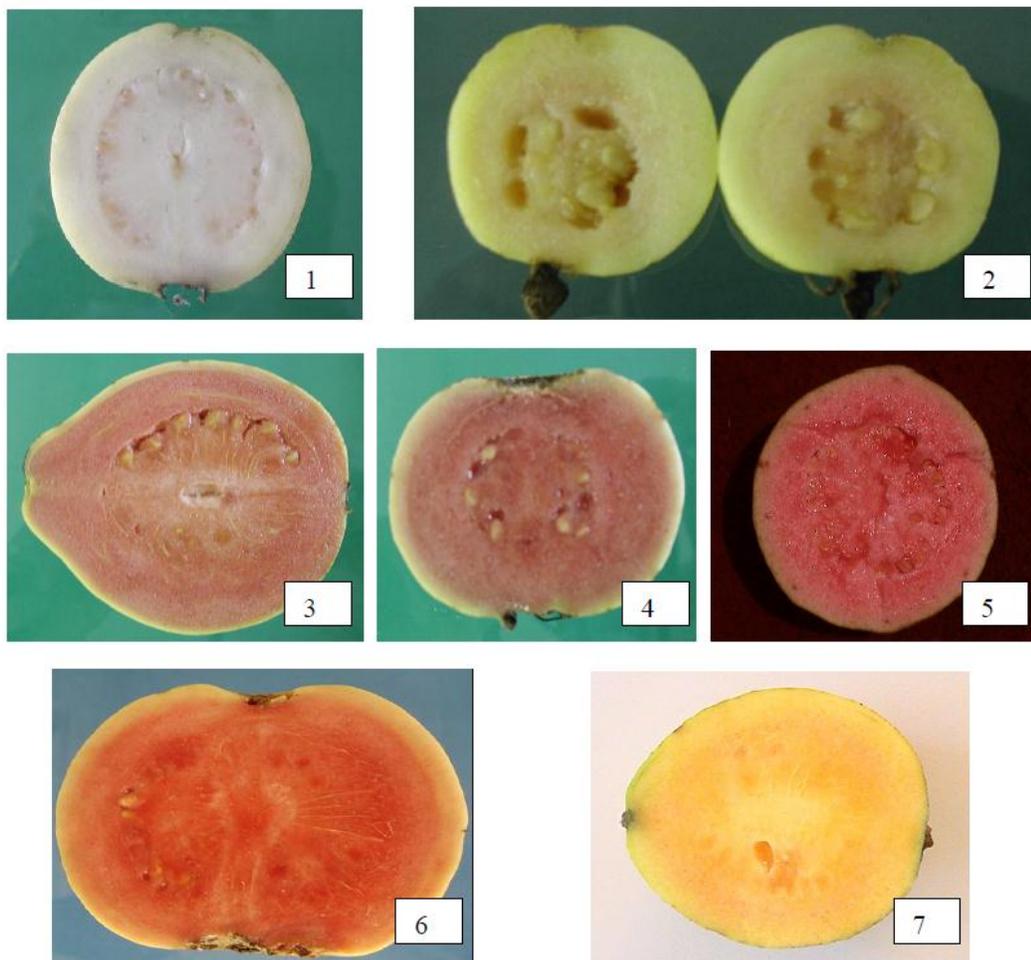


Figura 5. Color de la pula: (1) blanco, (2) crema. (3) rosa pálido, (4) rosa, (5) rosa oscuro, (6) naranja-rosa, (7) naranja. Tomado de Rodríguez, *et al.* (2010a).

1.4 Caracterización Bioquímica

Este tipo de mediciones pueden ser discriminantes entre accesiones y además son importantes para la industrialización. Los frutos de guayaba son de fácil proceso ya que no tiene muchos problemas físicos o bioquímicos en relación con la textura y la forma de fructificación o la pulpa durante el procesamiento (Yusof, 2003). Por esta razón conocer algunas propiedades internas de la fruta en las accesiones sería de utilidad para clasificar los atributos de calidad como el dulzor, que se mide en grados brix, que permite determinar el cociente total de sacarosa disuelta en un líquido; por ejemplo 30 grados brix indican que hay 30 gramos de sacarosa en 100 gramos de líquido (Gastalver, 2015). Otra característica importante es la medición de pH, que sirve para cuantificar la concentración de H_3O^+ existente en el zumo del fruto, denominada también

como acidez activa, se relaciona con el contenido de ácidos presentes y la capacidad de albergar microorganismos; entonces valores bajos permiten un mayor tiempo de vida de anaquel (Domene y Segura, 2014).

1.4.1. Antioxidantes

Durante casi un siglo, las frutas y verduras han sido reconocidas como fuente de vitaminas, minerales y fibra, se consideran tan importantes que para la nutrición humana se recomiendan cinco raciones diarias, ya que se ha encontrado una relación entre su consumo y la reducción en el riesgo de padecer enfermedades crónicas como apoplejía y otras, como desordenes cardiovasculares, y ciertos tipos de cánceres (Tamayo, Herrera, Sauri, Vargas y Solís, 2013). Estas enfermedades están relacionadas con la presencia de radicales libres que se pueden definir como átomos o grupos de átomos que tienen un electrón no apareado en un orbital atómico, haciéndolos inestables y altamente reactivos, ya que tienden a captar un electrón de otros átomos con el fin de alcanzar su estabilidad química (Lobo, Patil, Phatak, y Chandra, 2010).

Los radicales libres que tienen la capacidad de producir daños oxidativos se les denomina Especies Reactivas del Oxígeno (ROS) y están presentes en organismos aeróbicos por el consumo de oxígeno, estas ROS son el resultado de la excitación de O_2 que produce un radical superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) o un radical hidroxilo (OH.) (González, Betancourt, Ortiz, 2000). Se ha encontrado que estos radicales libres son muy importantes en la generación de algunas enfermedades, la formación de estos radicales puede ocurrir por varios mecanismos, entre ellos los factores endógenos y ambientales (Young y Woodside, 2001).

Las ROS tienen efectos en el ácido desoxirribonucleico (ADN) al reaccionar con las bases nitrogenadas y con la desoxirribosa, ocasionando un daño importante ya que se pueden producir mutaciones en los humanos que se expresan en cáncer, destrucción o muerte celular, y enfermedades hereditarias, en este caso se han detectado más de 20 tipos de modificaciones estructurales de las bases, donde se aprecia que las ROS quebrantan el ADN y aparecen fragmentos internucleosomales, entre los nucleosomas.

También repercuten en la transcripción génica y producen daños en los lípidos causando peroxidación lipídica que consiste en una reacción del radical libre que oxida una cadena insaturada del lípido formando un lípido hidroperoxidado y un radical alquilo, generando alteraciones en la estructura de la membrana y fluidez, provocando daños en su integridad, este tipo de lipoperoxidación se ha identificado en relación con enfermedades cardiovasculares y ha mostrado correlación con la arterosclerosis, pero un efecto más crítico se observa en las proteínas porque ocasionan pérdida de la actividad catalítica de las enzimas, daño e interrupción en la regulación de las vías metabólicas, causando oxidación de residuos aminoácidos y rompiendo enlaces peptídicos; estas alteraciones están asociadas a las enfermedades de Alzheimer, artritis reumatoide y catarogénesis (Cárdenas y Pedraza, 2006).

Para evitar los daños oxidativos, las células y los organismos aeróbicos tienen defensas antioxidantes, que se incrementan de acuerdo al tamaño de la agresión, transforman los radicales libres en productos menos tóxicos o no tóxicos; además las células promueven la prevención de su formación, la inhibición de su propagación y la reparación de las lesiones (González, Betancourt y Ortiz, 2000). Por tanto un antioxidante se puede definir como una sustancia que a bajas concentraciones, comparado con el sustrato oxidable, retarda o previene significativamente la oxidación de ese sustrato (Cárdenas y Pedraza, 2006). Estos antioxidantes se han clasificado en dos sistemas, el primero no enzimático o exógeno y el segundo enzimático o endógeno (Zamora, 2007).

1.4.2. Antioxidantes no enzimáticos

La característica de estos antioxidantes es que son sintetizados por células o pueden ser introducidos al organismo por medio de la dieta, entre ellos se encuentran: la vitamina C que cumple la función de capturar radicales hidroxilo; la vitamina E que ayuda a capturar radicales hidroxilo; el anión superóxido, neutraliza peróxidos, y los beta-carotenos neutralizan el oxígeno singulete (O_2^1) (Mayor, 2010).

1.4.3 Ácido ascórbico

El ácido ascórbico (AA) o vitamina C, está presente para un número limitado de especies, entre ellas el hombre y algunos animales (Bender, 2005), además de ser antioxidante participa en la síntesis de colágeno, si esta síntesis no se lleva a cabo se presentarían síntomas de escorbuto. Como antioxidante, el ácido ascórbico reacciona rápidamente con superóxido, oxígeno singulete, ozono y peróxido de hidrógeno, ayudando en la eliminación de estas formas reactivas de oxígeno que se generan durante el metabolismo aeróbico y durante la exposición a algunos contaminantes y herbicidas (Smirnoff, 1996). Se ha demostrado que el AA contribuye a la protección del ADN por daños de radicales libres, en un estudio de células humanas *in vitro*, se encontró que altas concentraciones intracelulares de AA reducen las mutaciones causadas por el estrés oxidativo; confirmando el papel de la vitamina C en la prevención de mutagénesis de ADN en humanos (Lutsenko, Cárcamo y Gold, 2002).

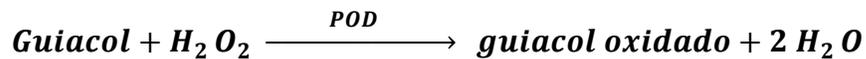
En la célula, el AA está presente en cloroplastos, citosol, vacuolas y el espacio apoplástico. La vitamina C es posiblemente el antioxidante no enzimático más importante en las plantas, y participa en la defensa contra el estrés oxidativo biótico y abiótico, también participa en procesos fisiológicos como: fotosíntesis, cofactor enzimático, homeostasis del sistema redox, precursor en las rutas de síntesis de moléculas del metabolismo primario y secundario (Smirnoff, 1996), y también regulador de la actividad enzimática de las peroxidasas (Stasolla y Yeung, 2007). Es participe del crecimiento, desarrollo y modulación del ciclo celular así como de la división y elongación celular (De Pinto y De Gara, 2004). Reconociendo la importancia del AA como antioxidante, cobra interés el hecho de conocer los valores mínimos de ingesta diaria, por el año 1940 se realizaron la investigaciones para resolver esta pregunta, encontrando que una ingesta de al menos 10 mg por día era adecuada para prevenir el desarrollo de escorbuto, sin embargo la variación individual, arroja un valor de ingesta diaria de 30 mg/día, cifra para Reino Unido hasta 1991 y para la Organización Mundial de la Salud y la FAO (Bender, 2005).

1.4.4. Antioxidantes enzimáticos

El mecanismo de protección enzimático celular se encuentra ubicado en varios compartimentos celulares, incluyen las enzimas: peroxidasa (POD) (EC 1.111.1.7) que convierte el H_2O_2 en agua y la catalasa (CAT) (EC 1.111.1.6) elimina el H_2O_2 (Oueslati, Karray, Attia, Rabhi, Ksouri y Lachaal, 2010).

1.4.5 Peroxidasa

La peroxidasa es una oxido-reductasa, su donante es H_2O_2 , es una enzima usada convencionalmente para monitorear y evaluar la extensión del tratamiento térmico, ya que es estable al calor, se produce en un número considerable de vegetales (Goncalves, Pinheiro, Abreu, Brandão y Silva, 2007). El Guiacol es el sustrato utilizado para el ensayo de peroxidasa, entonces la actividad POD se mide por la tasa de formación de guiacol oxidado (Saexa, 2012):



1.4.6 Catalasa

La catalasa (CAT) [EC 1.11.1.6.] es una oxido-reductasa, ubicada en peroxisomas, citosol o mitocondrias (Veal, Day y Morgan, 2007). La CAT cataliza la descomposición del H_2O_2 en agua y O_2 , puede obtenerse de diversas fuentes tales como: bacterias, plantas o tejidos animales (Cantemir, Raducana, Puiub y Oanceaa, 2013).

1.5. Cinética enzimática

Las enzimas son catalizadores de los sistemas biológicos. Una enzima típica acelera la velocidad de una reacción en factores de al menos un millón en comparación con la velocidad de la misma reacción en ausencia de la enzima, estas reacciones culminan en la transformación de diversos productos químicos de acuerdo con las necesidades metabólicas, la transformación de productos químicos en formas celulares utilizables, la desintoxicación de productos químicos, el almacenamiento de sustancias químicas como energía o el uso de sustancias químicas como moléculas de señalización para controlar las vías metabólicas (Ulusu, 2015).

La cinética estudia la velocidad de las reacciones químicas, dentro de sus objetivos está la comprensión de los mecanismos de reacción, como lo son las etapas del proceso de una reacción y la secuencia en la que se producen, está involucra la velocidad de la reacción y la forma en la que cambia en respuesta a diferentes condiciones de pH y temperatura (Voet y Voet, 2006).

Para medir la actividad de una enzima se inicia con la selección del tejido, se rompe las células en un medio líquido, a una temperatura entre 0 a 4°C con el fin de evitar la desnaturalización de las proteínas (a este proceso se denomina homogeneización), y a partir de este producto es posible separar los organelos. Para medir la actividad de la enzima se incuba la preparación enzimática a 37 °C, por periodos variados de tiempo y se evalúa el producto de la reacción enzimática en un tiempo determinado, si se aprecia una relación lineal entre la concentración y la velocidad de la reacción en un periodo de tiempo, se podrá expresar la actividad enzimática en términos de velocidad, indicando la cantidad de producto formado por unidad de tiempo. La velocidad de reacción (v) se expresa como micromoles de producto formado por minuto. Otras expresiones son adecuadas si los valores se toman dentro de la linealidad de la reacción, si no es lineal la reacción, esto puede indicar que alcanzó su equilibrio o sea se agotó el sustrato para la formación de más producto. Otra razón puede ser que la enzima se desnaturalizó en ese tiempo por tanto no hay más actividad, o finalmente puede ocurrir que el producto tenga un efecto inhibitor en la actividad de la enzima ocasionando la disminución de la enzima cuando el producto alcanza cierta concentración (Peña, Arroyo, Gómez, Tapia y Gómez, 2004).

1. 7. LITERATURA CITADA

- Bender, D. A. (2005)** Ascorbic acid Physiology, Dietary Sources and Requirements. En: Caballero B, Allen L., Pretice A. (Ed.) *Encyclopedia of human nutrition*. Segunda edición. Elsevier Ltd. Oxford. 586p.
- Cantemir, A. R., Raducana, A., Puiub, M., & Oancea, D. (2013)** Kinetics of thermal inactivation of catalase in the presence of additives. *Process Biochemistry*, 48(3), 471–477. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.02.013>
- Cárdenas-Rodríguez, N., y Pedraza-Chaverri, J. (2006)** Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos. *Educación Química*, 17(2), 164-173.
- De Pinto, C. M., & De Gara, L. (2004)** Changes in the ascorbate metabolism of apoplastic and symplastic spaces are associated with cell differentiation. *Journal of Experimental Botany*, 55(408), 2559–2569. <https://doi:10.1093/jxb/erh253>
- Domene-Ruiz, M. A., y Segura-Rodríguez, M. (2014)** *Parámetros de calidad interna de hortalizas y frutas en la industria agroalimentaria*. Fichas de transferencia número 5. Grupo Cooperativo Cajamar. 18p.
- Fernandes-Santos, C.A., Cunha-Castro, J.M., de França-Souza, F., Alcântara-Vilariño, A., do Ferreira, F.R., Gomes-Pádua, J., Estigarribia-Borges, R.M., Barbieri, R.L., Claret de Souza, A.D.G., & Amorim-Rodrigues, M. (2010)** Prospecting and morphological characterization of Brazilian *Psidium* germplasm. *Acta Horticulture*, 849, 63-68. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.849.6>
- Franco, T., y Hidalgo, R. (2003)** *Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos*. El Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI). Boletín técnico no. 8. Cali, Colombia. 89 p.
- Gastalver, R. M. C. (2015)** UF1741: *Supervisión y ejecución de técnicas aplicadas a productos de confitería*. Editorial Elearningd. S.L. España. 343p.
- Goncalves, E. M, Pinheiro, J., Abreu, M., Brandaño T. R. S., & Silva, M.C. L. (2007)** Modelling the kinetics of peroxidase inactivation, colour and texture changes of pumpkin (*Cucurbita maxima* L.) during blanching. *Journal of Food Engineering*, 81, 693–701. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.01.011>

- González-Torres, M. C., Betancourt-Rule, M., y Ortiz-Muñiz, R. (2000)** Daño Oxidativo y Antioxidantes. *Bioquímica*, 25 (1), 3-9. <https://doi.org/10.1007/s11738-009-0406-0>.
- Hernández-Villarreal, A. E. (2013)** Caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. *Revista Bio Ciencias*, 2(3), 113-118.
- Jaller, R. S. (2010)** *Análisis de los sistemas de producción agrícola de las Provincias de Soacha y Sumapaz (Cundinamarca)*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. FAO. Bogotá. 210p.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010)** Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118–126. <http://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>
- Lutsenko, E. A., Cárcamo, J. M., & Gold, D. W. (2002)** Vitamin C Prevents DNA Mutation Induced by Oxidative Stress. *The journal of biological chemistry*, 277 (19), 16895–16899 <http://doi.org/10.1074/jbc.M201151200>
- Martínez, De L. J.; Barrientos, L. M. C., Reyes, De A. A. C., Hernández, D. S., Padilla, R. J. S., y Mayek, P. N. (2004)** Diversidad fenotípica y genética en huertas de Guayabo de Calvillo, Aguascalientes. *Fitotecnia Mexicana*, 27(3), 243-249.
- Mata, B. I., y Rodríguez, M. A. (1990)** *Cultivo y Producción del Guayabo*. Trillas. México. 160p.
- Mayor-Oxilia, R. (2010)** Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. *Revista del Instituto de Medicina Tropical*, 5(2), 23-29.
- Nimishaa, S., Kherwara, D., Ajayb, K.M., Singhc, B., & Ushaa, K. (2013)** Molecular breeding to improve guava (*Psidium guajava* L.): Current status and future prospective. *Scientia Horticulturae*, 164, 578–588. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.10.017>
- Oueslati, S., Karray-Bouraoui, N., Attia, H., Rabhi, M., Ksouri R., & Lachaal, M. (2010)** Physiological and antioxidant responses of *Mentha pulegium* (Pennyroyal) to salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32, 289–296. <https://doi.org/10.1007/s11738-009-0406-0>

- Patel, R. K., Mait, C.S., Bidyut, C. D., Deshmukh, N. A., Verma, V.K., & Nat, A. (2015)** Physical and biochemical changes in guava (*Psidium guajava* L.) during various stages of fruit growth and development. *International Journal of Agriculture, Environment & Biotechnology*, 8(1), 63-70. <http://www.nrclitchi.org/uploads/research-papers/R-K-Patel/55.pdf>
- Peña, P. A., Arroyo, B. A., Gómez, P. B., Tapia, I. R., y Gómez, E. C. (2004)** *Bioquímica*. Segunda edición, Limusa Noriega Editores. Distrito Federal, México 427p.
- Rodríguez, M. N. N., Valdés, J., Rodríguez, J. A., Velásquez, J. B., Rivero, D., Martínez, F., González, G., Sourd, D. G., González, L., & Cañizare, J. (2010b)** Genetic resources and breeding of guava (*Psidium guajava* L.) in Cuba". *Bioteconología Aplicada*, 27(3), 238-241.
- Rodríguez-Medina, N. N., Fermin, G. A., Valdés-Infante, J., Velásquez, B., Rivero, D., Martínez, F., Rodríguez, J., & Rohde, W. (2010a)** Illustrated Descriptors for Guava (*Psidium guajava*) *Acta Horticultura*, 849, 103-109.
- Saexa, J., Baunthiyal, M., & Ravi, I. (2012)** *Laboratory Manual of Microbiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Scientific Publishers, India. 380p.
- Silva K. D. R. & Sirasa M. S. F (2018)** Antioxidant properties of selected fruit cultivars grown in Sri Lanka. *Food chemistry*, 238, 203-208. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.102>
- Smirnoff, N. (1996)** The Function and Metabolism of Ascorbic Acid in Plants. *Annals of Botan*, 78, 661-669. <https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0175>
- Stasolla, C. & E. C. Yeung (2007)** Cellular ascorbic acid regulates the activity of major peroxidases in the apical poles of germinating white spruce (*Picea glauca*) somatic embryos. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45, 188-198. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.02.007>.
- Tamayo-Cortez, J., Herrera-Méndez, C. H., Sauri-Duch, E., Vargas-Vargas M. L., & Solís-Pereira, S. (2013)** Purification and Partial Characterization of Polyphenol Oxidase from Sapodilla Plum (*Achras sapota*). *Food and Nutrition Sciences*, 4, 727-734.

- Thaipong, K., & Boonprakob, U. (2006)** Repeatability, Optimal Sample Size of Measurement and Phenotypic Correlations of Quantitative Traits in Guava. *Kasetsart Journal Natural Science*, 104, 37–47.
- Tzec, Y. J. A., Villaseñor, P. C. A., Romantchik, K. E., Soto, E. M., y Peña, P. M.A. (2010)** Una revisión sobre la importancia del fruto de Guayaba (*Psidium guajava* L.) y sus principales características en la postcosecha. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 19(4), 74-82.
- Ulusu, N. N. (2015)** Evolution of Enzyme Kinetic Mechanisms. *Journal of Molecular Evolution*, 80, 251–257 <https://doi.org/10.1007/s00239-015-9681-0>.
- UPOV, (1987)** Guidelines for the conduct of tests for distinctness, homogeneity and stability. TG/110/3. Geneve.
- Veal, E. A., Day, M. A. & Morgan, A. B. (2007)** Hydrogen Peroxide Sensing and Signaling. *Molecular Cell*, 26(1), 1–14. <https://doi.10.1016/j.molcel.2007.03.016>
- Voet, D., y Voet, J. (2006)** *Bioquímica*. Editorial Panamericana, Tercera edición. Buenos Aires, Argentina. 1581p.
- Young, I., & Woodside, J. (2001)** Antioxidants in health and diseases. *Journal of Clinical Pathology*, 54(3), 176–186. <http://doi.org/10.1136/jcp.54.3.176>
- Zamora, J. (2007)** Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Revista Chilena de Nutrición*, 34(1), 17-26. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>

CAPITULO II. CARACTERIZACIÓN DE GENOTIPOS DE GUAYABA (*Psidium guajava* L.) MEDIANTE VARIABLES MORFOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS DE FRUTOS

CHAPTER II. CHARACTERIZATION OF GUAVA GENOTYPES (*Psidium guajava* L.) BY MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL VARIABLES OF FRUITS

2.1. RESUMEN

La guayaba ostenta propiedades nutricionales y antioxidantes importantes, ejemplo de ello son sus elevados contenidos de vitamina C. A pesar de esto se desconoce la variabilidad genética vegetal existente en las regiones productoras. En esta investigación se caracterizaron frutos de seis accesiones silvestres de guayaba: Silvania, Tibacuy, Pandi, Venecia, Udec y Guavio, ubicadas en la provincia de Sumapaz, Estado de Cundinamarca, Colombia. Se evaluaron características cuantitativas y cualitativas, descartando las últimas por su bajo aporte al agrupamiento de los genotipos. Los caracteres promedio como peso del fruto ($78.16 \text{ g} \pm 39.43$), índice de redondez ($92 \% \pm 9.85$), grados brix SST (8.62 ± 1.78) y contenido de vitamina C ($170.82 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1} \pm 59.08$) indican cualidades de interés para mejoramiento genético. Dentro de las accesiones se encontró a 'Guavio' como sobresaliente por sus características morfológicas, con peso promedio de fruto de 120.17 ± 34.25 , diámetro longitudinal y transversal de 7.48 y 5.92 cm, respectivamente, pero no se destacó en variables como SST ($6.46 \% \pm 0.94$) y vitamina C ($158.85 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1} \pm 48.64$); en estos caracteres las demás accesiones mostraron rangos entre 8.55 a 9.43 % de SST y ácido ascórbico 124.63 a 201.61 $\text{mg } 100^{-1}$, la accesión 'Udec' mostró los contenidos más altos de vitamina C. En el análisis de agrupamiento se encontró que la accesión 'Guavio' conformó un solo grupo y las demás accesiones otro. A pesar de no ser 'Guavio' una accesión sobresaliente en caracteres bioquímicos, pero si en las características morfológicas, la separación que mostró con respecto al resto de las accesiones durante el agrupamiento, muestra la influencia de las características del fruto en la discriminación de los grupos. Los resultados obtenidos indican la existencia de materiales vegetales de importancia para el mejoramiento genético de la guayaba en la provincia de Sumapaz.

Palabras clave: *Psidium guajava*, morfología, vitamina C, grados brix, mejoramiento genético.

2.2. ABSTRACT

Guava has important nutritional and antioxidant properties, for example, its high levels of vitamin C. In spite of this, the genetic variability existing in the production regions is unknown. In this research fruits of six wild guava accessions were characterized: Sylvania, Tibacuy, Pandi, Venecia, Udec and Guavio, located in the province of Sumapaz, State of Cundinamarca, Colombia. Quantitative and qualitative characteristics were evaluated, discarding the latter due to their low contribution to the grouping of the genotypes. The average characters such as weight of the fruit ($78.16 \text{ g} \pm 39.43$), roundness index ($92 \% \pm 9.85$), brix degrees SST (8.62 ± 1.78) and vitamin C content ($170.82 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1} \pm 59.08$) indicate qualities of interest for genetic improvement. Among the accessions, 'Guavio' was found to be outstanding due to its morphological characteristics, with an average fruit weight of 120.17 ± 34.25 , longitudinal and transverse diameter of 7.48 and 5.92 cm, respectively, but it did not stand out in variables such as SST ($6.46 \% \pm 0.94$) and vitamin C ($158.85 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1} \pm 48.64$); in these characters the other accessions showed ranges between 8.55 to 9.43% of SST and ascorbic acid 124.63 to 201.61 $\text{mg } 100^{-1}$, the accession 'Udec' showed the highest contents of vitamin C. In the cluster analysis it was found that the accession 'Guavio' formed one group and the other accessions another. In spite of not being 'Guavio' an outstanding accession in biochemical characters, but in the morphological characteristics, the separation that it showed with respect to the rest of the accessions during the grouping, shows the influence of the characteristics of the fruit in the discrimination of the groups. The obtained results indicate the existence of vegetal materials of importance for the genetic improvement of the guava in the province of Sumapaz.

Index words: *Psidium guajava*, brix degrees, genetic improvement, morphology, vitamin C.

2.3 INTRODUCCIÓN

La familia Myrtaceae integra especies importantes con frutas comestibles (Jaiswal y Jaiswal, 2005) entre ellas la guayaba (*Psidium guajava* L.), originaria de América pero introducida a otras regiones tropicales y subtropicales del mundo donde se cultiva, además ostenta varias características nutricionales como su alto contenido de ácido ascórbico (AA), precursor de vitamina C, vitamina A, tiamina, riboflavina y minerales como el calcio, hierro y fósforo, también se le han atribuido propiedades medicinales siendo utilizada en medicina tradicional en diferentes países del mundo (Rodríguez *et al.*, 2010b).

En Colombia el cultivo de guayaba se encuentra establecido de forma comercial y silvestre. En forma silvestre se utilizan variedades no mejoradas y de bajo rendimiento y sembradas en traspatio, aunque son productivas muestran una gran variabilidad genética que debería estudiarse y luego explotarse en programas de mejoramiento genético de la especie (Rueda *et al.*, 2006).

La provincia de Sumapaz está ubicada en la ecorregión central andina colombiana, con climas de frío a cálido, temperaturas entre 2 y 24 °C; alturas desde 480 hasta 3 500 msnm, y precipitaciones entre 1,000 a más de 2,000 mm anuales (Jaller, 2010). Presenta suelos francos y arcillosos, de moderada profundidad y con buen contenido de materia orgánica, aptos para la agricultura. Las actividades económicas de la población son el turismo y la agricultura, en esta última área sobresalen algunos cultivos frutícolas como: tomate de árbol, mora, uchuva, gulupa y granadilla; en horticultura: papa, habichuela, arveja, cebolla, fríjol arbustivo y tomate (Barrientos *et al.*, 2010).

Entre los municipios que conforman la provincia es común encontrar algunos ecotipos de guayaba que presentan diferentes características morfológicas y de calidad del fruto que no han sido aprovechadas y de las cuales se carece de información. Por estas razones el objetivo de la presente investigación fue evaluar accesiones silvestres de guayaba localizados en la provincia de Sumapaz, utilizando descriptores morfológicos y

bioquímicos del fruto en los municipios de la provincia de Sumapaz con el fin de conocer su variabilidad genética y con base en los datos obtenidos plantear un programa de mejoramiento genético para la especie en la región.

2.4. MATERIALES Y MÉTODOS

Los genotipos de guayaba caracterizados en la presente investigación se colectaron en la provincia de Sumapaz, ecorregión central andina de Colombia, conformada por diez municipios. Para la selección de sitios de muestreo se descartaron aquellos lugares con elevaciones superiores a 2,000 msnm o por su cercanía al páramo del Sumapaz. Los sitios donde se llevó a cabo la colecta de los materiales fueron: Silvania, Tibacuy, Pandi, Venecia y Fusagasugá, este último con dos sitios de muestreo: Universidad de Cundinamarca (Udec) y Guavio (Figura 6). Las alturas de estas localidades oscilaron entre los 1024 a 1765 metros sobre el nivel del mar (Cuadro 1). El número de árboles por accesión fue de diez, se cosecharon 20 frutos maduros de cada uno. Se llevaron al Laboratorio de Química de la Universidad de Cundinamarca, se lavaron con hipoclorito de sodio al 5 % y se mantuvieron a 4 °C por un tiempo no mayor de 3 días durante su análisis.

Cuadro 1. Características de los sitios de la provincia de Sumapaz donde se colectaron las accesiones de los árboles de guayaba.

Accesión	N	W	Altura (msnm)	Temperatura (°C)
Silvania	4°24'712'	74°23'730'	1,470	23
Tibacuy	4°20'0702'	74°27'59'	1,620	19
Pandi	4°11'570'	74°26'250'	1,024	24
Venecia	4°05'19'	74°28'39'	1,644	15
Guavio	4°17'115'	74°23'696'	1,700	22
Udec	4°20'14'	74°21'52'	1,765	19



Figura 6. Selección de accesiones. (A) Sylvania, (B) Pandi, (C) Guavio, (D) Udec, (E) Venecia, y (F) Tibacuy.

2.4.1 Caracterización morfológica

Los descriptores morfológicos evaluados se basaron en los propuestos por la UPOV, (UPOV, 1987), modificados por Rodríguez-Medina et al. (2010a). Se midieron variables cuantitativas y cualitativas del fruto. Las cuantitativas fueron: peso del fruto (PF), peso de corteza (PC), peso de la cavidad seminal (PCS), diámetro longitudinal (DL), diámetro transversal (DT), grosor de la corteza (GC), peso de corteza (PC) y relación peso del fruto con peso de la cavidad seminal. Adicionalmente se determinó la esfericidad (EF) y porcentaje de corteza en el peso total del fruto (CF).

Los caracteres cualitativos fueron: color externo y de pulpa, relieve de la superficie, forma del fruto y pedúnculo y diámetro del cáliz en relación con la fruta. Las determinaciones de color y forma se fundamentaron en las ilustraciones de UPOV (1987) y Rodríguez-Medina *et al.* (2010a).

2.4.2. Evaluación bioquímica

Se determinó midiendo los grados brix o el contenido total de sólidos solubles (SST) en tejidos de pulpa y piel del fruto, mismos que se maceraron en un mortero hasta obtener una mezcla homogénea y suave, posteriormente se colocó en un refractómetro digital ATAGO™ 3810. La acidez activa o pH se determinó con el potenciómetro HandyLab 100, y para medir la acidez valorable total (ATT), se disolvió 1 g de pulpa en 10 ml de agua destilada usando como titulante NaOH 0.5 N y la fenolftaleína como el indicador (Jiménez *et al.*, 2009). Para conocer la medida del sabor de los frutos se midió la relación SST/ATT (Gómez y Camelo, 2002).

El protocolo para determinar contenido de vitamina C se basó en el propuesto por Jagota y Dani (1982) usando el reactivo Folin-Ciocalteu, la técnica tiene como ventajas ser simple, rápida y eficiente, además reacciona específicamente con ácido ascórbico en un amplio rango de pH, por lo que no requiere un amortiguador para mantener un pH específico. Solo los agentes reductores fuertes como el ácido ascórbico pueden reducir este reactivo, produciendo mínimas interferencias con otros agentes reductores (Jagota y Dani, 1982). Una muestra de fruta (3 g) fue disuelta con 5 mL de ácido oxálico 0.15 % durante 3 min. De inmediato se centrifugó (120 min, 8,500 rpm, 4 °C). Una alícuota de

800 μL del sobrenadante, se mezcló con 1.8 mL de agua bidestilada y 400 μL del reactivo de Folin Ciocalteu. Posteriormente se agitó por 20 seg y se dejó reposar por 10 minutos. El blanco utilizado durante la medición fue ácido oxálico 0.15 %. La lectura de absorbancia se evaluó en un espectrofotómetro Genesys 10S UV-Vis ThermoFisher a 760 nm. Las mediciones se llevaron a cabo por triplicado.

Para determinar del contenido de vitamina C, se construyó una curva de calibración a partir de una disolución stock con el estándar de AA a 500 ppm en diferentes concentraciones desde 0.025 a 0.15 mg mL^{-1} , más el reactivo Folin Ciocalteu 0.5 mL, se llevó a un volumen final de 4 mL con agua bidestilada; el procedimiento se replicó seis veces. Los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y de correlación, los criterios de selección fueron valores altamente significativos para el beta y alfa del modelo lineal y un r^2 mayor a 0.9. Se seleccionaron dos modelos lineales, se corrieron los valores de las absorbancias obtenidos en cada ecuación y el promedio de los dos modelos es el valor reportado de vitamina C en esta investigación.

2.4.3 Análisis de datos

Los datos obtenidos se sometieron a una ANOVA y prueba de comparación de medias Tukey ($P \leq 0.05$), más un análisis estadístico básico incluyendo correlaciones, se utilizó el paquete estadístico Statgraphics centurion XVII. Se elaboró una Matriz Básica de Datos (MBD) y se calculó una matriz de distancias usando el coeficiente DIST con el software estadístico NTSYSpc versión 2.2 (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System), luego se hizo un análisis de conglomerados por el método de medias aritméticas UPGMA, (Unweighted Pair Group Method Arithmetic Average) y se obtuvo el dendrograma correspondiente. Además, se hizo el análisis de componentes principales, mediante el cual fue posible detectar las características más discriminantes entre cada grupo (Hampl, Pavlicek y Flegr, 2001).

2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con la información obtenida se encontró que las características cualitativas no aportaban en la discriminación de los grupos por ser homogéneas, por lo que no se tuvieron en cuenta en el análisis de datos.

2.5.1 Morfología de fruto

El análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$) mostraron la existencia de diferencias significativas entre las accesiones para todas las características evaluadas (Cuadro 2). El peso de fruto (PF) varió de 45.73 g para Venecia hasta 120.17 g de 'Guavio'. Comportamiento semejante lo mostraron las variables peso de la corteza (PC), peso de cavidad seminal (PCS) y diámetros del fruto (DL y DT), donde estas mismas accesiones mostraron los extremos en estas características; dicha variación se evidencia también en los valores de la desviación estándar (Cuadro 2). El porcentaje de esfericidad (EF) estuvo por encima del 90 %, indicando predominancia de la forma del fruto tipo esférica en cinco de las accesiones, con excepción de 'Guavio' que mostró una forma más alargada y diferente. Las características grosor de corteza (GC) y porcentaje de corteza en el fruto (CT) también mostraron diferencias significativas, donde otra vez 'Guavio' fue diferente. Los altos valores de variabilidad coinciden con los reportados en el Valle del Cauca por Jiménez, Almanza, y Muñoz (2009), donde se encontró los mayores porcentajes de variación para las características peso del fruto y corteza.

Cuadro 2. Resultados de la prueba de comparación de medias Tukey ($P \leq 0.05$) para características morfológicas de frutos de accesiones de guayaba.

Accesión		Silvania	Cumaca	Pandi	Venecia	Guavio	Udec
PF		68.95 _b ±18.95	70.17 _b ±30.32	84.20 _c ±41.53	46.73 _a ±15.81	120.17 _d ±34.25	66.45 _b ±34.44
PC	g	42.07 _b ±13.87	43.19 _{bc} ±20.18	52.02 _c ±31.96	27.96 _a ±13.21	82.63 _d ±23.06	42.39 _b ±24.07
PCS		27.47 _{bc} ±6.65	26.27 _b ±9.83	31.28 _c ±11.11	18.78 _a ±5.50	38.12 _d ±15.77	27.92 _{bc} ±10.90
DL		5.04 _b ±0.52	5.20 _b ±0.92	5.65 _c ±1.07	4.47 _a ±0.59	7.48 _d ±0.99	5.02 _b ±0.99
DT	cm	4.87 _b ±0.50	4.84 _b ±0.80	5.11 _b ±0.72	4.32 _a ±0.52	5.92 _c ±0.62	4.83 _b ±0.94
GC		0.62 _a ±0.13	0.60 _a ±0.16	0.64 _a ±0.18	0.57 _a ±0.17	0.86 _b ±0.13	0.56 _a ±0.23
CT	%	61.38 _b ±11.86	61.88 _b ±9.60	60.35 _{ab} ±14.40	53.16 _a ±16.90	73.69 _c ±15.24	55.31 _{ab} ±17.84
EF		96.94 _c ±7.94	92.91 _b ±7.63	91.42 _b ±7.60	96.98 _c ±5.62	79.85 _a ±9.18	96.90 _c ±8.56

PF: peso de fruto; PC: peso de la corteza; PCS: peso de la cavidad seminal; DL: diámetro longitudinal; DT: diámetro transversal; GC: grosor de corteza; % CT: corteza en fruto; % EF: esfericidad. Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes; Tukey, 0.05.

2.5.2. Características bioquímicas

El análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$) (Cuadro 3) indicaron que sólo la accesión 'Guavio' es significativamente diferente del resto de las accesiones para la característica pH con un valor en los frutos igual a 4.68, siendo el más alto. Valores bajos de pH están relacionados con una mayor vida de anaquel debido a que el pH actúa a nivel fisiológico en el fruto generando una barrera natural antimicrobiana (Domene y Segura, 2014). El rango de valores de pH (4.20-4.68) de las accesiones evaluadas en este trabajo coincide con los reportados para otras variedades de guayaba (Laguado, Pérez, Alvarado, y Marín 1999; Andrade *et al.*, 2009; Suárez, Pérez, y Giménez 2009), mismos que oscilaron entre pH 3.7 a 4.7.

En lo referente al contenido total de ácidos (ATT), los valores menores correspondieron a frutos de 'Cumaca' y 'Udec', (0.21 y 0.22, respectivamente), mientras que el valor superior fue para los frutos de 'Guavio' (0.33) (Cuadro 3), semejantes a valores reportados para frutos de accesiones de la costa colombiana (Castellano, Quijada, Ramírez, y Sayago, 2005), pero distantes de los valores de 0.5 reportados para frutos de la zona de Aguascalientes México (Vázquez y Colinas, 1990) y también diferentes de las guayabas de la India, donde los valores oscilaron entre 3.12 y 6.43, para zonas de cultivo ubicadas a 300 msnm (Dolkar *et al.*, 2017). La baja acidez en frutos es una ventaja en los mercados internacionales, ya que los ácidos orgánicos logran disminuir el contenido de compuestos volátiles responsables del aroma característico de la guayaba y en esos mercados puede ser un indicador de rechazo o aceptación de esta fruta (Mondragón, Toriza, y Guzmán, 2009).

El al contenido de sólidos solubles totales (SST) se observó que los frutos del genotipo 'Guavio' presentaron diferencias significativas con respecto al resto, al ostentar el valor más bajo para este parámetro (Cuadro 3). A nivel local, en la zona occidental del país (Valle del Cauca, Quindío y Risaralda), lugares con alturas desde los 1070 hasta los 1500 msnm, se han detectado valores de grados brix que andan entre los 2.4 y 12.3 (Jiménez *et al.*, 2009), lo que sugiere que tal característica podría oscilar determinada por las condiciones climáticas o de otro tipo. En Venezuela, las variedades comerciales

'Criolla Roja' y 'San Miguel' mostraron valores de grados brix de 8.5 y 6.8, respectivamente (Laguado *et al.*, 1999.). En México los SST para frutos de Zacatecas estuvieron entre 12.82 y 11.7 (Padilla *et al.*, 2014) y en Aguascalientes de 11.9 a 13.2 (Vázquez y Colinas, 1990). En el estado de Pernambuco-Brasil, región semiárida, se reportaron valores desde 9.7 a 13.1 (Silva, Fernandes, Alves, Lederman y Melo, 2008). Lo anteriormente expuesto para los datos de pH, SST y ATT, sugiere que estas características de post-cosecha en los frutos de guayaba pueden variar dependiendo de las condiciones de cultivo, edad de la planta, época del año y la fisiología del cultivo (Parra, 2014).

Los valores de vitamina C (ácido ascórbico) en las accesiones oscilaron entre 124.63 a 201.61 mg 100^{-1} g fruta fresca (Cuadro 3), correspondiendo estos valores a 'Udec' y 'Pandi', respectivamente; donde las dos mostraron diferencias significativas respecto a las demás accesiones. La mayor zona productora de guayaba en Colombia se encuentra en el estado de Santander, allí se analizó la variedad regional roja, contiene 277.4 mg de ácido ascórbico 100 g^{-1} de fruta (Olaya y Restrepo, 2012). Para guayabas brasileñas que se siembran también en Santander se reportan valores de 102 mg de ácido ascórbico 100 g de fruta y para guayabas del estado de Antioquia 257 mg 100^{-1} g (Contreras, Calderon, Guerra y García, 2011). Referencias similares se obtuvieron en India con valores de 104 mg a 265.09 mg 100 g^{-1} de fruta de AA (Dolkar *et al.*, 2017). Comparando con variedades de guayabas mexicanas, se encontró que las de Guanajuato presentan valores de 83.29 a 185.75 mg de AA por 100 g^{-1} de fruta (Mondragón *et al.*, 2009) y las de Aguascalientes 163 mg de AA por 100 g^{-1} de fruta (Vázquez y Colinas, 1990). En Sri Lanka reportaron 70.4 mg de AA por 100 g^{-1} de fruta (Silva y Sirasa, 2018). Indicando que se pueden obtener valores desde 70 hasta 277 mg de ácido ascórbico por 100^{-1} g de fruta en frutos de guayaba y que los materiales silvestres de la provincia de Sumapaz presentan concentraciones dentro de los rangos reportados, por tanto son promisorios desde el punto de vista nutricional.

Cuadro 3. Comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$) para características bioquímicas de frutos de accesiones de guayaba

	Accesión					
	Silvania	Cumaca	Pandi	Venecia	Guavio	Udec
pH	4.21 _a ±0.14	4.22 _a ±0.11	4.37 _a ±0.10	4.28 _a ±0.12	4.68 _b ±0.53	4.20 _a ±0.25
ATT	0.29 _{ab} ±0.06	0.21 _a ±0.04	0.26 _{ab} ±0.08	0.28 _{ab} ±0.09	0.33 _b ±0.08	0.22 _a ±0.09
SST (Brix)	9.43 _b ±1.72	9.17 _b ±1.58	9.41 _b ±1.32	9.39 _b ±1.64	6.46 _a ±0.94	8.55 _b ±1.79
SST/ATT	34.26 _{ab} ±9.45	46.61 _b ±12.94	40.42 _b ±15.11	39.11 _b ±18.86	20.98 _a ±5.77	39.42 _b ±15.51
Vitamina C	179.12 _{bc} ±47.20	153.25 _{ab} ±44.53	124.63 _a ±58.61	186.23 _{bc} ±78.03	158.85 _{abc} ±48.64	201.61 _c ±39.84

pH: potencial de iones H; ATT: contenido total de ácidos; SST: contenido total de azúcares solubles o grados brix. Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05).

Para determinar la variabilidad general mostrada por los caracteres morfológicos y bioquímicos de las accesiones se hizo un análisis de todas las variables sin tener en cuenta la accesión a la que pertenecían (Cuadro 4). Los mayores valores de desviación estándar y coeficiente de variación lo mostraron las características morfológicas peso de fruto (PF) (CV= 50.44 %). peso de corteza (PC) (CV= 64.58 %) y peso de cavidad seminal (PCS) (CV= 50.12 %). Las características bioquímicas más variables fueron ATT (CV= 35.09 %) y vitamina C (CV= 34.59 %). Estos valores coinciden con los encontrados en el Valle del Cauca, Colombia, donde el peso de la corteza del fruto, acidez y la relación grados brix/ acidez, presentaron los mayores porcentajes de variación, indicando extensa diversidad genética en esa región del país (Jiménez *et al.*, 2009). Se aprecia que la forma del fruto que predomina en la zona es redonda, con un contenido de SST que oscila entre 5.1 a 12.8 y contenido de vitamina C desde 61.34 a 578.34 mg 100⁻¹ g de fruta (Cuadro 4), estas cualidades comerciales y nutricionales deben ser tenidas en cuenta para futuros programas de mejoramiento genético en la zona.

Cuadro 4. Valores promedio, desviaciones estándar, coeficiente de variación y mínimos y máximos de las variables evaluadas en genotipos de guayaba de la provincia de Sumapaz.

Característica	Media	D.E.	C.V.	Min	Max
Peso de fruto (g)	78.16	39.43	50.44	16.76	226.41
Peso de Corteza (g)	48.32	31.21	64.58	2.97	157.84
Peso de cavidad seminal (g)	27.22	13.64	50.12	5.28	107.11
Diámetro longitudinal (cm)	5.54	1.44	26.03	2.9	10
Diámetro transversal (cm)	4.99	0.93	18.59	2.9	7.6
Grosor de Corteza (cm)	0.65	0.22	34.22	0.3	1.3
Corteza en fruto (%)	59.74	17.64	29.53	6.62	141.82
Esfericidad del fruto (%)	92.08	10.46	11.36	61.05	118.75
pH	4.31	0.32	7.32	3.7	6.4
Acidez del fruto (%)	0.32	0.11	35.09	0.1	0.6
Sólidos solubles totales (%)	8.62	1.78	20.66	5.1	12.8
Relación brix/acidez (%)	2.02	0.47	23.08	1.22	3.08
Vitamina C (mg 100g ⁻¹)	170.82	59.08	34.59	61.34	578.34

D.E.: desviación estándar. C.V.: coeficiente de variación. Min: mínimo. Máximo: máximo.

2.5.3. Correlaciones entre características

Mediante un análisis de correlación Pearson entre variables, encontrándose que las características morfológicas de fruto tienen una fuerte relación (Cuadro 5), más no las bioquímicas que no mostraron significancia. La mayor correlación ($r = 1.0$) se presentó entre las variables peso de la corteza (PC) y los diámetros longitudinal (DL) y transversal (DT) del fruto, mientras que el valor más bajo (0.76) se dio entre el pH y el peso de cavidad seminal (PCS). El peso de fruto (PF) mostró correlación positiva con todas las variables referentes a mediciones del fruto como pesos, diámetros y relaciones de estas variables, en tanto la variable esfericidad del fruto (EF) tuvo correlaciones altas pero negativas con el resto de las variables (Cuadro 5). En accesiones de Tailandia se encontró que las variables morfológicas peso de la fruta, espesor y peso de la pulpa, peso de la cavidad seminal y químicas como la acidez titulable, pH y ácido ascórbico, presentaron correlaciones altas (Thaipong y Boonprakob, 2006).

Las correlaciones indican que las características morfológicas de fruto tienen una fuerte relación, pero no quiere decir que las propiedades químicas se incrementen, como los contenidos de vitamina C y SST, por eso se encontró una relación significativa pero negativa para pH y el resto de las variables evaluadas. El análisis de características morfológicas y químicas de fruto, muestra la importancia de evaluar estas características durante la selección de individuos en los programas de mejoramiento genético. La combinación de la medición de las propiedades químicas y el tamaño de la fruta puede usarse para detectar materiales de interés (Thaipong y Boonprakob, 2006).

Cuadro 5. Valores de correlación entre las características del fruto de las accesiones de guayaba.

Variable	PF	PC	PCS	DL	DT	GC	CT	EF
PF	1.00							
PC	0.98	1.00						
PCS	0.98	0.95	1.00					
DL	0.96	1.00	0.92	1.00				
DT	0.99	1.00	0.97	0.98	1.00			
GC	0.89	0.96	0.84	0.97	0.93	1.00		
CT	0.88	0.95	0.86	0.94	0.94	0.95	1.00	
EF	-0.90	-0.95	-0.83	-0.98	-0.92	-0.96	-0.92	1.00
pH	0.83	0.90	0.76	0.93	0.86	0.96	0.83	-0.96

Valores significativos: $P \leq 0.05$. PF: peso de fruto. PC: peso de la corteza. PCS: peso de cavidad seminal. DL: diámetro longitudinal. DT: diámetro transversal. % EF: esfericidad. GC: grosor de corteza. % CT: corteza en fruto.

2.5.4. Análisis de agrupamientos

Este se llevó a cabo usando los valores de todos los descriptores tanto morfológicos y bioquímicos. En la Figura 7 se muestra un dendrograma de relaciones entre las accesiones evaluadas. Se observa la formación de dos grandes grupos, uno integrado por el genotipo 'Guavio' y el otro se conformó con el resto de los genotipos. En este segundo grupo es posible diferenciar tres subgrupos: uno con las accesiones más relacionadas que fueron 'Tibacuy' y 'Pandi', otro con 'Sylvania' y 'Venecia', y el tercer subgrupo formado por 'Udec'. La accesión genéticamente más alejada fue 'Guavio'; ello indica que este material vegetal no comparte el mismo origen genético que los demás, ratificando su potencial genético.

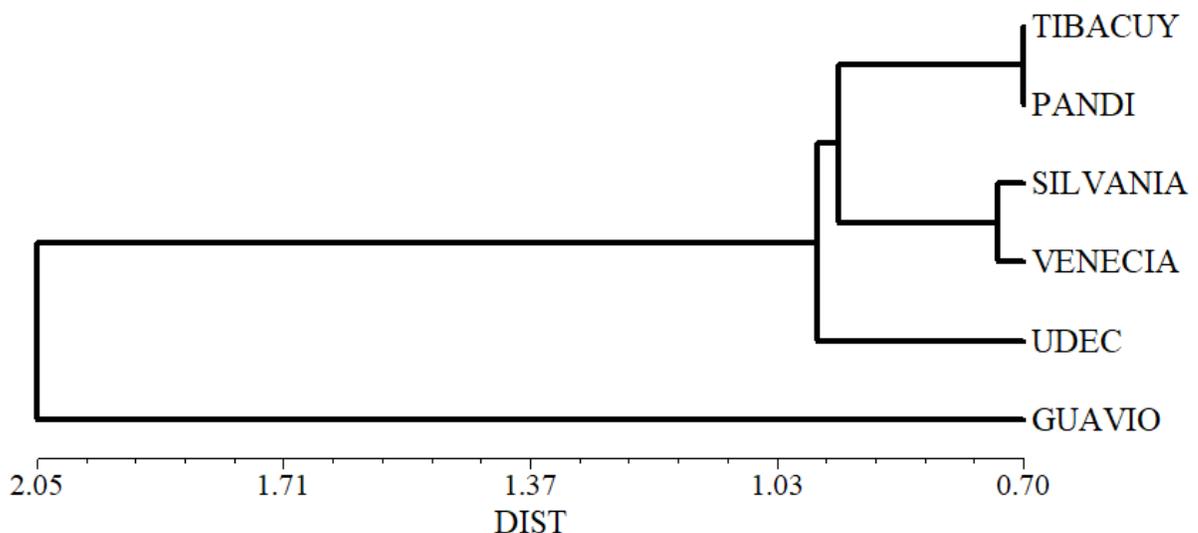


Figura 7. Dendrograma de relaciones entre las accesiones de guayabas evaluadas, procedentes de la provincia de Sumapaz, República de Colombia.

2.5.5. Análisis de componentes principales

En el Cuadro 6 se muestra que cinco componentes principales que permiten explicar el 100 % de la variación presente en los genotipos de guayaba evaluados. El componente principal 1 (CP 1) explica hasta el 74.75 % de la variación y el CP 2 el 12.44 %; juntos los dos primeros CP explican hasta un 87.19 %, respecto al total.

Cuadro 6. Eigenvalores, porcentaje de variación individual explicada por cada componente y el porcentaje de varianza acumulada para cinco componentes principales (CP).

CP	Eigenvalores	Porcentaje de varianza individual	Porcentaje de varianza acumulada
1	9.72	74.75	74.75
2	1.62	12.44	87.19
3	1.22	9.39	96.58
4	0.25	1.92	98.50
5	0.19	1.50	100.00

En el Cuadro 7 se observa que la mayoría de las variables evaluadas contribuyeron a la separación de los grupos de accesiones para el CP 1, a excepción de los grados brix (SST) y la cantidad de vitamina C. Para el CP 2 contribuyó SST o grados brix y al CP 3 la variable vitamina C.

Cuadro 7. Contribución de las variables morfológicas y bioquímicas de frutos de guayaba a los cuatro primeros componentes principales (CP).

	CP1	CP2	CP 3	CP 4
PF	0.945	0.304	0.036	0.081
PC	0.986	0.161	0.021	0.02
PCS	0.913	0.308	-0.04	0.244
DL	0.991	0.111	0.015	-0.065
DT	0.974	0.203	0.017	0.1
GC	0.988	-0.108	0.042	-0.069
CT	0.945	0.03	-0.079	0.079
EF	-0.963	-0.055	0.078	0.245
pH	0.94	-0.146	0.012	-0.281
AT	0.696	-0.66	0.219	0.082
SST	-0.202	0.874	0.422	-0.088
STT/AT	-0.834	0.328	-0.435	-0.072
Vitamina C	-0.431	-0.085	0.887	-0.015

C.P.: componentes principales. PF: peso de fruto. PC: peso de la corteza. PCS: peso de cavidad seminal. DL: diámetro longitudinal. DT: diámetro transversal. % EF: esfericidad. GC: grosor de corteza. % CT: corteza en fruto, pH: potencial de iones H; ATT: contenido total de ácidos; SST: contenido total de azúcares solubles o grados brix.

El ordenamiento de las variedades se hizo según los dos primeros componentes principales (Figura 8), igual que para el dendograma (Figura 7) observándose la formación de dos grandes grupos, donde el genotipo menos relacionado fue 'Guavio' conformando un grupo y el resto de las accesiones integraron al segundo grupo. En este último se observa que las accesiones más relacionadas son 'Tibacuy' y 'UDEC'.

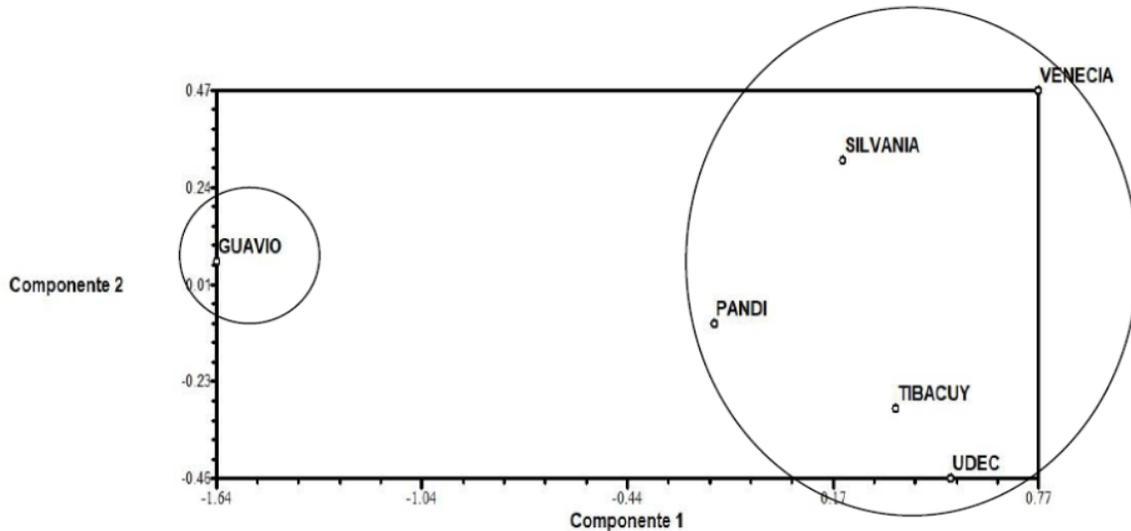


Figura 8. Diagrama en 2D mostrando las relaciones entre las accesiones de guayaba evaluada. procedente de la provincia de Sumapaz. República de Colombia.

2.6. CONCLUSIONES

Los árboles de guayaba evaluados en la provincia de Sumapaz presentan características de interés comercial y nutricional que podrían servir como base para generar un programa de mejoramiento en la zona. La accesión genéticamente diferente y sobresaliente en valores de características morfológicas del fruto fue 'Guavio', más no en los caracteres bioquímicos, como SST y vitamina C. El peso del fruto fue el carácter que presentó mayor variabilidad, por lo que es la medida más importante y explica el comportamiento del resto de variables en lo referente a la morfología del fruto.

2.7. LITERATURA CITADA

- Andrade, P. R. D., Ortega A. F., Montes. J. E., Torres. R., Pérez. A. O., Castro. M., y Gutiérrez. A. L. (2009)** Caracterización fisicoquímica y reológica de la pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) variedades híbrido de klomSali. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. 16(1). 3-18.
- Barrientos, F. J. C., y Cardona. O. J. (2010)** Los pequeños productores están limitados para adoptar nuevos cultivos. El caso de las hierbas aromáticas en la región de Sumapaz. Cundinamarca. *Agronomía Colombiana*. 28(1). 99-106.
- Castellano, G., Quijada. O., Ramírez. R. y Sayago. E. (2005)** Comportamiento pos cosecha de frutas de guayaba (*Psidium guajava* L.) tratados con cloruro de calcio y agua caliente a dos temperaturas de almacenamiento. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 6(2). 78-82.
- Contreras-Calderon, J., Calderon-Jaimes. L., Guerra-Hernández. E., & García-Villanova. B. (2011)** Antioxidant capacity phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Research International*. 44(7). 2047–2053.
- Dolkar, D., Bakshi. P., Gupta. M., Wali. K. V., Kumar. R., Hazarika. K. T., & Kher. D. (2017)** Biochemical changes in guava (*Psidium guajava*) fruits during different stages of ripening. *Indian Journal of Agricultural Sciences*. 87(2). 257–60.
- Domene-Ruiz, M. A., y Segura-Rodríguez. M. (2014)** *Parámetros de calidad interna de hortalizas y frutas en la industria agroalimentaria*. Fichas de transferencia número 5. Grupo Cooperativo Cajamar. 18p.
- Gómes, P. A., Camelo. A. F. L. (2002)** Calidad postcosecha de tomates almacenados en atmósferas controladas. *Horticultura Brasileira*. 20(1). 38-43.
- Hampl, V., Pavlicek. A., & Flegr. J. (2001)**. Construction and bootstrap analysis of DNA fingerprinting-based phylogenetic trees with the freeware program FreeTree: application to Trichomonad parasites. *International Journal Plant Systematics and Evolution Microbiology*. 51. 731-735.

- Jaiswal, U., & Jaiswal. V.S. (2005)** *Psidium guajava*. In: Biotechnology of Fruit and Nut Crops. Litz. R.E. (Ed.) *Biotechnology of Fruit and Nut Crops*. Capítulo 20. CABI Publishing. 394p. <https://doi.org/10.1079/9780851996622.0000>
- Jaller, R. S. (2010)** *Análisis de los sistemas de producción agrícola de las Provincias de Soacha y Sumapaz (Cundinamarca)*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. FAO. Bogotá. 210p.
- Jiménez-Lozano, L., Almanza-Pinzón. M. I. y Muñoz-Flórez. J. E. (2009)** Caracterización morfológica de accesiones silvestres de guayaba. *Acta Agronómica*. 58(2). 69-73.
- Laguado, N., Pérez. E., Alvarado. C., y Marín. M. (1999)** Características fisicoquímicas y fisiológicas de frutos de guayaba de los tipos Criolla Roja y San Miguel procedentes de dos plantaciones comerciales. *Revista Facultad de Agronomía LUZ*. 16(4). 382-397.
- Mondragón, J. C., Toriza. L. M., y Guzmán. M. S. J. (2009)** Caracterización de selecciones de guayaba para el bajío de Guanajuato. México. *Agricultura Técnica en México*. 35(3). 315-322.
- Olaya, Z. J. A., y Restrepo. S. L. P. (2012)** Estudio del contenido de fenoles y actividad antioxidante de guayaba en diferentes estados de madurez. *Acta biológica Colombiana*. 17(3). 611–624.
- Padilla-Ramírez, J., González-Gaona. E., Rodríguez-Moreno. E., Reyes-Muro. L., Osuna-Ceja. E., y Acosta-Díaz. E. (2014)** Varianza entre y dentro e índice de repetitividad de características cuantitativas de fruto de guayaba. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*. 5(8). 1423-1432.
- Parra-Coronado, A. (2014)** Maduración y comportamiento poscosecha de la guayaba (*Psidium guajava* L.). Una revisión. *Revista Colombiana de ciencias hortícolas*. 8(2). 314-327.
- Rodríguez, N. N., Valdés. J. J., Rodríguez. A., Velásquez. J. B., Rivero. D., Martínez. F., González. G., Sourd. D. G., González. L., & Cañizares. J. (2010b)** Genetic resources and breeding of guava (*Psidium guajava* L.) in Cuba. *Bioteconología Aplicada*. 27(3). 238-241.

- Rodríguez-Medina, N. N., Fermin. G. A., Valdés-Infante. J., Velásquez. B., Rivero. D., Martínez. F., Rodríguez. J., & Rohde. W. (2010a)** Illustrated Descriptors for Guava (*Psidium guajava*) *Acta Horticultura*. 849. 103-109.
- Rueda, A. J., Palacio. D., Muñoz. J. E., Saavedra. R., y Bravo. E. (2006)** Caracterización molecular del banco de germoplasma de guayaba *Psidium* spp. Del Centro de Investigación Corpoica-Palmira. *Fitotecnia Colombiana*. 6(2). 26-32.
- Silva, K. D. R. & Sirasa. M. S. F. (2018)** Antioxidant properties of selected fruit cultivars grown in Sri Lanka. *Food chemistry*. 238. 203-208.
- Silva, J. J. F., Fernandes. B. J. E., Alves. T. J., Lederman I. E. y Melo. N. M. L. (2008)** Caracterización y evaluación de germoplasma de guayaba (*Psidium guajava*L.) en la región semiárida del estado de Pernambuco. Brasil. *Revista Caatinga*. 21(3). 94-99.
- Suárez, J., Pérez, de C. M. y Giménez. A. (2009)** Efecto de la temperatura y estado de madurez sobre la calidad poscosecha de la fruta de guayaba (*Psidium guajava* L.) procedente de Mercabar Estado Lara. Venezuela. *Revista UDO Agrícola*. 9(1). 60-69.
- Thaipong, K., & Boonprakob. U. (2006)** Repeatability. Optimal Sample Size of Measurement and Phenotypic Correlations of Quantitative Traits in Guava. *Kasetsart Journal Natural Science*. 104. 37–47.
- UPOV, (1987)** Guidelines for the conduct of tests for distinctness, homogeneity and stability. TG/110/3. Geneve.
- Vázquez-Ochoa. R. I., & Colinas-Leon. M. T. (1990)** Changes in guavas of three maturity stages in response to temperature and relative humidity. *HortScience*. 25(1). 86-87.

**CAPÍTULO III. ACTIVIDADES DE LAS ENZIMAS CATALASA Y
PEROXIDASA EN FRUTOS DE GUAYABA (*Psidium guajava* L.)**

**CHAPTER III. ACTIVITIES OF THE CATALASA AND PEROXIDASE
ENZYMES IN FRUIT OF GUAYABA (*Psidium guajava* L.)**

3.1. INTRODUCCIÓN

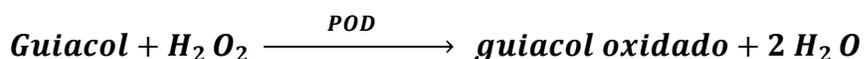
El árbol de guayaba (*Psidium guajava* L.) pertenece a la familia de las Myrtaceae, es ampliamente cultivada por su fruto y se ha naturalizado en áreas tropicales y subtropicales de todo el mundo. La mayor diversidad de especies se encuentra en el centro y sudeste de Brasil, seguido del norte de Sudamérica, las Indias Occidentales. y finalmente América del Norte. La producción mundial de la guayaba ha aumentado en más del 10 % en los últimos 5 años (Pommer y Murakami, 2009).

Su fruto es apreciado por su alto contenido de vitaminas A y B. y excepcionalmente ricos en vitamina C (ácido ascórbico), inclusive con mayor contenido que los jugos de cítricos (Pommer y Murakami, 2009). Otras características del fruto son los altos contenidos de fibra dietética, fracción no digerible, y compuestos fenólicos en la cáscara y pulpa, indicando una correlación entre el contenido de fenoles extraíbles y actividad de eliminación de radicales libres, por tanto se le atribuye una alta capacidad antioxidante (Jiménez, Rincón, Pulido, y Saura, 2001). Además de comprobar que los frutos son potentes eliminadores de radicales libres, se pueden utilizar como un fuente de antioxidantes naturales para usos alimentarios, farmacéuticos, médicos y comerciales (Flores, Wu, Negrin y Kennelly, 2015).

Los radicales libres que tienen la capacidad de producir daños oxidativos se les denomina Especies Reactivas del Oxígeno (ROS) y están presentes en organismos aeróbicos por el consumo de oxígeno, estas ROS son el resultado de la excitación de O_2 que produce un radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) o un radical hidroxilo (OH) (González, Betancourt, Ortiz, 2000; Drevet, 2006). Las fuentes para la producción de ROS en células eucariotas son internas y externas, entre las externas se menciona las condiciones ambientales conduciendo al estrés oxidativo, las ROS puede causar la oxidación sin restricciones de varios componentes celulares, lo que lleva a la destrucción o daño de la célula mediada por radicales libres (Drevet, 2006). Dentro de los daños celulares se menciona que en el ADN los ROS pueden generar mutaciones (González-Torres, 2000). En lo concerniente a la salud humana producen una serie de

trastornos como la: diabetes, inflamaciones, infecciones virales, patologías autoinmunes y trastornos del sistema digestivo, además están relacionados con el envejecimiento (Pérez, Mitchell, y Vargas, 2008; Day. 2009).

En condiciones normales, los ROS se mantienen en niveles fisiológicos por varios sistemas antioxidantes endógenos, que incluyen a la superóxido dismutatasa, la catalasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa (Dal, Chiao, Marcinek, Szeto, y Rabinovitch, 2014). La catalasa (CAT) [EC 1.11.1.6.] es una oxido-reductasa, ubicada en peroxisomas. citosol o mitocondrias (Veal, Day, y Morgan, 2007). La CAT cataliza la descomposición del H_2O_2 en agua y O_2 , puede obtenerse de diversas fuentes tales como: bacterias, plantas o tejidos animales (Cantemir, Raducana, Puiub, y Oanceaa, 2013). La peroxidasa (POD) [EC E.C.1.11.1.7], también es una oxido-reductasa, su donante: H_2O_2 . Es una enzima usada convencionalmente para monitorear y evaluar la extensión del tratamiento térmico, ya que es estable al calor y se produce en un número considerable de vegetales (Goncalves, Pinheiro, Abreu, Brandão. y Silva, 2007). El Guiacol es el sustrato utilizado para el ensayo de la peroxidasa, entonces la actividad POD se mide por la tasa de formación de guayacol oxidado (Saexa, Baunthiyal, y Ravi, 2012):



A pesar de conocerse las propiedades antioxidantes del fruto de guayaba aún se desconoce las cantidades de CAT y POD, para conocer las concentraciones de estas enzimas hacer un estudio cinético, por esta razón el objetivo del presente trabajo fue evaluar la velocidad de la reacción de los factores fisicoquímicos que modifican la actividad enzimática, concentración del sustrato y enzima, pH y temperatura óptimos para las enzimas mencionadas.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Material vegetal. Los frutos fueron colectados de árboles silvestres de guayaba en estado de maduración en el Estado de Cundinamarca. Colombia.

3.2.2. Extracción de la enzima. Se utilizó polvos de acetona para la extracción de las enzimas. Las ventajas de esta técnica son obtención de alta actividad con mayor estabilidad sin inactivación de la enzima, porque la acetona remueve fenoles, β -carotenos y ácidos orgánicos del extracto (Baquero, Castro, y Narváez, 2005). El procedimiento se basó en el realizado por Alía, Colinas, Martínez, y Soto (2002), con modificaciones. Se pesó 5 g de fruto de guayaba, corteza y pulpa. Se disolvió en un mortero con 25 mL de acetona a 4 °C por 5 minutos, luego se filtró en papel filtro cuantitativo, posteriormente, se adiciono 25 mL de acetona a 4 °C; después de desechar el filtrado se adicionó 25 mL de amortiguador fosfato pH 7.0 200 mM, en agitación. El volumen del extracto enzimático se midió en probetas (Figura 9), y fue almacenado a 4 °C.



Figura 9. Medición del volumen final de los polvos de acetona.

3.2.3. Actividad de la CAT

La actividad de la catalasa se determinó con el método de titulación con el método permanganométrico (Holguin y Zaxarovich, 2005). Se evaluaron diferentes condiciones de temperatura desde 11 a 80 °C (Figura 10), y pHs 4 a 10. Para hacer la curva cinética se usó como sustrato H_2O_2 0.05M. en concentraciones desde 0.0025 M a 0.02 M. por tanto se tomaron diferentes alícuotas desde 0.5 a 4.0 mL. La reacción bioquímica enzimática se completó con 5 mL del amortiguador correspondiente, extracto enzimático polvos de acetona 1 mL y H_2SO_4 2N, 1 mL. Se completó con agua destilada hasta un volumen de 10 mL (Cuadro 8). Después de ser agitados, estuvieron en reposo cinco minutos, se llevaron al baño maría por cinco minutos a la temperatura correspondiente. Después se colocaron los tubos en hielo para detener la acción enzimática. La reacción se tituló con permanganato de potasio 0.01 M. hasta la aparición de un color rosado o violeta pálido por treinta segundos. Las mediciones se hicieron por triplicado.



Figura 10. Tratamiento de temperatura para la cinética enzimática.

Cuadro 8. Diferentes concentraciones de sustrato usados para la cinética enzimática.

Reactivos (mL)	Tubos de ensayo							
	B	1	2	3	4	5	6	7
H_2O_2 (0.05M)	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	4.0
pH correspondiente ^z	5	5	5	5	5	5	5	4
Extracto enzimático	0	1	1	1	1	1	1	1
H_2SO_4 (2N)	1	1	1	1	1	1	1	1
H_2O Destilada	3.0	2.5	2.0	1.5	1.0	0.5	0.0	0.0
Volumen total mL	10	10	10	10	10	10	10	10

^z pH:4 a 10.

3.2.4. Actividad de la POD

El procedimiento se basó en el propuesto por Saexa *et al.* (2012). Los pH evaluados oscilaron entre 2 y 9, y las temperaturas de 4 a 60 °C. El donador de protones fue guaiacol 0.04 M en H₂O₂ 0.05 M. La reacción bioquímica enzimática estuvo compuesta por 1 mL del amortiguador correspondiente. 2 mL de guaiacol 0.04 M en H₂O₂ 0.05 M. y 1 mL de extracto enzimático. La lectura se midió en un espectrofotómetro Genesys 5 UV-VIS a 470 nm, cada minuto durante seis minutos.

3.2.5. Determinación de proteínas

Se utilizó el método colorimétrico biuret, con modificaciones. La reacción de las proteínas y biuret se produce gracias a los enlaces peptídicos y aminos de las proteínas, generando coloración azul, por tanto, el contenido de proteína es proporcional al número de enlaces peptídicos, permitiendo la determinación cuantitativa de proteína total (Roca, Oliver y Rodríguez, 2003). En el procedimiento se pesó 2 g de fruta disueltos en 20 mL de cloruro de sodio 1 %. Se agitaron por 5 min. Posteriormente se centrifugó a 5 000 rpm por 10 min. Luego se pasó a papel filtro cuantitativo, el residuo se lavó con 10 mL de buffer pH 6 y se midió el volumen final del filtrado. Para la lectura se colocó en un tubo de ensayo 2 mL de filtrado más 3 mL de biuret, con posterior agitación y lectura en el espectrofotómetro Genesys 5 UV-VIS a 540 nm (Segal y Ortega, 2005). Para la curva de calibración se usó albúmina sérica bovina 0.5 %, en diferentes alícuotas desde 0.1 a 1.0 mL equivalente a las concentraciones 0.1 mg mL⁻¹ hasta 1 mg mL⁻¹, después se adicionó el reactivo analítico biuret (4 mL) y agua destilada hasta completar un volumen total final de 5 mL (Cuadro 9). Seguido de agitación por 15 segundos, después se dejó en reposo cinco minutos. La lectura se midió en el espectrofotómetro Genesys 5 UV-VIS a 540 nm.

Cuadro 9. Curva de calibración para la evaluación de proteínas.

Reactivos (mL)	Tubos de ensayo										
	B	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Albumina 0.5%	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0
H ₂ O destilada	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0
Biuret	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la CAT se observó la mayor actividad a los 25 °C, al llegar a 37 °C la actividad decrece mostrando la menor actividad a partir de los 60 °C (Figura 11). Caso contrario se apreció para la POD, donde está fue más estable a diferentes temperaturas, a los 21 °C se observó la mayor actividad, pero no se muestra un pico a esa temperatura, sino una estabilidad a los 30 °C. hasta disminuir la velocidad a partir de los 50 °C, mostrando más estabilidad a diferentes temperaturas (Figura 11).

Los resultados para pH se invirtieron para CAT y POD (Figura 12). La CAT mostró actividad a diferentes niveles de pH a partir de pH 5 hasta pH 7 y a partir de ahí disminuye su actividad. La POD en cambio, mostró su mayor actividad en pH 6, este comportamiento es similar al que se reporta para Kalipatti sapota (*Manilkara zapota*) y uva caimaron (*Pourouma cecropiifolia*), donde mostró estabilidad en un amplio rango de temperaturas, los óptimos de temperatura y pH fueron: 65 °C / 5.0 y 37 °C / 6.0 respectivamente, mostrando también una cinética de primer orden (Narváez y Restrepo, 2003; Vishwasrao, Chakraborty, y Ananthanarayan, 2017). Para *Malva sylvestris* la CAT tuvo óptimos de pH y temperatura de pH 7.5 y 25 °C (Arabaci y Usluoglu, 2013), en pitahaya amarilla los valores óptimos fueron de pH 6.8-7.5 y 37 – 40 °C, mostrando menos tolerancia a pH ácidos (Castro, Baquero y Narváez, 2006), valores similares se reportan para uva caimaron, con pH 7 y 25 °C (Narváez y Restrepo, 2003).

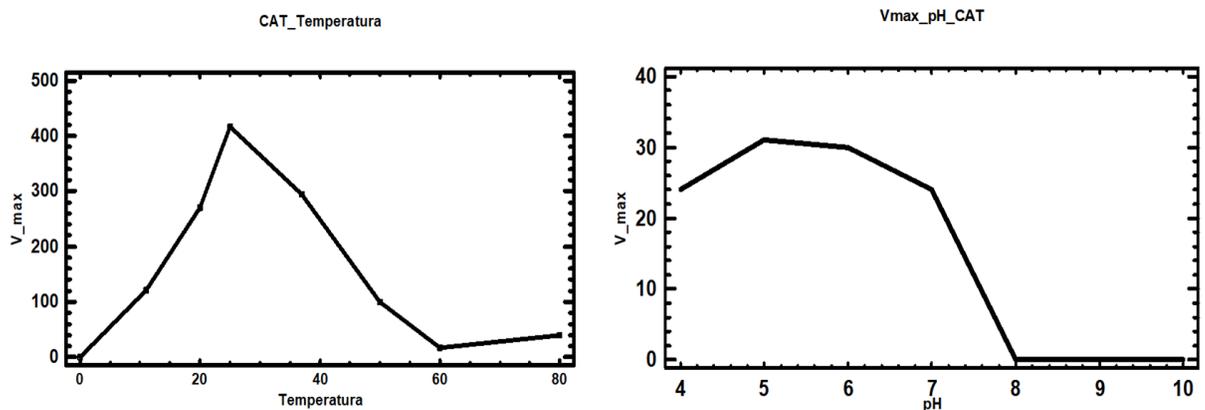


Figura 11. Temperatura y pH óptimos para la enzima catalasa (CAT) en frutos de guayaba.

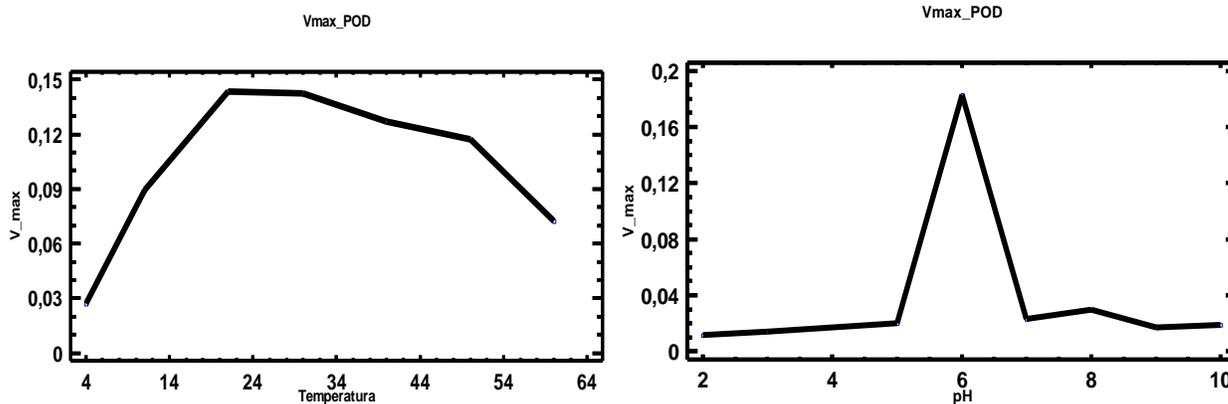


Figura 12. Temperatura y pH óptimos para la enzima peroxidasa (POD) en frutos de guayaba.

Las tasas de actividad iniciales mostraron que el tampón de fosfato no afecta significativamente la actividad de la catalasa mientras que en el tampón de citrato las tasas iniciales son más pequeñas que en el agua o en el tampón de fosfato. Los resultados indican que la presencia del amortiguador representa una variable suplementaria que complica la interpretación de los resultados y puede estar sujeta a futuras investigaciones (Cantemir *et al.*, 2013).

3.4. CONCLUSIÓN

Las enzimas CAT y POD extraídas del fruto de guayaba presentaron valores de pH óptimo, temperatura óptima y afinidad por los sustratos similares en los encontrados en otras investigaciones, en este caso se reporta la máxima actividad de catalasa a 25 °C y pH 5 y para peroxidasa 21 °C y pH 6.

3.5. LITERATURA CITADA

- Alia-Tejacal, I. Colinas-León. M. T., Martínez-Damián M. T., y Soto-Hernández. M. R. (2002)** Factores fisiológicos, bioquímicos y de calidad en frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) durante poscosecha. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 8. 263-281.
<https://www.chapingo.mx/revistas/revistas/articulos/doc/rchshVIII219.pdf>
- Arabaci, G & Usluoglu. A. (2013)** Catalytic Properties and Immobilization Studies of Catalase from *Malva sylvestris* L. *Journal of Chemistry*. 1-6.
<http://dx.doi.org/10.1155/2013/686185>
- Baquero, D. L. E. Castro. R. J. A. y Narváez. C. C. E. (2005)** Catalasa, peroxidasa y polifenoloxidasa en pitaya amarilla (*Acanthocereus pitajaya*): maduración y senescencia. *Acta Biológica Colombiana*. 10(2). 49-59.
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/27131>
- Cantemir, A. R., Raducana. A., Puiub. M. & Oancea. D. (2013)** Kinetics of thermal inactivation of catalase in the presence of additives. *Process Biochemistry*. 48(3). 471–477. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.02.013>
- Castro, R. J. A. Baquero. D. L. E., y Narváez. C. C. E. (2006)** Catalasa. Peroxidasa y Polifenoloxidasa de pitaya amarilla (*Acanthocereus pitaya*). *Revista Colombiana de Química*. 35(1). 91-101.
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/view/841>
- Dai, D. F., Chiao. Y. A., Marcinek. D. J., Szeto. H. H., & Rabinovitch. P. S. (2014)** Mitochondrial oxidative stress in aging and healthspan. *Longevity & Healthspan*. 3-6. <https://doi.org/10.1186/2046-2395-3-6>.
- Day, J. D. (2009)** Catalase and glutathione peroxidase mimics. *Biochemical Pharmacology*. 77(3). 285-296. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.09.029>
- Drevet, R. J. (2006)** The antioxidant glutathione peroxidase family and spermatozoa: A complex story. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 250(1-2). 70-79.
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2005.12.027>

- Flores, G., Wu. S. B., Negrin. A., & Kennelly. E. J. (2015)** Chemical composition and antioxidant activity of seven cultivars of guava (*Psidium guajava*) fruits. *Food Chemistry*. 170. 327-335. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.076>
- Goncalves, E. M. Pinheiro. J., Abreu M., Brandaño T.R.S., & Silva. C.L.M. (2007)** Modelling the kinetics of peroxidase inactivation. colour and texture changes of pumpkin (*Cucurbita maxima* L.) during blanching. *Journal of Food Engineering*. 81. 693–701. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.01.011>
- González-Torres, M. C. Betancourt-Rule. M., Ortiz-Muñiz. R. (2000)** Daño Oxidativo y Antioxidantes. *Bioquímica*. 25 (1). 3-9. <https://doi.org/10.1016/j.bioquim.2000.01.001>
- Holguin, Q. S., y Zaxarovich K. G. (2005)** *Métodos químicos y fotométricos de análisis*. Universidad Autónoma Metropolitana. Departamento de Ciencias Básicas. México. 161p.
- Jiménez-Escrig, A., Rincón. M., Pulido. R., & Saura-Calixto. F. (2001)** Guava Fruit (*Psidium guajava* L.) as a New Source of Antioxidant Dietary Fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49. 5489–5493. <https://doi.org/10.1021/jf010147p>.
- Narváez, C. E. y Restrepo. P. (2003)** Efecto del almacenamiento de la uva caimaron (*Pourouma cecropiifolia*) a diferentes temperaturas sobre la actividad de la polifenoloxidosa y peroxidasa. *Revista colombiana de química*. 31(2). 131-144. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/view/18055>
- Pérez, G. R. M., Mitchell. S., & Vargas. S. R. (2008)** *Psidium guajava*: A review of its traditional uses. phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. 117(1). 1-27. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.01.02>
- Pommer, C. V. & Murakami. K. R. N. (2009)** Breeding Guava (*Psidium guajava* L.). En: Mohan. S., Jain. P. M. (Ed.) *Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species*. Springer Science Business Media. New York. USA.
- Roca, P., Oliver. J., y Rodríguez. A. M. (2003)** *Bioquímica. técnicas y métodos*. Editorial Hélice. Madrid. España. 348p. <http://www.ehu.es/biofisica/juanma/mbb/pdf/bqym.pdf>
- Saexa, J., Baunthiyal. M., & Ravi. I. (2012)** *Laboratory Manual of Microbiology. Biochemistry and Molecular Biology*. Scientific Publishers. India. 380p.

- Segal, K. C. A., y Ortega. L. J. G. (2005)** *Manual del prácticas biología molecular de la celular I*. Primera edición. Facultad de ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 73p.
- Veal, E. A. Day A. M., & Morgan. B. A. (2007)** Hydrogen Peroxide Sensing and Signaling. *Molecular Cell*. 26 (1). 1–14. <https://doi.10.1016/j.molcel.2007.03.016>
- Vishwasrao, C., Chakraborty. S., & Ananthanarayan. L. (2017)** Partial purification. characterization and thermal inactivation kinetics of peroxidase and polyphenol oxidase isolated from Kalipatti sapota (*Manilkara zapota*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 97. 3568–3575. <https://doi.10.1002/jsfa.8215>