

# 08

Fecha de presentación: septiembre, 2019

Fecha de aceptación: noviembre, 2019

Fecha de publicación: diciembre, 2019

## **EFFECTOS ANTIOXIDANTES DE MORINGA OLEIFERA LAM EN VITROPLANTAS DE BANANO CLON WILLIAMS ENRAIZADAS EN SISTEMAS DE INMERSIÓN TEMPORAL RITA**

### ANTIOXIDANT EFFECTS OF MORINGA OLEIFERA LAM IN VITRO WILLIAMS CLONE BANANA PLANTS ROOTED IN RITA TEMPORARY IMMERSION SYSTEMS

Franklin Miguel Ordoñez Castillo<sup>1</sup>

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

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3534-9726>

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

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

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

Nieves Pilar Vidal Gonzalez<sup>3</sup>

E-mail: [nieves@iiag.csic.es](mailto:nieves@iiag.csic.es),

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8046-3133>

Alexander Moreno Herrera<sup>1</sup>

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

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

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

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

<sup>3</sup> Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia. España.

#### Cita sugerida (APA, sexta edición)

Ordoñez Castillo, F. M., Bernal Pita Da Veiga, M. A., Vidal Gonzalez N. P., & Moreno Herrera, A. (2019). Efectos antioxidantes de Moringa oleifera LAM en vitroplantas de banano clon Williams enraizadas en sistemas de inmersión temporal RITA. *Revista Científica Agroecosistemas*, 7(3), 57-63. Recuperado de <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes>.

#### RESUMEN

La producción bananera es la segunda actividad económica de El Oro, pero con plantaciones de 40 años de edad que requieren renovar sistemas tradicionales con plantas jóvenes vigorosas. La micropropagación, como alternativa para obtener plantas de banano, propone sistemas de inmersión temporal RITA®. Por otra parte, los extractos de Moringa oleifera LAM (MOL) muestran gran potencial de actividad antioxidante. En este trabajo se determinó el contenido de fenoles solubles y antioxidantes en diferentes órganos en MOL, así como el efecto de añadir extractos de esta planta a vitroplantas de banano enraizadas en RITA®. Se evaluaron diferentes ciclos de inmersión (3, 6 y 8 ciclos), así como sistemas convencionales semisólidos, permitiendo valorar la elicitación de vitroplantas enraizadas para reducir el estrés oxidativo. Los órganos de MOL con mayor contenido en fenoles fueron las hojas y las flores, con 6.35 y 6.53 mg de equivalentes de ácido gálico /g peso seco respectivamente. Los mayores niveles de capacidad antioxidante se encontraron en las hojas (24.36 % de reducción del 2,2- Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH)). En RITA®, con la aplicación de 8 inmersiones diarias se obtuvieron raíces más largas y mayor masa fresca que con 3 y 6 inmersiones y con medio semisólido. La elicitación con extractos acuosos de hoja de MOL a bananos cultivados en RITA® permitió potenciar el contenido de fenoles y antioxidantes, de modo que con 8 ciclos de inmersión se obtuvieron 6.32 mg GAE/g peso seco de fenoles y un 13.60 % de reducción del DPPH, reduciendo el estrés oxidativo de vitroplantas Williams en fase de enraizamiento.

#### Palabras clave:

Moringa, RITA®, fenoles, micropropagación.

#### ABSTRACT

Banana production is the second economic activity of El Oro, and 40-year-old plantations require renovation of traditional systems with vigorous young plants. Micropropagation, as an alternative to obtain banana plants, proposes RITA® temporary immersion systems. The extracts of Moringa oleifera LAM (MOL) demonstrated the existence of organs with great potential for antioxidant activity. The content of soluble phenols and antioxidants in different organs in MOL, as well as banana vitroplants rooted in RITA® were evaluated. Different immersion cycles (3, 6 and 8 cycles) as well as conventional semi-solid systems were used to evaluate the elicitation of rooted vitroplants to reduce oxidative stress in these conditions. The phenolic contents obtained in MOL were 6.35 and 6.53 mg equivalents of gallic acid /g dry weight in leaf and flower extracts. Leaf extracts also showed antioxidant potential, with a significant 24.36% reduction of DPPH. Explants cultured in RITA® with 8 immersion cycles produced longer roots and higher fresh mass than those cultured with 3 or 6 cycles and semi-solid medium. The elicitation with aqueous MOL leaf extracts in RITA® at 8 immersion cycles allowed to increase the phenol content to 6.32 mg GAE / g Dry Weight, as well as to enhance antioxidants by 13.60 % reduction in DPPH, reducing the oxidative stress of Williams vitroplants in rooting phase.

#### Keywords:

Moringa, RITA®, phenols, micropropagation.

## INTRODUCCIÓN

En Ecuador la producción bananera es la segunda de mayor importancia económica, ubicando al país como el mayor productor latinoamericano y en cuarto lugar a nivel internacional, generando la necesidad de obtener plantas robustas, de alta calidad y capacidad de producción. Tradicionalmente este cultivo se propaga en forma vegetativa por cormos separados de la planta madre y sembrados por individual. Sin embargo, este método estimula el ataque y proliferación de poblaciones de insectos y plagas a las plantas jóvenes, disminuyendo la tasa de multiplicación. Por este motivo la propagación *in vitro* presenta una alternativa eficaz para reproducir plantas sanas en tiempo relativamente menor (Ubilla-Navarro, 2016).

Los Sistemas de Inmersión Temporal (SIT) desarrollado por Alvared, et al. (1993), para la micropropagación de musáceas y posteriormente adaptado por Escalant, Teisson & Cote (1994), para cultivar embriones somáticos, promueve momentos adecuados de inmersión que reducen el tiempo de contacto entre planta y medio líquido. Estos sistemas favorecen la morfología y el comportamiento fisiológico de los cultivos haciéndolos semejantes a los que se presentan en ambientes *ex vitro*, mejorando calidad de las vitroplantas. En este proceso eficiente de obtención de plantas se puede reducir el estrés oxidativo para generar mayor capacidad de multiplicación y mejorar calidad morfológica de vitroplantas (Basail, et al., 2013).

Factores abióticos como temperatura, luz, heridas, CO<sub>2</sub> y humedad relativa generan condiciones de estrés oxidativo por incremento de radicales libres. La presencia de estrés oxidativo demanda de antioxidantes para disminuir dichas concentraciones. Las condiciones de crecimiento *in vitro* demandan fortalecer la fisiología de cultivos, y los extractos vegetales de *Moringa oleifera* Lam son una fuente fortificante natural. Las hojas son fuente de antioxidantes como fenoles, ácido ascórbico y glutatión ubicados en altas

concentraciones en los cloroplastos, esenciales en la defensa frente al estrés oxidativo, además de ascorbatos, carotenoides, calcio y potasio necesarios en el crecimiento vegetal (Basra & Afzal, 2015).

Considerando lo antes expuesto se propone evaluar el efecto fortificante de extractos de *Moringa oleifera* LAM para potenciar la actividad antioxidante y reducir el estrés oxidativo en vitroplantas de banano clon Williams en fase de enraizamiento mediante elicitación en bioreactores de inmersión temporal RITA®.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se llevó a cabo durante los meses de mayo hasta agosto del 2019 en el laboratorio de Micropropagación vegetal e invernadero correspondiente, ubicados en los predios de la granja "Santa Inés" de la Facultad de Ciencias Agropecuarias pertenecientes a la Universidad Técnica de Machala (UTMACH) en el cantón Machala, parroquia el Cambio, provincia de El Oro y georeferenciado como (3° 17'30" S; 79° 54'51" w). Esta investigación conto con el apoyo del proyecto Bioali-CYTED a través de la red BIOALI (P117RT0522).

Para establecer el experimento, en la caracterización de extractos potenciales, se utilizaron plantas de MOL con más de dos años de edad que permitieron obtener órganos como raquis, tallo, semilla, raíz, hojas, flor y soporte floral. El material vegetal que se utilizó fueron plantas de banano clon "Williams" (AAA) *in vitro* en medio de cultivo semisólido en fase de multiplicación.

### Proceso de extracción de muestras de MOL.

Estas muestras fueron secadas en estufa a 70 °C durante 24 horas, tiempo determinado para lograr un secado uniforme. Posteriormente se maceraron en mortero de porcelana hasta obtener polvo fino de cada órgano, almacenándolos en frascos estériles con tapa a temperatura ambiente y oscuridad total para pruebas antioxidantes.

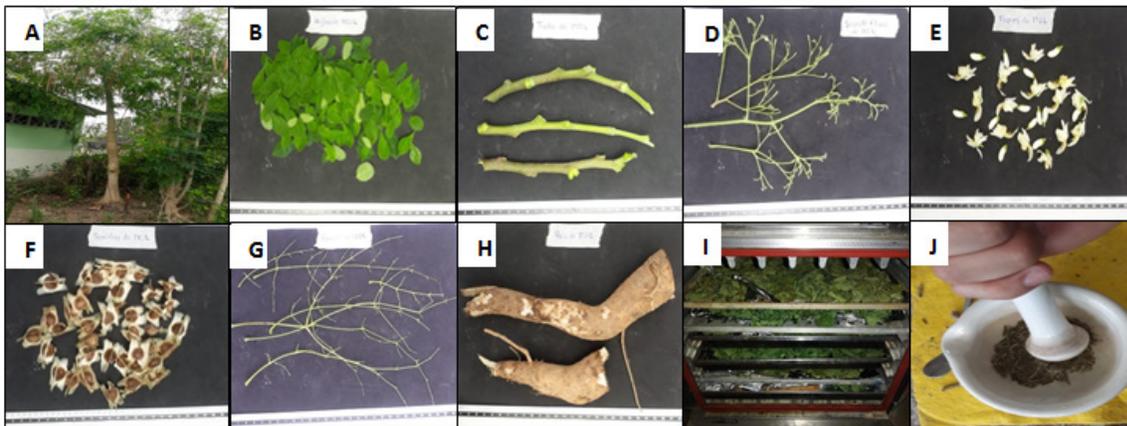


Figura 1. Órganos utilizados en el proceso de extracción de muestras de planta adulta de *Moringa oleifera* Lam: árbol de MOL (A), hojas (B), tallo (C), soporte floral (D), flores (E), semillas (F), raquis (G), raíz (H), secado de órganos de MOL en estufa (I), obtención de polvo de órganos en mortero (J).

## Contenido de fenoles solubles del material vegetal.

Las valoraciones de fenoles solubles se realizaron mediante el método de Folin-Ciocalteu (Meeting & Society, 1977) modificado por Kraujalyte, Rimantes, Pukalsckas, Cesoniene & Daubaras (2015).

Esta determinación necesitó la elaboración una recta de calibrado con un ácido fenólico a proporción 1:10 (v:v) según el método modificado que reduce el consumo de reactivos. Empleando ácido gálico se preparó una solución madre de 1mg/1ml para elaborar la recta de calibrado que permitió calcular la cantidad de fenoles presentes en las muestras, en su elaboración se utilizó tres soluciones de ácido gálico en metanol al 80% a concentraciones: 0.01mg/ml de ácido gálico/ml de metanol, 0.02mg/ml, 0.05mg/ml, 0.1mg/ml, 0.2mg/ml. A partir de las cuales se tomaron 100 µl por triplicado y se añadió 1000 µl de reactivo Folin Ciocalteu diluido 10 veces. Tras 4 minutos de incubación en oscuridad, le añadimos a cada tubo 1000 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 7% y 400 µl de agua destilada, volviendo a incubar los tubos durante 90 minutos en oscuridad para hacer lecturas espectrofotométricas. La recta de calibrado permitió obtener la ecuación: Absorbancia 760nm=3.8292 [equivalentes de ácido gálico]+0.0303 con R<sup>2</sup> = 0.997, para el cálculo del contenido de fenoles solubles totales.

A partir de una solución de 0,1 gramos de muestra en 3 ml en agua destilada, y 3 ml de metanol al 80% a cada uno de los órganos, incubados a baño maría en agua destilada a 70° C por 30 minutos y luego reposo por 10 minutos, y puestos a centrifugación a 10000 g por 15 minutos a temperatura ambiente en centrifuga (MiniSpin plus-Eppendorf AG, Hamburg). La extracción del sobrenadante se lleva a cabo cuidadosamente con pipeta graduada y puesto en tubos de ensayo milimetrados enrasados a 5 ml con metanol al 80%. Posteriormente se subdivide cada muestra en tres tubos adicionando 100 µl de extracto y agregando 1000 µl de Folin-Ciocalteu más 1000 µl de CO<sub>3</sub>Na y 400 µl de agua destilada a todas las muestras. Se deja reposar por 90 minutos y se procede con las lecturas en el espectrofotómetro calibrado a 760 nm. Los datos obtenidos en espectrofotómetro permitieron identificar el órgano con alto contenido de fenoles, mediante recta de calibrado antes obtenida.

## Contenido de actividad antioxidante del material vegetal.

La actividad antioxidante se determinó por el descenso de la absorbancia a 515 nm de una solución metanólica de radical difenil 1-picrilhidrazil (DPPH) en presencia de las distintas muestras, en donde la solución del radical DPPH es la absorbancia inicial (A0). El DPPH con el radical oxidado presenta un color inicial morado que a medida que se va reduciendo se torna amarillo. Esta diferencia de color permite

cuantificar el porcentaje de DPPH reducido mediante la siguiente fórmula:

% DPPHreducido = ((A0 – Am) /A0) ·100, siendo Am la absorbancia de la muestra.

Preparamos una solución de DPPH 1mM (40 mg de DPPH en 100 ml de metanol absoluto), que se diluye con metanol hasta llegar a valores de absorbancia cercanos a 0,800. Las medidas de absorbancia se realizaron a 515 nm, utilizando metanol absoluto como blanco y haciendo reaccionar, directamente en la cubeta y sin tiempo de incubación, 50 µl del estándar antioxidante con 950 µl de DPPH.

## Condiciones del cultivo in vitro.

Las vitroplantas de banano en fase de enraizamiento permanecieron en cámara de crecimiento por 21 días. Se ajustaron las condiciones ambientales para controlar la temperatura a 25°C ± 1°C, mientras que la iluminación se realizó con luz solar indirecta y lámparas de luz con fotoperiodos de 16 horas luz, y luminosidad entre 48,0y62.5 µ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. La Humedad relativa dentro del cultivo osciló entre 90% y 100%.

## Medio de Cultivo para la fase de enraizamiento in vitro.

El medio de cultivo utilizado fue el MS (Murashigue y Skoog, 1962) como suplemento nutricional, siguiendo el protocolo de Basail, et al. (2013). En la fase de enraizamiento se utilizó 1.30 mg L<sup>-1</sup> de ácido indolacético, 30 g L<sup>-1</sup> de sacarosa y se ajustó el pH a 5.8. Los medios de cultivo se esterilizaron en autoclave a 121° C durante 20 minutos (Cejas, et al., 2011).

## Sistema de Inmersión Temporal RITA®.

Para el enraizamiento de las vitroplantas se utilizaron Recipientes de Inmersión Temporal Automatizado RITA® (Cirad, Francia). Cada sistema cuenta con dos compartimentos, el inferior para almacenar el medio líquido y el superior para los explantes. Se utilizaron dos filtros (HEPA-VENT microfibra 0.3µm de la empresa General Electric) para esterilizar el aire e impedir el ingreso de agentes contaminantes al frasco. El filtro de ingreso conecta a una manguera de silicona que mediante un compresor de aire conduce el medio líquido hasta sumergir los explantes. El tiempo y la frecuencia de alimentación del cultivo se automatizó mediante un temporizador (Timer IIIWoods®) que activa la circulación de aire.

## Ciclos de inmersión en Recipientes RITA®

Para la determinación de un ciclo eficiente para el enraizamiento se utilizaron los parámetros descritos en la tabla 1, basados en el estudio de Basail, et al. (2012), donde se estableció el volumen de medio líquido de 50 ml/explante y 4 minutos de inmersión para clones del grupo Cavendish. Los recipientes contienen 200 ml de medio MS y cuatro explantes por recipiente. Los

ciclos de inmersión fueron establecidos para un periodo de 24 horas.

**Tabla 1. Ciclos de inmersión en vitroplantas de Williams en fase de enraizamiento.**

Ciclos de Inmersión (*24 horas)	Tiempo de inmersión (minutos)	Medio de cultivo (ml/explante)
3 ciclos	4	50
6 ciclos		
8 ciclos		



Figura 2. Establecimiento de vitroplantas Williams en sistemas RITA® y semisólido: recipiente RITA® con filtros HEPA-VENT (A), establecimiento de tratamientos en sistemas RITA® en el área *in vitro* (B), testigo Williams enraizadas en semisólido (C).

### Preparación y elicitación del extracto de MOL

Los extractos etanólico (80%) y acuoso de MOL se obtuvieron a partir de polvo de hojas conservadas a temperatura ambiente y oscuridad. Los extractos se prepararon a una concentración de 0.75 mg L<sup>-1</sup> (Yáñez, et al., 2017). Las muestras fueron colocadas en baño maría a 50° C por 30 minutos, tras lo cual se filtraron para obtener los extractos finales que se aplicaron a los sistemas RITA® en fase de enraizamiento usando jeringas de 5ml y filtros MILLEX® Millipore Express® de 0.22µm (tabla 2). Las plantas estuvieron en fase de enraizamiento durante 21 días.

**Tabla 2. Elicitación de vitroplantas de banano Williams enraizadas en sistemas Rita® con extractos de MOL.**

Tratamientos	Elicitación (mgL <sup>-1</sup> )	Ciclos de Inmersión (*24 horas)	Tiempo de Inmersión (minutos)
RITA® + extracto acuoso MOL	0.75	8	4
RITA® + extracto etanólico MOL			

### Procedimiento estadístico

Para determinar si existen o no diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes extractos de los órganos de la planta de MOL (raíz, tallo, hoja, flor, soporte floral, raquis, semilla) en función de los fenoles solubles y el porcentaje de reducción de DDPH, se realizó un ANOVA de un factor intergrupos, previo cumplimiento de los requisitos de independencia de observaciones (se garantizó con el diseño del experimento y la toma de la muestra), normalidad de datos

(se verificó mediante el test de Kolmogorov-Smirnov) y homogeneidad de varianzas (Test de Levene). El mismo procedimiento fue aplicado para el caso del tipo de sistema y el ciclo de inmersión en función de las variables morfológicas (Longitud pseudotallo, diámetro pseudotallo, número hojas, longitud hojas, ancho hojas, número raíces, largo raíz mayor, masa fresca, masa seca).

Para conocer entre que grupos se encuentran las diferencias o las similitudes se aplicaron pruebas post hoc (rangos múltiples de Duncan).

Los procedimientos anteriores se utilizaron para seleccionar el mejor extracto y el mejor sistema y ciclo de inmersión. Se aplicó prueba U de Mann Whitney en grupos independientes para determinar si existen o no diferencias significativas entre ellos cuando se utilizaron extracto etanólico y acuoso en función de fenoles solubles y reducción del porcentaje de DPPH.

El procesamiento de los datos se realizó con el paquete estadístico SPSS Inc. (versión 25.0 de prueba para Windows), con una fiabilidad del 95% (α=0.05).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las plantas de MOL se caracterizan por su alto contenido de fenoles solubles, distribuidos a lo largo de toda su estructura en distintas concentraciones. La distribución de fenoles solubles (Figura 3) mostró diferencias significativas entre los órganos de la planta, y los órganos con mayor contenido que difieren estadísticamente tenemos la flor, hoja y soporte floral (6.53, 6.35 y 5.28 mg GAE/g peso seco).

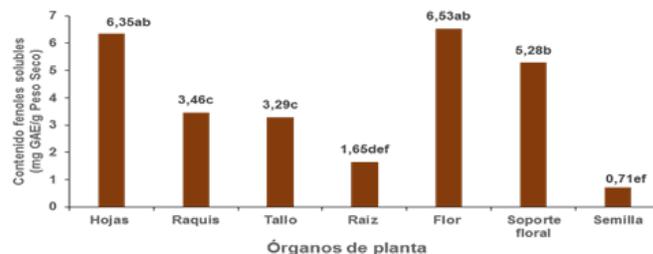


Figura 3. Contenido de fenoles solubles en plantas de MOL en estado de desarrollo. N=21, Error estándar de la media=±0.34.\*Letras diferentes difieren estadísticamente para un p-valor<0.05. (Prueba Duncan).

El contenido de fenoles solubles encontrados en hojas muestran los mayores valores para plantas con más de tres años de edad, semejantes resultados presentan plantas en desarrollo de 18 meses de edad que revelaron valores de 9.10 mg GAE g<sup>-1</sup> para peso seco (Cabrera, Jaramillo, Dután, Cún, Garcí & Rojas 2017). Lo que confirma que existe una disminución de fenoles solubles de acuerdo a la edad de la planta. En otras plantas la utilización de este método de extracción en hojas de *Psidium guajava* confirmó valores de 58.07 mg GAE g<sup>-1</sup> para peso seco.

## Potencial antioxidante en órganos de planta de MOL

Las plantas de MOL en desarrollo son fuente importante de antioxidantes, estos ejercen un papel fundamental en sus órganos y se encuentran a distintas concentraciones. El contenido de antioxidantes totales (Figura 4) presentó diferencias significativas, mostrando las hojas mayor proporción de actividad antioxidante y estas mostraron un incremento del 10% ante órganos de flor como segundo mayor porcentaje de reducción.

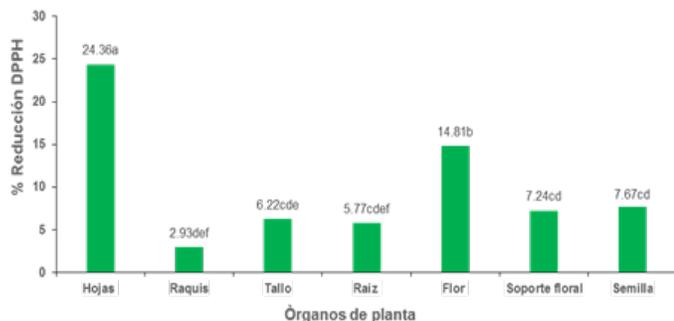


Figura 4. Actividad Antioxidantes totales en plantas de MOL en estado de desarrollo. N= 21, error estándar de la media=  $\pm 1.10$ . (\*) Letras diferentes difieren estadísticamente p-valor<0.05. (Prueba Duncan).

El contenido de antioxidantes totales presenta valores máximos en extractos de hojas de MOL, con un 24.36% de reducción de DPPH. Este resultado es similar al observado por Pari, Karamać, Kosińska,

Rybarczyk & Amarowicz (2007), que obtuvieron una reducción de 65% de DPPH al usar extracto crudo a una concentración de 0.2 mg L<sup>-1</sup>.

## Calidad in vitro plantas Williams en fase de enraizamiento.

La calidad de vitroplantas Williams en fase de enraizamiento presentó diferencias significativas entre semisólido y sistemas RITA®. Dentro de los sistemas, los ciclos de inmersión en medio líquido fue un factor favorable para el crecimiento de raíz, superando una de las desventajas del medio semisólido.

En la tabla 3 se observa que la longitud de pseudotallo es mayor en semisólido que en RITA®, aunque las diferencias solo son significativas para 3 ciclos. El diámetro de pseudotallo presentó una disminución significativa en RITA®. El mayor número de hojas se observó en RITA® con 3 ciclos y en medio semisólido, mientras que la longitud y ancho de hojas de los RITA® superan al semisólido significativamente, independientemente del número de ciclos. El sistema radicular presentó valores significativamente más altos en sistemas de 6 y 8 ciclos, así como semisólidos para número de raíces, mientras que en largo de raíz los valores significativos fueron mayores cuando se utilizó sistema RITA® de 8 ciclos. La mayor masa fresca de las vitroplantas se obtuvo en medio semisólido, seguidos de RITA® de 8 ciclos. La calidad demostrada confirmó valores mayores significativos a 3, 8 ciclos y semisólidos.

Tabla 3. Calidad de vitroplantas Williams enraizadas en sistemas RITA® a diferentes ciclos de inmersión y semisólido.

Tipo de sistema y ciclos de inmersión	Longitud Pseudotallo (mm)	Diámetro Pseudotallo (mm)	Número Hojas (u)	Longitud Hojas (mm)	Ancho Hojas (mm)	Número Raíces (u)	Largo Raíz Mayor (mm)	Masa Fresca (g)	Masa Seca (g)
SS	38.22±3.02 a	9.06±0.53 a	7.2±0.48 a	21.12±2.05 b	12.73±1.04 b	18.2±2.47 a	22.68±1.43 c	2.82±0.001 a	0.18±0.0005 a
RITA® + 3 ciclos	23.86±1.92 b	4.41±0.36 b	6.00±0.44 ab	29.58±2.81 a	16.78±1.34 a	9.00±1.14 b	62.62±1.86 b	1.76±0.007 d	0.18±0.0005 a
RITA® + 6 ciclos	33.27±2.99 a	4.86±0.49 b	5.8±0.37 b	32.74±3.20 a	19.37±1.67 a	19.2±2.08 a	67.4±7.84 b	2.37±0.001 c	0.15±0.0004 b
RITA® + 8 ciclos	30.82±2.28 ab	5.61±0.70 b	5.60±0.40 b	36.82±1.86 a	18.11±0.91 a	15.0±1.30 a	130.00±15.00 a	2.75±0.039 b	0.18±0.0089 a
ANOVA	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Los valores obtenidos presentan el número de muestras para N=20. Tiene diferencia significativa P<0.05 según prueba de rangos múltiples de Duncan

El empleo de sistemas RITA® incrementa la tasa de crecimiento de raíz (Figura 5) en comparación con medios semisólidos debido a que en medio líquido los nutrientes poseen mayor movilidad y disponibilidad para las vitroplantas, como se observó en variables como altura de planta, diámetro del pseudotallo y número de raíces de vitroplantas de banano Williams obtenidas en sistemas RITA® con 8 ciclos de inmersión.

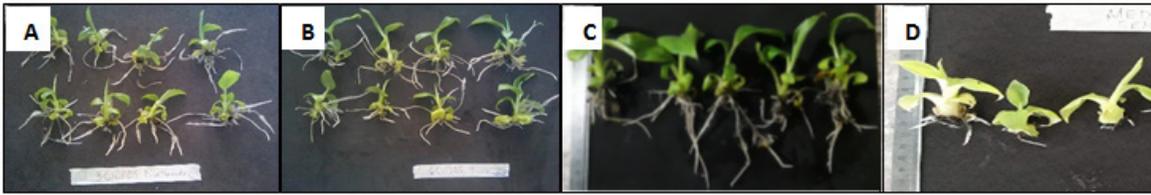


Figura 5. Calidad de vitroplantas Williams enraizadas en sistemas RITA® a diferentes ciclos de inmersión y semisólido. Frecuencias de inmersión: 3 ciclos (A), 6 ciclos (B), 8 ciclos (C), semisólido (D).

### Elicitación de vitroplantas Williams en fase de enraizamiento

Los resultados presentados en la figura 6, muestran que el extracto acuoso de hojas de MOL, aumentaron significativamente el contenido de fenoles solubles, en comparación con sistemas de medio Ms se obtuvo un incremento de 3.59 mg GAE/g masa seca. La actividad antioxidante presentó 13.60 % de poder reductor de DPPH en extracto acuoso, para obtener diferencias significativas de  $p < 0.05$ .

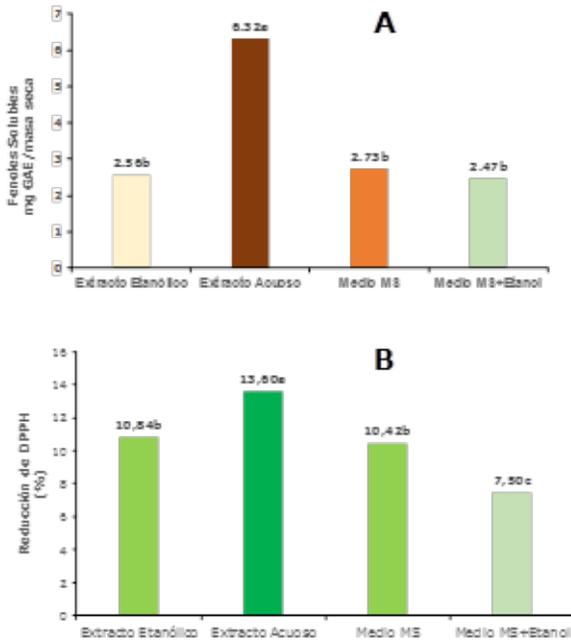


Figura 6. Elicitación de vitroplantas Williams en sistemas de inmersión temporal RITA® con extractos etanólico y acuoso de MOL, medio de cultivo (MS) y medio con etanol. A) Fenoles solubles, en mgGAE/g masa seca, error estándar de la media=  $\pm 0.28$ . B) Actividad antioxidante en porcentaje de reducción de DPPH. Error estándar de la media=  $\pm 0.39$ . (Prueba de Duncan®) para muestras independientes. N=36.

Los resultados muestran que el extracto acuoso permite obtener los valores mayores de fenoles solubles y antioxidantes totales, demostrando mejor calidad en vitroplantas de banana Williams. Este incremento en fenoles se confirma de igual forma cuando se aplica extracto acuoso de MOL a *Eruca vesicaria subsp sativa*, con valores de 11.84 y 0.70 mg GAE/g masa seca para ácido ascórbico como potencial antioxidante

(Abdalla, 2013). Resultados semejantes se obtienen al utilizar extractos de MOL en suspensiones celulares de *C. annuum* provocando a las 72 horas de elicitación un incremento significativo en el contenido de fenoles (Yáñez, et al., 2017).

En cuanto a la actividad antioxidante, los extractos acuosos de MOL contienen una amplia especificación de antioxidantes como fenoles, flavonoides,  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E) y enzimas antioxidantes. Extractos de MOL estimularon el crecimiento radicular y calidad de vitroplantas Williams (figura 7). Estudios realizados en vitroplantas de banana Williams en condiciones de aclimatación, empleando extractos de hoja de MOL al 0.18 mg/L, permitió obtener mayor calidad de plantas demostrado en las variables como diámetro del pseudotallo, masa fresca, masa seca y ceniza, así como en las variables altura y masa fresca en plantas cohetes con extracto de hojas de MOL comparadas al control (Abdalla, 2013). De forma similar, plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) elevaron los parámetros de crecimiento con pulverización foliar de extracto de hoja de MOL sobre plantas de control sin extracto, confirmando que el contenido de proteínas y hormonas (auxinas y citoquininas) de MOL generan formación de protoplasma y favorecen la división, multiplicación celular y aumentan significativamente el desarrollo vegetativo en plantas tratadas.

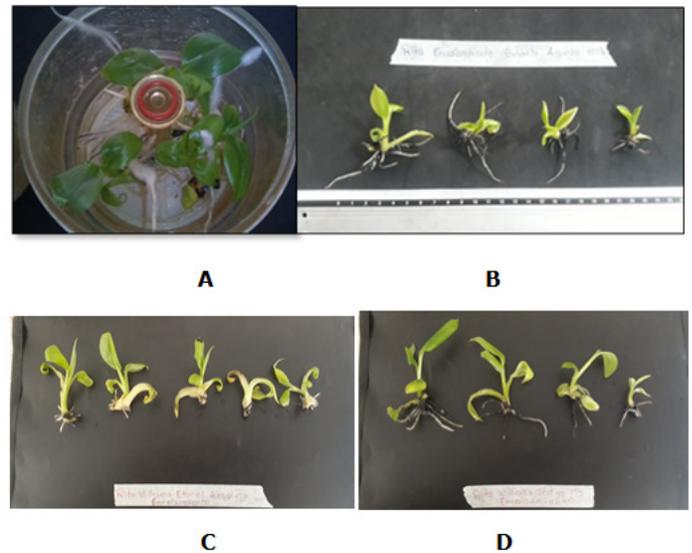


Figura 7. Vitroplantas Williams en sistemas RITA® con elicitación de extracto acuoso de MOL en desarrollo (A-B), vitroplantas en medio MS+etanol (C), vitroplantas en medio MS (D)

## CONCLUSIONES

Se ha determinado que las hojas son el órgano con mayor potencial antioxidante de las plantas de MOL en desarrollo. Mediante el empleo de sistemas de inmersión temporal RITA® con 8 ciclos de 4 minutos se obtuvieron los mejores contenidos de masa seca y la mayor longitud de raíces para fase de enraizamiento. El extracto acuoso de hoja de *Moringa oleifera* Lam en elicitación permitió potenciar el contenido de fenoles solubles y antioxidantes para reducir el estrés oxidativo de vitroplantas de banano clon Williams enraizadas en los sistemas de medio líquido.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

Abdalla, M. M. (2013). The potential of Moringa oleifera extract as a biostimulant in enhancing the growth, biochemical and hormonal contents in rocket (*Eruca vesicaria* subsp. *sativa*) plants. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry Full*, 5(3), 42–49. Recuperado de <https://pdfs.semanticscholar.org/1fac/0173464627df48090878018c3943d203c057.pdf>

Basail, M., et al. (2013). Nueva alternativa para la micropropagación en inmersión temporal del cultivar de plátano vianda “INIVITPV-2011” (AAB). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 15(1), 98–107. Recuperado de <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/39842>

Basra, S., & Afzal, I. (2015). Potential of Moringa ( *Moringa oleifera* ) Leaf Extract as Priming Agent for Hybrid Maize Seeds Potential of Moringa ( *Moringa oleifera* ) Leaf Extract as Priming Agent for Hybrid Maize Seeds. *International Journal of Agriculture and Biology*, 13: 1006–1010. Recuperado de [http://www.fspublishers.org/published\\_papers/3860\\_pdf](http://www.fspublishers.org/published_papers/3860_pdf)

Cabrera, J., Jaramillo, C., Dutan, F., Cun, J., García, P., & Rojas, L. (2017). Variación del contenido de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos en *Moringa oleifera* Lam. en función de su edad y altura. *Bioagro*, 29(1), 53–60. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/857/85750098006.pdf>

Cejas, I., et al. (2011). Optimización del protocolo de propagación del plátano cv . CEMSA ¾ en Biorreactores de Inmersión Temporal Optimizing protocol of plantain propagation cv . CEMSA ¾ in Temporary Immersion Bioreactors. *Agrociencia Uruguay*, 15(1), 13–18. Recuperado de [http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci\\_art-text&pid=S2301-15482011000100002](http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_art-text&pid=S2301-15482011000100002)

Escalant, J. V., Teisson, C., & Cote, F. (1994). Amplified somatic embryogenesis from male flowers of triploid banana and plantain cultivars (MUSA SPP.). *In Vitro Cell. Dev. Biol.*, 30(4), 181-186. Recuperado de <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02823029>

Kraujalyte, V., Rimantes, P., Pukalsckas, A., Cesoniene, L., & Daubaras, R. (2015). Antioxidant properties , phenolic composition and potentiometric sensor array evaluation of commercial and new blueberry (*Vaccinium corymbosum* ) and bog blueberry (*Vaccinium uliginos* ... Antioxidant properties , phenolic composition and potentiometric s. *Food Chemistry*, 188, 583–590.

Pari, L., Karamać, M., Kosińska, A., Rybarczyk, A., & Amarowicz, R. (2007). Antioxidant activity of the crude extracts of drumstick tree (*Moringa oleifera* LAM.) and sweet broomweed (*Scoparia dulcis* L.) leaves. *Polish Journal Of Food and Nutrition Sciences*, 57(2), 203–208. Recuperado de <https://pdfs.semanticscholar.org/56f7/2699ea203586bb412eb4b7efe71b51b0eb64.pdf>

Ubilla-Navarro, L. (2016). Propagación in vitro de Banano (*Musa acuminata*) -variedades Gros Michel y Williams- a partir de meristema. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana.