



Sustancias antioxidantes en diferentes fases fenológicas de *Psidium guajava* L.¹

Antioxidant substances in different phenological phases of *Psidium guajava* L.

Evelyn Del Carmen Pérez-Pérez², Gretty Rosario Ettiene-Rojas³, Maribel Del Carmen Ramírez-Villalobos⁴, Ángel Gómez-Degraves⁵

- ¹ Recepción: 29 de septiembre, 2022. Aceptación: 29 de noviembre, 2022. Este trabajo formó parte de la Tesis Doctoral del primer autor, registrada en el Programa de Doctorado en Ciencias Agrarias del Posgrado de Agronomía, Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia, Venezuela.
- ² Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía. Departamento de Agronomía. Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. evelyncpp@gmail.com (autor para correspondencia; <http://orcid.org/0000-0003-0900-8810>).
- ³ Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía. Departamento de Química. Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. gettiene@fa.luz.edu.ve (<http://orcid.org/0000-0002-5320-2381>).
- ⁴ Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía. Departamento de Botánica. Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. mcramire@fa.luz.edu.ve (<http://orcid.org/0000-0001-5050-6454>).
- ⁵ Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía. Departamento de Estadística. Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. gomezdegraves@gmail.com (<http://orcid.org/0000-0002-1577-6106>).

Resumen

Introducción. En el mundo hay interés en la determinación del contenido de sustancias antioxidantes de origen vegetal y la relación de las fases fenológicas de la planta con la producción de metabolitos secundarios.

Objetivo. Determinar el efecto de las fases fenológicas en el contenido de sustancias antioxidantes de guayabo (*Psidium guajava* L.). **Materiales y métodos.** Se evaluó una muestra poblacional del 10 % de plantas de guayabo del banco de germoplasma del CESID-Frutícola y Apícola-CORPOZULIA, ubicado en el municipio Mara, estado Zulia, Venezuela. Se determinó el contenido de fenoles totales (FeT), flavonoides totales (FIT) y la capacidad antioxidante (CA) en muestras de hojas secas en las diferentes fases fenológicas de la planta, registradas de octubre de 2012 a septiembre de 2013. La extracción de los FeT se realizó mediante ultrasonido con 0,5 g de muestra seca y una mezcla metanol: agua (80:20 % v/v). Para la cuantificación por espectrofotometría de absorción UV-VIS, se utilizó como estándar ácido gálico para FeT y catequina para FIT. La CA se determinó por el catión-radical ABTS⁺. Se utilizaron estadísticas no paramétricas mediante el programa estadístico SPSS. **Resultados.** En las plantas de guayabo ocurrieron las tres fases fenológicas (floración, fructificación, brotación vegetativa), prevaleció la reproductiva con un 38,99 % de flores y frutos; con mayor presencia media de brotes vegetativos durante la época de precipitación y la alternancia entre la producción de flores y frutos. Se observó variabilidad intrapoblacional en el contenido de sustancias antioxidantes, el contenido de FeT, en comparación con la CA y los FIT, fue mayor en fructificación y en ausencia de precipitación. **Conclusión.** Las fases fenológicas tuvieron efecto en el contenido de sustancias antioxidantes de guayabo. La fase de fructificación presentó el mayor contenido de fenoles totales. Los contenidos de fenoles y flavonoides totales presentaron relación con la capacidad antioxidante.

Palabras clave: antioxidantes, flavonoides, floración, fructificación, brotación.



Agronomía Mesoamericana es desarrollada en la Universidad de Costa Rica bajo una licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional. Para más información escriba a pccmca@ucr.ac.cr o pccmca@gmail.com

Abstract

Introduction. There is worldwide interest in determining the content of plant-based antioxidant substances, and the relationship of the phenological phases of the plant with the production of secondary metabolites. **Objective.** To determine the effect of phenological phases on the content of antioxidant substances of guava (*Psidium guajava* L.). **Materials and methods.** A population sample of 10 % of guava plants from the germplasm bank of CESID-Frutícola y Apícola-CORPOZULIA, located in the municipality of Mara, Zulia state, Venezuela, was evaluated. The content of total phenols (FeT), total flavonoids (FIT), and antioxidant capacity (CA) were determined in dry leaves samples at different phenological phases of the plant, recorded from October 2012 to September 2013. Extraction of the FeT was performed by ultrasound with 0.5 g of dry sample and a methanol: water mixture (80:20 % v/v). For quantification by UV-VIS absorption spectrophotometry, gallic acid for FeT and catechin for FIT were used as standard. The AC was determined by the cation-radical ABTS⁺. Non-parametric statistics were used using SPSS statistical software. **Results.** The three phenological phases (flowering, fruiting, vegetative sprouting) occurred in guava plants, the reproductive phase prevailed with 38.99 % of flowers and fruits; with higher average presence of vegetative shoots that occurred during the rainy season and the alternation between flowers and fruits production. Intra-population variability was observed in the content of antioxidant substances, FeT content, compared to CA and FIT, was higher in fruiting and in the absence of precipitation. **Conclusion.** The phenological phases had an effect on the content of antioxidant substances of guava. The fruiting phase had the highest content of total phenols. The contents of total phenols and flavonoids were related to antioxidant capacity.

Keywords: antioxidants, flavonoids, flowering, fruiting, sprouting.

Introducción

El guayabo (*Psidium guajava* L.) pertenece a la familia Myrtaceae, clasificado como uno de los cultivos más conocidos y estimados en la mayor parte del mundo. Es una especie arbórea nativa de América tropical continental, se encuentra en forma silvestre y cultivada en todas las regiones tropicales y subtropicales de Centro y Suramérica, así como en otras regiones del mundo (Rahman et al., 2018).

En Venezuela, el guayabo es uno de los rubros frutícolas de gran importancia. Se ubica entre las diez más populares del país por su aceptación como fruta fresca y procesada. Las características sensoriales y nutricionales han sido un incentivo en la demanda para consumo fresco y la agroindustria para incrementar la superficie sembrada y el rendimiento (Díaz & Rodríguez, 2016). Investigaciones etnobotánicas han señalado que los miembros del género *Psidium* son utilizados para curar diversas enfermedades humanas (Yazbek et al., 2019) y el guayabo se ha destacado en investigaciones en varias áreas (Weli et al., 2019). Por ejemplo, la infusión de hojas y flores de guayabo se utiliza en la medicina tradicional para tratar la diarrea, mientras que la decocción de sus raíces para tratar la tos, la disentería, los dolores de estómago y muelas, la indigestión y el estreñimiento (Gonçalves Ferreira Macêdo et al., 2021; Moraes et al., 2019).

En el mundo, hay un creciente interés en la determinación de sustancias antioxidantes de origen vegetal, entre estas los fenoles son compuestos de estructura aromática con uno o varios grupos hidroxilo, libres o sustituidos, característicos en todos los tejidos vegetales. El compuesto básico es el fenol, pero la mayor parte de estos compuestos son polifenoles, en la actualidad se conocen más de 8000 sustancias en los vegetales que pueden ser clasificados de acuerdo con su estructura. Entre los más importantes están los flavonoides, como las antocianinas, catequinas y epicatequinas. El subgrupo de los fenilpropanoides que incluye los derivados del ácido hidroxicinámico, como cafeína, ferúlico, sináptico y p-cumárico; estilbenoides, como el resveratrol y derivados del ácido benzoico, como el gálico y algunos ácidos elágicos, entre otros (Elnour et al., 2018).

Se ha señalado que la fase fenológica de la planta afecta el metabolismo secundario y la producción de las sustancias antioxidantes (Isah, 2019). Las plantas responden a variaciones ambientales, como las causadas por la época del año, la fertilización y a los daños ocasionados por plagas y patógenos, como mecanismo de protección del tejido dañado, lo que influye en la producción de metabolitos secundarios que regulan la actividad metabólica (Mamani de Marchese & Filippone, 2018). El conocimiento de la fluctuación metabólica durante el desarrollo fisiológico permite el diseño de programas de cosecha óptima, que implican una interrupción mínima del ciclo normal de la planta en un hábitat natural (Fattahi et al., 2016).

En Venezuela, se reportó parte del contenido de sustancias antioxidantes en hojas y frutos de guayabo (Pérez-Pérez et al., 2014; Pérez-Pérez et al., 2019; Rivero-Maldonado et al., 2013). Sin embargo, no se conoce el efecto de las fases fenológicas sobre la cantidad. Lo antes planteado permite sustentar el enfoque sobre el comportamiento de las plantas de guayabo del presente estudio, en relación con el contenido de metabolitos secundarios o sustancias antioxidantes, como fenoles, flavonoides y la capacidad antioxidante, en las diferentes fases fenológicas de la planta. Por lo que, el objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto de las fases fenológicas en el contenido de sustancias antioxidantes de guayabo (*Psidium guajava* L.).

Materiales y métodos

Sitio de estudio

La investigación se desarrolló durante los meses de octubre 2012 a septiembre 2013, en el Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola de la Corporación de Desarrollo de la Región Zuliana (CESID-Frutícola y Apícola-CORPOZULIA), ubicado en la altiplanicie de Maracaibo en el municipio Mara, estado Zulia, Venezuela ($10^{\circ}49'46,6''\text{LN}$; $71^{\circ}46'29,2''\text{LO}$). Se caracteriza por ser un bosque muy seco tropical (Ewel et al., 1976), con suelos Typic Haplargids y precipitación de 600 a 800 mm; evaporación de 2000 a 2200 mm, temperatura de 28°C y humedad relativa de 75 % (Organización de los Estados Americanos, 1975).

Población y muestra de estudio

La muestra poblacional estuvo conformada por 204 árboles de catorce años de edad, pertenecientes a la colección promisoria de guayabos criolla roja (*Psidium guajava* L.), del banco de germoplasma del CESID-Frutícola y Apícola CORPOZULIA. Las principales características de la fruta de este genotipo son masa promedio de 190,23 g, forma redondeada, de pulpa roja, grados brix entre 5,33 y 8,33 y árboles de alta precocidad con inicio de producción ocho meses después del trasplante. Se tomó una muestra de veinte individuos, seleccionados por su uniformidad en la forma de la copa e identificados con el mismo código del banco de germoplasma: G13, G15, H13, H15, I2, I13, I14, J13, J15, K2, K5, K6, K12, K13, K15, L2, L3, L4, L6 y L12. Las plantas estaban sembradas a una distancia de 7x7 m, con riego interdiario por microaspersión a 90 L/h y con aplicación de fertilizante NPK, fórmula 10-20-20, cada trimestre a una dosis de 300 g/planta.

Toma de muestras de tejido vegetal

Las muestras de hojas se recolectaron cada mes, entre octubre de 2012 a septiembre de 2013. Se tomaron seis pares de hojas maduras de la parte media de la copa (Pérez-Pérez et al., 2014), se lavaron con agua de la cañería, se secaron en estufa (Memmert®) a 60°C por 72 h y se molieron (Moulinex®) (Pérez-Pérez et al., 2014).

Extracción de fenoles y flavonoides

La obtención de los extractos fenólicos se basó en el método de extracción ultrasónica modificado de Kim et al. (2003). Donde, se tomó una porción de 0,5 g del material vegetal seco y pulverizado, se colocó en un matraz de 25 mL y se adicionó 10 mL de la solución extractora de metanol: agua a 80:20 % v/v, luego; se realizó la extracción ultrasónica a 35 kHz (Elma LC 130 H®, Germany) por 20 min y se procedió a filtrar por gravedad, mediante el uso de lana de vidrio, se lavó el material filtrante con 5 mL de metanol. La extracción se repitió una sola vez, los extractos se recolectaron en balón volumétrico de 50 mL y se aforó con solución extractora. El extracto fenólico obtenido se filtró a través de papel de filtro Whatman No. 1 y se conservó en frasco ámbar a 4 °C para la determinación de fenoles (FeT), flavonoides totales (FIT) y capacidad antioxidante.

Determinación de fenoles totales (FeT)

La determinación de fenoles totales (FeT) se realizó según modificaciones a lo propuesto por Kim et al. (2003) y Singleton & Rossi (1965). Para ello, una alícuota de 1 mL del extracto metanólico fue transferido a un balón volumétrico de 25 mL que contenía 9 mL de H₂O destilada. Luego, se adicionó 1 mL del reactivo Folin y Ciocalteu (1927) y se agitó. Luego de 5 min, se agregaron 10 mL de Na₂CO₃ al 7 % m/v y se aforó con H₂O destilada bajo agitación constante. Se procedió a incubar por 90 min en ausencia de luz y se midió la absorbancia mediante espectrofotometría (Spectronic 20 Genesys®, USA) a una longitud de onda de 750 nm. La absorbancia final de cada muestra se comparó con una curva estándar de ácido gálico preparado en H₂Od.

La curva de calibración se elaboró con el mismo procedimiento descrito para la muestra, pero sustituyéndola por 1 mL de cada estándar de ácido gálico (0, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 150, 200, 250, 500 mg/L). El contenido de fenoles totales se expresó en mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 g de muestra seca. La precisión analítica se evaluó mediante las desviaciones estándares relativas (DER) obtenidas para un total de tres repeticiones por muestra.

Determinación de flavonoides totales (FIT)

Los flavonoides totales (FIT) se determinaron de acuerdo con el método colorimétrico modificado de Zhishen et al. (1999). Para ello, se tomó una alícuota de 1 mL del extracto metanólico y se transfirió a un balón volumétrico de 10 mL con 4 mL de H₂Od. A tiempo cero, se agregaron 0,3 mL de una solución de NaNO₂ al 5 % m/v. Después de 5 min, se añadieron 0,3 mL de AlCl₃ al 10 % m/v, transcurridos 6 min, se agregaron 2 mL de NaOH 1 M y se diluyó hasta el volumen final a 10 mL con H₂Od. De inmediato, se midió la absorbancia (Spectronic 20 Genesys®, USA) a una longitud de onda de 510 nm. La absorbancia de la muestra se comparó con una curva estándar de catequina preparada en H₂Od. La curva se construyó con el mismo procedimiento descrito para la muestra pero sustituyéndola por 1 mL de cada patrón de catequina (0, 20, 40, 60, 80, 100, 120 mg/L). El contenido de flavonoides totales se expresó en mg equivalentes de catequina (CAE) por 100 g de muestra seca. La precisión analítica se evaluó a través de las desviaciones estándares relativas (DER) para un total de tres repeticiones por muestra.

Determinación de la capacidad antioxidante (CA)

La capacidad antioxidante se determinó en la población de veinte individuos de guayabo, fue realizada mediante el método de ABTS^{•+}, el cual es aplicado para determinar la capacidad antioxidante en tejidos vegetales. Este está basado en la habilidad para medir la capacidad de las moléculas antioxidantes para eliminar los radicales libres ABTS^{•+}.

La capacidad antioxidant se determinó mediante el método del catión-radical ABTS^{•+} [ácido 2,2'azino-bis-(3-etylbenzotiazolin-6-sulfónico)] reportado por Miller et al. (1993). El catión ABTS^{•+} se generó por la reacción de una solución de ABTS^{•+} 7 mM con una solución de persulfato de potasio 2,45 mM, ambas en una proporción 1:1. Esta mezcla se almacenó en un recipiente de color ámbar cubierto con papel de aluminio y en oscuridad a temperatura ambiente ($\approx 25^{\circ}\text{C}$), por un tiempo mínimo de 16 h antes de su uso, para obtener una solución de color verde-azulada. Posterior a la formación del radical ABTS^{•+}, este se diluyó con etanol hasta obtener una absorbancia de 0,6-0,70 \pm 0,02 a 750 nm (longitud de onda de máxima absorción), esto se logró al mezclar 80 μL de la solución del ABTS^{•+} con 1000-1200 μL de etanol, luego, se le determinó la absorbancia (Spectronic 20 Genesys[®], USA) (Abs radical) $t_{0\text{min}}$. Para el análisis de las muestras se añadieron a la dilución del ABTS^{•+} óptimo, 20 μL del extracto y después se dejó reaccionar por 5 min en oscuridad, para proceder a la lectura espectrofotométrica (Spectronic 20 Genesys[®], USA) a 750 nm (Abs radical + antioxidante) $t_{5\text{min}}$ (Kim et al., 2003).

La capacidad antioxidant de la muestra se determinó según la ecuación 1.

$$\text{CA} = (\text{Abs radical}) t_{0\text{min}} - (\text{Abs radical} + \text{antioxidante}) t_{5\text{min}}. \quad \text{Ec. 1}$$

Donde: CA, capacidad antioxidant; Abs, absorbancia y t, tiempo transcurrido (minutos).

La capacidad antioxidant se calculó a través de la curva estándar de ácido gálico. La curva se construyó con el mismo procedimiento aplicado a la muestra, pero esta se sustituyó por 20 μL de cada patrón de ácido gálico (0,5; 1; 3; 5; 10; 15; 20; 30 y 40 mg/L), como blanco se utilizó etanol puro. La capacidad antioxidant se expresó en mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 g de muestra seca. La precisión analítica se evaluó a través de las desviaciones estándares relativas (DER) para un total de tres repeticiones por muestra.

Fenología de la planta

La copa de la planta se dividió de forma imaginaria en cuatro cuadrantes (norte, este, oeste y sur) y se observaron durante doce meses a una frecuencia mensual, en función a la masa total de la copa (100 %). Se observó la brotación vegetativa, definida como la presencia de brotes y hojas, la floración, definida por la presencia de flores y botones florales, y la fructificación, definida por la presencia de frutos en cualquier estado de desarrollo. Despues, se cuantificó el valor porcentual de estos eventos sin considerar la masa foliar (Marín et al., 2004).

Análisis estadístico

Se utilizó estadística descriptiva para las variables sustancias antioxidantes y fenología de la planta. Los datos de contenidos de fenoles y flavonoides totales y de capacidad antioxidant en las diferentes fases fenológicas de la planta, se analizaron mediante la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. Con la prueba de Friedman se observaron diferencias ($p < 0,01$) entre las medianas de los rangos de las variables evaluadas y el test de Wilcoxon. Estas pruebas se llevaron a cabo en el software SPSS, Versión 23.

Resultados

Cantidad de flores, frutos y brotes vegetativos en las diferentes fases fenológicas del guayabo

El porcentaje de flores determinado en el periodo de un año fue menor a los porcentajes de frutos y brotes vegetativos; esto indicó que las plantas estaban en la fase reproductiva (38,99 % mensual/planta), con flores y frutos. Además, la cantidad de frutos y brotes vegetativos tuvieron valores similares (Figura 1). Durante el periodo

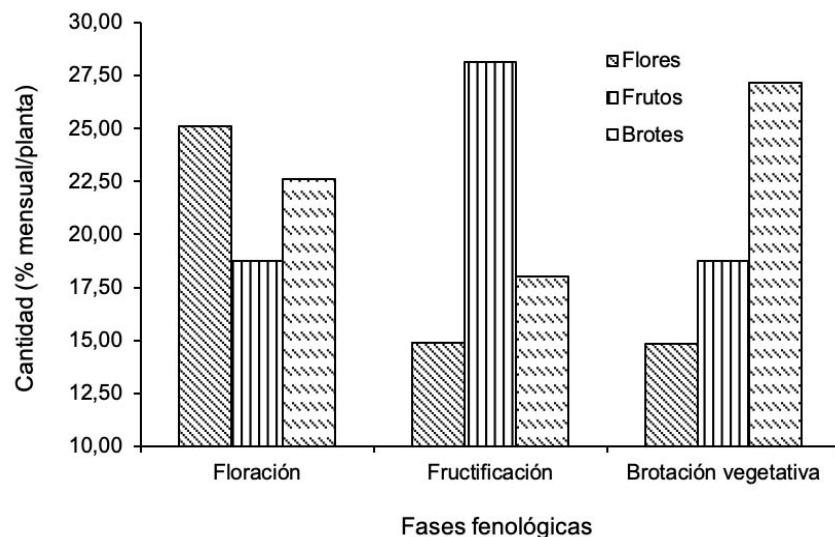


Figura 1. Cantidad de flores, frutos y brotes vegetativos (% mensual/planta) en las diferentes fases fenológicas de guayabos (*Psidium guajava* L.), del banco de germoplasma del Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola de la Corporación de Desarrollo de la Región Zuliana, estado Zulia, Venezuela. 2013.

Figure 1. Quantity of flowers, fruits and vegetative shoots (% monthly/plant) in the different phenological phases of guavas (*Psidium guajava* L.) belonging to the germplasm bank of the Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola de la Corporación de Desarrollo de la Región Zuliana, Zulia state, Venezuela. 2013.

de la evaluación, se observaron las fases fenológicas: fructificación, brotación vegetativa y floración, de las cuales la primera fue la de mayor ocurrencia, seguida por la de brotación vegetativa.

En la fase de floración el porcentaje de flores mensual/planta fue de 25,11 %, el cual se correspondió con el mayor porcentaje de flores, propio de esta fase fenológica; seguido por 14,91 % mensual por planta en la fase de fructificación y 14,82 % mensual por planta en la fase de brotación vegetativa. Se observó que hubo pocos frutos durante la floración, los cuales aumentaron en la fructificación y disminuyeron en la brotación vegetativa, donde el valor se igualó al registrado en la floración. Con respecto a los brotes vegetativos, disminuyeron de floración a fructificación y aumentaron de fructificación a brotación vegetativa; en esta última fase, los brotes vegetativos prevalecieron y estuvieron seguidos por los frutos y las flores (Figura 1).

En relación con el efecto del ambiente sobre los eventos fenológicos de producción de flores, frutos y brotes vegetativos, la mayor media fue para los brotes vegetativos, evento que se caracterizó por una tendencia hacia el incremento entre los meses de octubre a noviembre, cuando comenzó a descender para luego alcanzar la mayor media durante el año en el mes de mayo, momento en el cual se mantuvo con una media superior a la registrada en el primer pico de brotación vegetativa (octubre a diciembre). Este comportamiento coincidió con la ocurrencia de precipitación de octubre a febrero, viéndose afectada esta fase en el mes de marzo, ante la ausencia de precipitación, no así para los demás eventos climáticos registrados (Figura 2).

Contenidos de fenoles y flavonoides totales y capacidad antioxidante

En cuanto a los contenidos de fenoles y flavonoides totales y la capacidad antioxidante, una vez realizado el análisis exploratorio de los datos, se observó mediante la prueba de Shapiro-Wilk, que las variables fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante no siguieron una distribución normal ($p<0,05$). Las plantas presentaron los

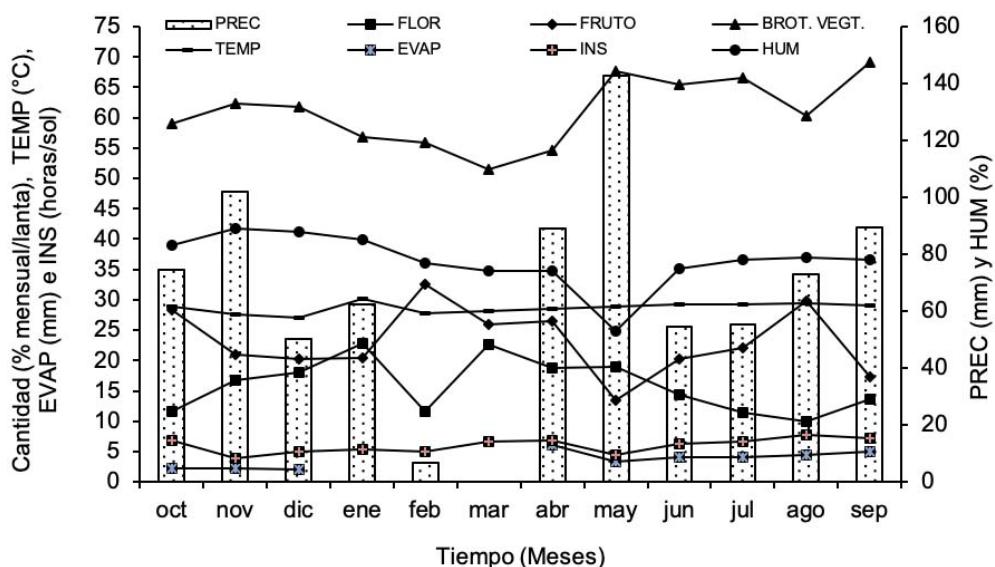


Figura 2. Cantidad de flores, frutos y brotes vegetativos (% mensual/planta) durante un año de evaluación de guayabos (*Psidium guajava* L.), del banco de germoplasma del Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola de la Corporación de Desarrollo de la Región Zuliana y las condiciones climáticas de precipitación, temperatura, humedad relativa, evaporación e insolación obtenida de la Base Aérea Rafael Urdaneta, Ministerio del Poder Popular para la Defensa de la República Bolivariana de Venezuela, estado Zulia, Venezuela. 2013.

FLOR: flores, FRUTO: frutos, BROT. VEGT.: brotes vegetativos; PREC: precipitación, TEMP: temperatura, HUM: humedad relativa, EVAP: evaporación, INS: insolación.

Figure 2. Quantity of flowers, fruits and vegetative shoots (% monthly/plant) during a year of evaluation of guavas (*Psidium guajava* L.) belonging to the germplasm bank of the Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola de la Corporación de Desarrollo de la Región Zuliana and the climatic conditions of precipitation, temperature, relative humidity, evaporation and insolation obtained from the Rafael Urdaneta Air Base, Ministerio del Poder Popular para la Defensa de la República Bolivariana de Venezuela, Zulia state, Venezuela. 2013.

FLOR: flowers, FRUTO: fruits, BROT. VEGT.: vegetative shoots; PREC: precipitation, TEMP: temperature, HUM: relative humidity, EVAP: evaporation, INS: insolation.

compuestos analizados, los fenoles se cuantificaron en mayor magnitud con una media de 7990,79 mg GAE/100 g, comparado con los valores de capacidad antioxidante y flavonoides en la muestra analizada.

El contenido de fenoles varió durante la evaluación. En el período de octubre a marzo hubo un incremento sostenido hasta alcanzar el máximo valor, para luego disminuir hasta el mes de junio, cuando se asemejó al observado en enero; el segundo incremento, pero menos acentuado, ocurrió de junio a agosto y se estabilizó de agosto a septiembre. El aumento sostenido en el contenido de fenoles coincidió con la baja precipitación ocurrida en el mes de febrero, así como con la ausencia de la misma en el mes de marzo, el cual descendió entre los meses de marzo a junio, con la ocurrencia de precipitaciones (Figura 3).

En el contenido de flavonoides, se observó menor variación durante la evaluación; sin embargo, se visualizaron ligeros picos en los meses de noviembre a enero, momento a partir del cual se presentó una leve disminución en el contenido para luego estabilizarse durante los meses de julio a septiembre. Comportamiento muy similar al observado con la capacidad antioxidante, a excepción del mes de enero cuando se registró un ligero incremento para luego casi igualarse al contenido de flavonoides totales registrado en el mes de febrero. La posible relación del contenido de flavonoides totales o de capacidad antioxidante determinada en hojas de guayabo con las condiciones ambientales, no fue tan evidente como la observada entre el contenido de fenoles totales y la precipitación de la zona (Figura 3).

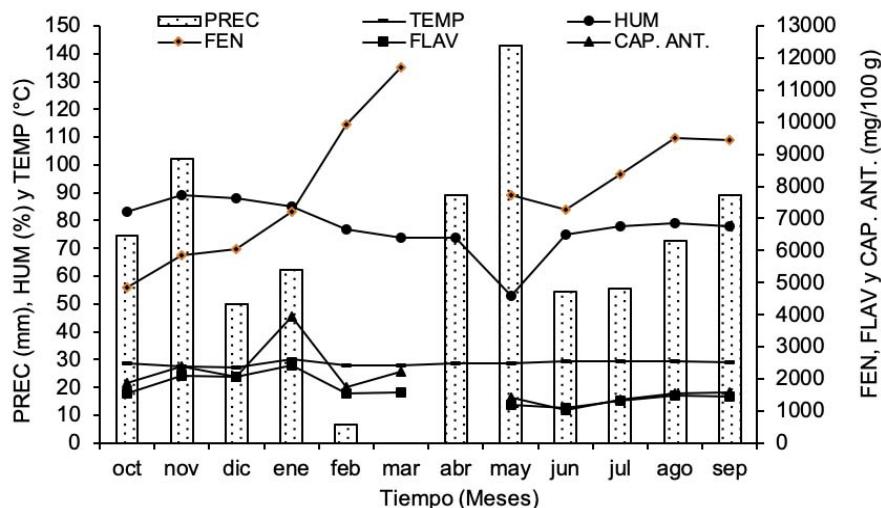


Figura 3. Contenidos de fenoles y flavonoides totales y capacidad antioxidante en hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.). Laboratorio de Cromatografía, Instituto de Investigaciones Agronómicas, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, plantas pertenecientes al banco de germoplasma del Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola de la Corporación de Desarrollo de la Región Zuliana y las condiciones climáticas de precipitación, temperatura y humedad relativa obtenida de la Base Aérea Rafael Urdaneta, Ministerio del Poder Popular para la Defensa de la República Bolivariana de Venezuela, estado Zulia, Venezuela. 2013.

FEN: contenido de fenoles totales, FLAV: contenido de flavonoides totales, CAP. ANT: capacidad antioxidante, PREC: precipitación, TEMP: temperatura, HUM: humedad relativa.

Figure 3. Total phenol and flavonoid contents and antioxidant capacity in guava (*Psidium guajava* L.) leaves. Chromatography Laboratory, Agronomic Research Institute, Agronomy School, Universidad de Zulia, plants belonging to the germplasm bank of the Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola de la Corporación de Desarrollo de la Región Zuliana and the climatic conditions of precipitation, Temperature and relative humidity obtained from the Rafael Urdaneta Air Base, Ministerio del Poder Popular para la Defensa de la República Bolivariana de Venezuela, Zulia state, Venezuela. 2013.

FEN: total phenol content, FLAV: total flavonoid content, CAP. ANT: antioxidant capacity, PREC: precipitation, TEMP: temperature, HUM: relative humidity.

Contenidos de fenoles y flavonoides totales y capacidad antioxidante en las fases fenológicas

En la fase de floración, los fenoles resultaron superiores a la capacidad antioxidante y a los flavonoides, estas variables tuvieron una tendencia similar en las fases de fructificación y brotación vegetativa. Los fenoles en floración, presentaron un valor medio de 6898,64 mg GAE/100 g que se incrementó en la fructificación a 8672,06 mg GAE/100 g y disminuyó en la brotación vegetativa a 7633,11 mg GAE/100 g.

El contenido de flavonoides en la fase de floración estuvo seguido de la fase de brotación vegetativa y la fase de fructificación, se presentó la misma tendencia en los valores al compararlos con los contenidos de fenoles, ya que en la floración se obtuvo un valor medio de 2171,20 mg CAE/100 g, en la fructificación descendió a 1578,96 mg CAE/100 g y en brotación vegetativa descendió a 1552,68 mg CAE/100 g (Figura 4).

Los valores de capacidad antioxidante determinados por el método de ABTS⁺ estuvieron comprendidos en un rango de 3233,56 a 1679,89 mg GAE/100 g (Figura 4), hubo una reducción de 42,01 % de la fase de floración a la fase de fructificación, mientras que de la fase de fructificación a la fase de brotación vegetativa la disminución en la capacidad antioxidante fue menor (10,41 %).

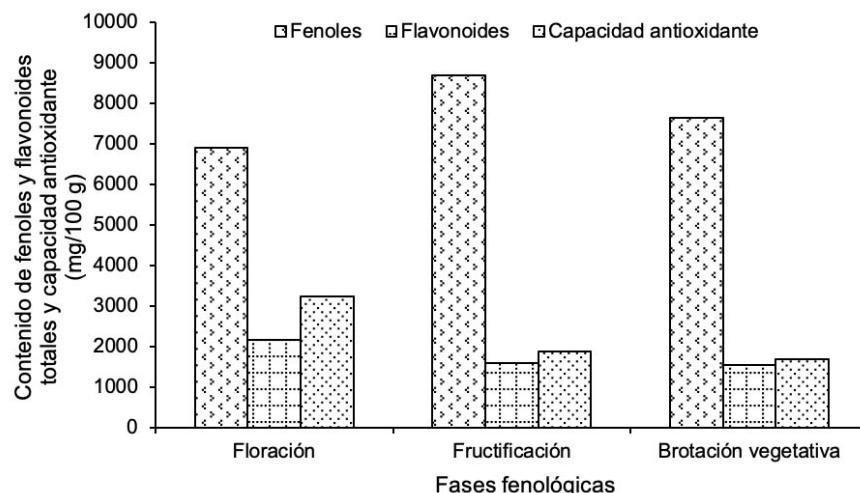


Figura 4. Contenidos de fenoles y flavonoides totales y capacidad antioxidante determinados en hojas en las diferentes fases fenológicas de guayabos (*Psidium guajava* L.). Laboratorio de Cromatografía, Instituto de Investigaciones Agronómicas, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, plantas pertenecientes al banco de germoplasma del Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola de la Corporación de Desarrollo de la Región Zuliana, estado Zulia, Venezuela. 2013.

Figure 4. Content of total phenol and flavonoid contents and antioxidant capacity determined in leaves in the different phenological phases of guavas (*Psidium guajava* L.). Chromatography Laboratory, Agronomic Research Institute, Agronomy School, Universidad del Zulia, plants belonging to the germplasm bank of the Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola de la Corporación de Desarrollo de la Región Zuliana, Zulia state, Venezuela. 2013.

Relación entre los contenidos de fenoles y flavonoides totales, la capacidad antioxidante y las fases fenológicas

El coeficiente de correlación de Spearman fue lineal positivo y significativo, pero bajo ($r=0,17$; $p=0,08$) entre las cantidades de fenoles y de flavonoides. Altos y bajos valores de fenoles se correspondieron con altos y bajos valores de flavonoides, de manera proporcional, sin ser una relación de causa efecto, mientras que la relación entre los flavonoides y la capacidad antioxidante fue altamente significativa ($r=0,83$; $p=0,001$) y alta (Cuadro 1).

Otra importante correlación (Cuadro 1) se presentó entre la floración y la capacidad antioxidante ($r=0,27$; $p=0,001$), con una correlación positiva, altamente significativa y baja, el aumento o disminución de los valores de capacidad antioxidante se correspondieron con el aumento o disminución de los valores del porcentaje de flores mensual/planta.

Hubo una correlación negativa y altamente significativa entre el porcentaje de fructificación que fue baja con los porcentajes de floración ($r=-0,33$; $p=0,001$) y alta con los porcentajes de brotación vegetativa ($r=-0,74$; $p=0,001$) mensual/planta, así como entre la capacidad antioxidante y los valores de porcentaje de brotación vegetativa mensual/planta que fue baja ($r=-0,20$; $p=0,001$) (Cuadro 1). Alto porcentaje de fructificación se correspondió con bajo porcentaje de floración y brotación vegetativa; alto valor de capacidad antioxidante coincidió con bajo valor de porcentaje de brotación vegetativa mensual/planta. Se utilizó el coeficiente de rangos de Spearman, motivado a la presencia de no normalidad en las variables.

La mayor producción de flores de guayabo marcó el desarrollo de la fase de floración de esta especie durante la evaluación, momento durante el cual se observó una mayor producción de flavonoides, fitoquímico que contribuye a la actividad antioxidante de las plantas, de allí que se encontrara una correlación positiva, altamente significativa y baja ($r=0,27$; $p=0,001$), entre la floración y la capacidad antioxidante determinada en la hoja (Cuadro 1).

Cuadro 1. Coeficientes de correlación de Spearman entre las variables contenido de fenoles y flavonoides totales y capacidad antioxidant en hojas de plantas de guayabo (*Psidium guajava* L.), porcentaje de flores, frutos y brotes vegetativos (mensual/planta). Laboratorio de Cromatografía, Instituto de Investigaciones Agronómicas, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, plantas pertenecientes al banco de germoplasma del Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola de la Corporación de Desarrollo de la Región Zuliana, estado Zulia, Venezuela. 2013.

Table 1. Spearman's correlation coefficients between the total phenol and flavonoid contents and antioxidant capacity in guava (*Psidium guajava* L.) leaves, percentage of flowers, fruits, and vegetative shoots (monthly/plant). Chromatography Laboratory, Agronomic Research Institute, Agronomy School, Universidad de Zulia, plants belonging to the germplasm bank of the Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola de la Corporación de Desarrollo de la Región Zuliana, Zulia state, Venezuela. 2013.

Variables	Flavonoides	Capacidad antioxidant	Flores	Frutos	Brotes vegetativos
Fenoles	0,177**	0,154*	-0,019	0,150*	-0,063
Flavonoides		0,829**	0,126	0,069	-0,091
Capacidad antioxidant			0,269**	0,112	-0,205**
Flores				-0,329*	0,001
Frutos					-0,745**

**La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas). *La correlación es significativa en el nivel 0,05 (2 colas). N = 220. / **Correlation is significant at level 0.01 (2 tails). *Correlation is significant at level 0.05 (2 tails). N = 220.

Contenidos de fenoles y flavonoides totales y capacidad antioxidant por planta

La planta I-13 registró el mayor contenido de fenoles y flavonoides totales, capacidad antioxidant y porcentaje de fructificación durante la evaluación, en comparación con el resto de las plantas, no así para floración y brotación vegetativa en cuyas fases solo presentó una media de 16 % y 17,75 %, respectivamente (Cuadro 2). El mayor porcentaje de floración y brotación vegetativa se registró en las plantas K-2 y K-13, respectivamente (Cuadro 3). Las plantas G-13, G-15, J-15 y K-6, presentaron baja variación en el contenido de flavonoides totales, al igual que en las plantas I-14, I-2, K-12 y K-5 en el contenido de flavonoides totales y la capacidad antioxidant (Cuadros 2 y 3).

Contenidos de fenoles y flavonoides totales y capacidad antioxidant en las diferentes fases fenológicas de guayabo

La prueba de Friedman mostró diferencias en los contenidos de fenoles y flavonoides totales y la capacidad antioxidant, lo cual es un indicador de que la fase fenológica de la planta afectó en forma altamente significativa ($p<0,001$). La prueba de Wilcoxon mostró diferencias significativas solo entre las fases fenológicas: floración y fructificación ($p<0,001$) y fructificación y brotación vegetativa ($p<0,001$). Mientras que para el contenido de flavonoides totales y la capacidad antioxidant solo se observaron diferencias significativas entre las fases de floración y fructificación ($p<0,001$).

Cuadro 2. Media y desviación estándar del contenido de fenoles y flavonoides totales y capacidad antioxidante determinado en hojas, cantidad de flores, frutos y brotes vegetativos (% mensual/planta) de plantas de guayabo (*Psidium guajava* L.). Laboratorio de Cromatografía, Instituto de Investigaciones Agronómicas, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, plantas pertenecientes al banco de germoplasma del Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola de la Corporación de Desarrollo de la Región Zuliana, estado Zulia, Venezuela. 2013.

Table 2. Mean and standard deviation of the total phenols and flavonoids contents and antioxidant capacity determined in leaves, number of flowers, fruits, and vegetative shoots (% monthly/plant) of guava (*Psidium guajava* L.) plants. Chromatography Laboratory, Agronomic Research Institute, Agronomy School, Universidad de Zulia, plants belonging to the germplasm bank of the Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola de la Corporación de Desarrollo de la Región Zuliana, Zulia state, Venezuela. 2013.

Planta	Variables (Media/desviación estándar)					
	Fenoles totales	Flavonoides totales	Capacidad antioxidante	Flores	Frutos	Brotes vegetativos
	(mg/100 g)			(% mensual/planta)		
G-13	7939,38	1758,21	2427,05	21,75	27,00	17,50
	2809,34	368,81	1551,86	4,56	5,12	4,24
G-15	7914,79	1636,60	2525,96	20,00	27,75	18,00
	2646,91	285,47	1129,44	4,59	4,09	2,74
H-13	8071,84	1658,46	2470,51	19,50	28,00	17,75
	2313,05	720,85	1576,03	6,10	5,20	4,87
H-15	7263,20	1514,40	2364,24	19,00	27,00	19,25
	2360,61	500,66	1463,22	5,26	5,05	4,11
I-13	11835,93	3104,37	3297,24	16,00	29,50	17,75
	5301,59	1211,95	1560,30	6,58	5,63	5,33
I-14	8441,03	1670,29	1735,66	13,12	28,44	16,87
	4065,14	211,98	131,45	7,25	7,59	4,62
I-2	7032,79	1481,84	1817,84	21,25	25,21	18,33
	3658,09	211,15	216,07	2,24	3,48	2,70
J-13	7402,86	1820,19	2577,24	19,28	25,89	19,46
	2447,17	431,28	1282,48	5,20	4,66	3,05
J-15	8250,38	1761,34	2877,38	15,00	27,50	19,79
	3833,23	274,46	1340,01	7,03	4,61	5,27
K-12	9063,04	2349,74	2558,46	15,42	27,08	18,96
	3186,84	461,84	367,20	7,32	6,64	4,36

Cuadro 3. Media y desviación estándar del contenido de fenoles y flavonoides totales y capacidad antioxidante determinado en hojas, cantidad de flores, frutos y brotes vegetativos (% mensual/planta) de plantas de guayabo (*Psidium guajava* L.). Laboratorio de Cromatografía, Instituto de Investigaciones Agronómicas, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, plantas pertenecientes al banco de germoplasma del Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola de la Corporación de Desarrollo de la Región Zuliana, estado Zulia, Venezuela. 2013.

Table 3. Mean and standard deviation of the total phenols and flavonoids contents and antioxidant capacity determined in leaves, number of flowers, fruits, and vegetative shoots (% monthly/plant) of guava (*Psidium guajava* L.) plants. Chromatography Laboratory, Agronomic Research Institute, Agronomy School, Universidad de Zulia, plants belonging to the germplasm bank of the Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola de la Corporación de Desarrollo de la Región Zuliana, Zulia state, Venezuela. 2013.

Planta	Variables (Media/desviación estándar)					
	Fenoles totales	Flavonoides totales	Capacidad antioxidante	Flores	Frutos	Brotes vegetativos
	(mg/100 g)				(% mensual/planta)	
K-13	7407,81	1698,81	2185,58	15,62	27,08	20,00
	2797,00	501,92	565,42	7,53	4,38	4,87
K-15	9479,58	1930,71	2465,81	15,00	26,56	18,44
	4744,92	573,16	664,69	9,52	5,72	4,00
K-2	7664,20	1712,01	2013,83	22,68	19,28	19,82
	2657,49	435,36	590,03	7,12	7,53	6,10
K-5	8571,99	1749,41	2067,27	15,94	25,62	17,81
	3125,36	327,45	263,10	7,66	6,65	4,13
K-6	8430,23	1512,63	1926,24	12,92	29,17	16,67
	4543,00	206,59	453,75	7,22	1,91	5,77
L-12	10103,87	1683,89	2172,64	10,83	27,08	15,00
	5165,17	377,11	763,05	7,94	8,32	6,25
L-2	7635,08	1751,65	2119,47	18,50	23,25	17,25
	1855,45	537,60	470,00	7,36	5,77	6,92
L-3	6793,77	1339,11	1824,57	16,87	27,50	16,87
	3107,45	416,13	1322,39	6,49	3,68	5,54
L-4	7084,69	1607,05	2623,82	20,00	21,75	19,50
	1925,93	458,40	1205,57	9,60	6,77	4,73
L-6	7385,21	1603,01	2449,86	18,25	25,00	19,50
	2521,28	374,90	1575,63	6,99	6,43	5,63

Discusión

Las plantas de guayabo presentaron los tres órganos (flor, fruto y brote vegetativo). La brotación vegetativa y reproductiva fue mayor durante el año de la evaluación (Marín et al., 2000). Se observó la presencia de frutos cuajados en todas las plantas, con el mayor porcentaje durante el mes de febrero y de agosto, debido al comportamiento propio de esta especie, la cual mantiene activa la producción de órganos durante el año (Marín et al., 2000).

al., 2004), con una variación en la intensidad de ocurrencia, que responde a las condiciones climáticas que imperan en la zona (Marín et al., 2000; 2004; Quirós et al., 2009).

Los brotes vegetativos registrados durante la floración y la brotación vegetativa se asociaron con la preparación de los órganos vegetativos, como las hojas, que son los proveedores de carbohidratos a las estructuras reproductoras que darán origen a los frutos. Asimismo, la brotación vegetativa observada durante la fructificación, es un indicativo del solapamiento de las fases fenológicas dada la continuidad de la producción del guayabo (Marín et al., 2000). El mayor porcentaje de flores ocurrido en el mes de marzo, tuvo relación con el mayor porcentaje de frutos registrado en el mes de agosto (Singh, 2011), como respuesta a la mayor cantidad de agua disponible (Marín et al., 2000; Mendoza et al., 2017; Shivpoojan et al., 2018).

El guayabo presentó una clara variación cuantitativa entre los individuos de la población. Todos los individuos sintetizaron los compuestos analizados, pero no en las mismas cantidades. El contenido de fenoles fue mayor que el de flavonoides como lo reportaron Camarena-Tello et al. (2018) en su estudio de *P. guajava* (28 521 y 18 077 mg/100 g, respectivamente) y Aguado et al. (2013) en *Aloysia polystachya* (23,2 y 3,7 mg/100 g, respectivamente) y así como de capacidad antioxidante. Los contenidos de fenoles y flavonoides de hojas de guayabo fueron inferiores a los reportados por Pérez-Pérez et al. (2014) para *P. guajava* (9071,46 y 2845,21 mg/100 g, respectivamente), lo cual pudo ser debido al efecto planta (Pérez-Pérez et al., 2019) o factores abióticos como la época del año y la fertilización (Lattanzio, 2013), ante lo cual aumentar el número de muestras sería una posible recomendación.

El guayabo presentó las diferentes fases fenológicas durante el año (Marín et al., 2004). Durante la fructificación se registró el mayor contenido de fenoles en hoja (Piasecka et al., 2017) en respuesta al ambiente (Coutinho, 2013; Sampaio et al., 2016; Yuan et al., 2019). En la hoja se sintetizan los compuestos fenólicos que luego son transportados a otros tejidos y órganos (Pawar & Rana, 2019), los frutos fueron los más importantes, seguido de las hojas, en utilizar los nutrientes y los carbohidratos para su desarrollo (Rodrigues Salgado et al., 2008). Las plantas durante el crecimiento determinan, entre otros factores, el tipo y la concentración de moléculas secundarias producidas (Isah, 2019).

En la fase de floración la demanda de fitoquímicos estuvo asociada a los flavonoides (Ben Farhat et al., 2015). Los flavonoides constituyen un grupo de compuestos que desempeñan una importante función en las interacciones que una planta establece con su entorno (Vicente & Boscaiu, 2018), como intervenir en el desarrollo del tubo polínico de las flores (Wang et al., 2020). Se observó que los flavonoides (método colorimétrico) contribuyeron a la capacidad antioxidante (método del catión radical ABTS^{•+}) determinada en hoja (Camarena-Tello et al., 2018; Tolić et al., 2017; Wang et al., 2017) de guayabo (Tolić et al., 2017). La capacidad antioxidante de los vegetales puede derivar de diversos compuestos con actividad biológica (Kumarappan et al., 2012).

Las diferencias entre las fases de fructificación y floración de plantas de guayabo, en relación con el contenido de fenoles, coincidieron con lo obtenido por Naghiloo et al. (2012a, 2012b) en *Astragalus compactus* L. (828 y 501 mg/100 g, respectivamente) y Kumar et al. (2014) en *Mangifera indica* (3510 y 3250 mg/100 g, respectivamente), quienes señalaron que el contenido de fenoles fue significativamente mayor en la fase de fructificación, no así en la fase vegetativa y de floración. Estudios previos señalaron diferencias entre las fases de floración (244,81 μ mol/L TE/mg) y fructificación (169,06 μ mol/L TE/mg), en la capacidad antioxidante (ABTS^{•+}), esta fue mayor durante la floración (Ben Farhat et al., 2015), tal como se observó en el presente estudio. La capacidad antioxidante determinada en guayabo (3233,56 mg/100 g), podría atribuirse a la presencia de polifenoles, cuya estructura química actúa como atrapadora de radicales libres (Aguado et al., 2013; Morais-Braga et al., 2017).

La variabilidad encontrada, durante el año de la evaluación, en el contenido de fenoles determinado en la hoja de guayabo en las diferentes fases fenológicas, indican que durante el ciclo de vida, las diferentes etapas de desarrollo de la planta, afectan el contenido de metabolitos secundarios y causan variaciones en la concentración durante el ciclo, según las condiciones ambientales y su necesidad (Verma & Shukla, 2015). Dicha variación está vinculada con la fotosíntesis, la síntesis de proteínas, la actividad enzimática, la absorción de nutrientes, entre

otros (Sharma et al., 2012), y muestran variaciones en diferentes niveles genéticos, fisiológicos y de desarrollo en respuesta a factores ambientales, como la disponibilidad de nutrientes, la intensidad de la luz, entre otros (Naghiloo et al., 2012a).

La época de fructificación de guayabo está caracterizada por la alta temperatura y la mayor insolación (noroeste de la planicie de Maracaibo, municipio Mara, estado Zulia, 60 m s. n. m.). Estas pueden causar incremento en la acumulación de los compuestos fenólicos (Huyskens-Keil et al., 2020). La planta es probable que lo acumule para protegerse de la radiación solar (Naghiloo et al., 2012b). La luz incrementa la proporción de biosíntesis de compuestos fenólicos por un incremento en la actividad de las enzimas, en particular la fenilalanina amoníaco (PAL), que juega un rol importante en la conversión de fenilalanina en ácido cumárico, en vista de que son el precursor inicial de las moléculas involucradas en la síntesis de compuestos fenólicos de la planta (Huyskens-Keil et al., 2020).

Conclusiones

Las plantas de guayabo presentaron de forma simultánea, las fases fenológicas de fructificación, floración y brotación vegetativa durante el periodo de evaluación. El bajo porcentaje de floración y brotación vegetativa se correspondió con un mayor porcentaje de fructificación. La fase de frutificación prevaleció en respuesta fisiológica a la ocurrencia de precipitación en la zona de estudio.

El contenido de sustancias antioxidantes en las hojas de guayabo, mostró una variación cuantitativa hacia el mayor contenido de fenoles totales, seguido de flavonoides totales y de capacidad antioxidante. Los contenidos de fenoles y flavonoides totales fueron los que contribuyeron con la capacidad antioxidante.

Las fases fenológicas tuvieron un efecto notable en el contenido sustancias antioxidantes de las plantas de guayabo. Durante la fase de fructificación se alcanzó el mayor contenido de fenoles totales en ausencia de precipitación, así como altas temperaturas e insolación en la zona de estudio. En la fase de floración se registró mayor contenido de flavonoides totales y en la fase de brotación vegetativa se cuantificó mayor capacidad antioxidante y contenido de flavonoides totales.

Referencias

- Aguado, M. I., Nuñez, M. B., Bela, A. J., Okulik, N. B., & Bregni, C. (2013). Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de un extracto etanólico de *Aloysia polystachya* (Griseb.) Mold. (Verbenaceae). *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 44(3), 46–51.
- Ben Farhat, M., Jordán, M. J., Chaouch-Hamada, R., Landoulsi, A., & Sotomayor, J. A. (2015). Changes in phenolic profiling and antioxidant capacity of *Salvia aegyptiaca* L. by products during three phenological stages. *LWT - Food Science and Technology*, 63(1), 791–797. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.015>
- Camarena-Tello, J. C., Martínez-Flores, H. E., Garnica-Romo, M. G., Padilla-Ramírez, J. S., Saavedra-Molina, A., Alvarez-Cortes, O., Bartolomé-Camacho, M. C., & Rodiles-López, J. O. (2018). Quantification of phenolic compounds and *in vitro* radical scavenging abilities with leaf extracts from two varieties of *Psidium guajava* L. *Antioxidants*, 7(3), Article 34. <https://doi.org/10.3390/antiox7030034>
- Coutinho, A. (2013). *Extração de tanino em folhas, sementes e frutos verdes de cinamomo (Melia azedarach L.) com diferentes tipos de solventes* [Tese de grado, Universidade Tecnológica Federal do Paraná]. Repositório da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/6501>

- Díaz, G., & Rodríguez, G. (2016). Efecto de la aplicación de tres bioestimulantes sobre el desarrollo y productividad en plantas de guayaba (*Psidium guajava* L.) “Cubana Roja”. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 42(1), 1–13.
- Elnour, A. A. M., Mirghani, M. E. S., Musa, K. H., Kabbashi, N. A., & Alam, M. Z. (2018). Challenges of extraction techniques of natural antioxidants and their potential application opportunities as anti-cancer agents. *Healt Science Journal*, 12(5), Article 596. <https://bit.ly/3TgXk1g>
- Ewel, J., Madriz, A., & Tosi, J. (1976). *Zonas de vidas de Venezuela. Memoria explicativa sobre el Mapa Ecológico* (2^a ed.). Ministerio de Agricultura y Cría.
- Fattah, M., Bonfill, M., Fattah, B., Torras-Claveria, L., Sefidkon, F., Cusido, R. M., & Palazon, J. (2016). Perfil de metabolitos secundarios de *Dracocephalum kotschy* Boiss en tres estados fenológicos utilizando métodos uni y multivariados. *Revista de Investigación Aplicada sobre Plantas Medicinales y Aromáticas*, 3(4), 177–185. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2016.04.002>
- Folin, O., & Ciocalteau, V. (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 73(2), 627–650. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)84277-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)84277-6)
- Gonçalves Ferreira Macêdo, J., Melo Linhares Rangel, J., de Oliveira Santos, M., Camilo, C. J., Martins da Costa, J. G., & de Almeida Souza, M. M. (2021). Therapeutic indications, chemical composition and biological activity of native Brazilian species from *Psidium* genus (Myrtaceae): A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 278, Article 114248. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114248>
- Huyskens-Keil, S., Eichholz-Dündar, I., Hassenberg, K., & Herppich, W. B. (2020). Impact of light quality (white, red, blue light and UV-C irradiation) on changes in anthocyanin content and dynamics of PAL and POD activities in apical and basal spear sections of white asparagus after harvest. *Postharvest Biology and Technology*, 161, Article 111069. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.111069>
- Isah, T. (2019). Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biological Research*, 52, Article 39. <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0246-3>
- Kim, D. -O., Weon Jeong, S., & Lee, C. L. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81(3), 321–326. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00423-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00423-5)
- Kumar, M., Ponnuswami, V., Jeya Kumar, P., & Saraswathy, S. (2014). Influence of season affecting flowering and physiological parameters in mango. *Scientific Research and Essays*, 9(1), 1–6. <https://doi.org/10.5897/SRE2013.5775>
- Kumarappan, C., Thilagam, E., & Mandal, S. C. (2012). Antioxidant activity of polyphenolic extracts of *Ichnocarpus frutescens*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19(3), 349–355. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.004>
- Lattanzio, V. (2013). Phenolic compounds: Introduction. In K. Gopal Ramawat, J. -M. Mérillon (Eds.), *Natural products* (pp. 1543–1580). Springer-Verlag. https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_57
- Mamani de Marchese, A., & Filippone, M. P. (2018). Bioinsumos: componentes claves de una agricultura sostenible. *Revista de Agronomía del Noroeste Argentino*, 38(1), 9–21. <https://ranar.faz.unt.edu.ar/index.php/ranar/article/view/36/29>
- Marín, M., Casassa, A., Rincón, A., Labarca, J., Hernández, Y., Gómez, E., Viloria, Z., Bracho, B., & Martínez, J. (2000). Comportamiento de tipos de guayabo (*Psidium guajava* L.) injertados sobre *Psidium friedrichsthalianum* Berg-Niedenzu. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*, 17(5), 384–392. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/agronomia/article/view/26369>

- Marín, M., Casassa-Padrón, A., Pérez-Pérez, E., González-Palmar, C., Chirinos, D., González, C., & Sandoval, L. (2004). Enmiendas orgánicas para la recuperación de árboles de guayabo (*Psidium guajava* L.) infestados con *Meloidogyne incognita*. I. Variación de características fenológicas. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*, 21(Supl. 1), 129–136. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/agronomia/article/view/26529>
- Mendoza, I., Peres, C. A., & Morellato, L. P. C. (2017). Continental-scale patterns and climatic drivers of fruiting phenology: A quantitative neotropical review. *Global and Planetary Change*, 148, 227–241. <https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2016.12.001>
- Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., & Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, 84(4), 407–412. <https://doi.org/10.1042/cs0840407>
- Moraes, L. L. C., Freitas, J. L., Matos Filho, J. R., Silva, R. B. L., Borges, C. H. A., & Santos, A. C. (2019). Ethno-knowledge of medicinal plants in a community in the eastern Amazon. *Revista de Ciências Agrárias*, 42(2), 565–573. <https://doi.org/10.19084/rca.15625>
- Morais-Braga, M. F. B., Carneiro, J. N. P., Machado, A. J. T., Sales, D. L., dos Santos, A. T. L., Boligon, A. A., Athayde, M. L., Menezes, I. R. A., Souza, D. S. L., Costa, J. G. M., & Coutinho, H. D. M. (2017). Phenolic composition and medicinal usage of *Psidium guajava* Linn.: Antifungal activity or inhibition of virulence? *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(2), 302–313. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.09.028>
- Naghiloo, S., Movafeghi, A., Delazar, A., Nazemiyeh, H., Asnaashari, S., & Reza Dadpour, M. (2012a). Ontogenetic variation of total phenolics and antioxidant activity in roots, leaves and flowers of *Astragalus compactus* Lam. (Fabaceae). *BioImpacts*, 2(2), 105–109. <https://doi.org/10.5681/bi.2012.015>
- Naghiloo, S., Movafeghi, A., Delazar, A., Nazemiyeh, H., Asnaashari, S., & Reza Dadpour, M. (2012b). Ontogenetic variation of volatiles and antioxidant activity in leaves of *Astragalus compactus* Lam. (Fabaceae). *EXCLI Journal*, 11, 436–443. <https://doi.org/10.17877/DE290R-4964>
- Organización de los Estados Americanos (Ed.). (1975). *Región Zuliana - Repùblica de Venezuela - Estudio para el Aprovechamiento Racional de los Recursos Naturales*. <https://www.oas.org/dsd/publications/Unit/oea28s/ch10.htm>
- Pawar, R., & Rana, V. S. (2019). Manipulation of source-sink relationship in pertinence to better fruit quality and yield in fruit crops: a review. *Agricultural Reviews*, 40(3), 200–207. <https://doi.org/10.18805/ag.R-1934>
- Pérez-Pérez, E., Ettiene, G., Marín, M., Casassa-Padrón, A., Silva, N., Raga, J., González, C., Sandoval, L., & Medina, D. (2014). Determinación de fenoles y flavonoides totales en hojas de guayabo (*Psidium guajava* L.). *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*, 31(1), 60–77. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/agronomia/article/view/27149>
- Pérez-Pérez, E., Saavedra-Guillén, M. M., Ortega Fernández, J. G., Sandoval-Sánchez, L. E., Medina-Lozano, D., Ramírez-Villalobos, M., & Ettiene-Rojas, G. (2019). Flavonoides en frutos de guayabo Criolla Roja (*Psidium guajava* L.). *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 53(3), 236–249. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/boletin/article/view/34916/36891>
- Piasecka, A., Sawikowska, A., Kuczyńska, A., Ogrodowicz, P., Mikołajczak, K., Krystkowiak, K., Gudyś, K., Guzy-Wróbelska, J., Krajewski, P., & Kachlicki, P. (2017). Drought-related secondary metabolites of barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves and their metabolomic quantitative trait loci. *The Plant Journal*, 89(5), 898–913. <https://doi.org/10.1111/tpj.13430>

- Quirós, M., Petit, Y., Sánchez, A., Aponte, O., Poleo, N., Ortega, J., & Dorado, I. (2009). Poblaciones de *Oligonychus psidium* Estebanes y Baker (Acarí: Tetranychidae) correlacionadas con aspectos fenológicos del guayabo (*Psidium guajava* L.). *Revista Científica UDO Agrícola*, 9(1), 208–216. <http://udoagricola.orgfree.com/V9N1UDOAg/V9N1Quiros208.htmfenoles>
- Rahman, M. M., Zaman, S., Mamun, F., Tasnim Gias, Z., Nazmul Alam, M., Ulla, A., Hossain, M. H., Mahmud Reza, H., & Alam, M. A. (2018). Phenolic content analysis in *Psidium guajava* leaves powder by HPLC-DAD system and *in vivo* renoprotective and antioxidant activities in fludrocortisone acetate-induced rats. *Journal of Food Biochemistry*, 42(6), Article e12687. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12687>
- Rivero-Maldonado, G., Pacheco, D., Martín, L. M., Sánchez, A., Quirós, M., Ortega, J., Colmenares, C., & Bracho, B. (2013). Flavonoides presentes en especies de *Psidium* (Myrtaceae) de Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*, 30(2), 217–241. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/agronomia/article/view/27124>
- Rodrigues Salgado, P., Laércio Favarin, J., Aparecida Leandro, R., & Fontão de Lima Filho, O. (2008). Total phenol concentrations in coffee tree leaves during fruit development. *Scientia Agricola*, 65(4), 354–359. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162008000400005>
- Sampaio, B. L., Edrada-Ebel, R. A., & Batista Da Costa, F. (2016). Effect of the environment on the secondary metabolic profile of *Tithonia diversifolia*: A model for environmental metabolomics of plants. *Scientific Reports*, 6, Article 29265. <https://doi.org/10.1038/srep29265>
- Sharma, A., Gangwar, M., Chaturvedi, A., Sinha, A., & Tripathi, Y. B. (2012). Comparative analysis of phenolic and flavonoid content of *Jatropha curcas* Linn. *Plant Archives*, 12(2), 823–826.
- Shivpoojan, Kumar Pandey, A., Ram, R.B., Rajan, R., & Kumar Pandey, R. (2018). Efficacy of foliar application of micronutrients on fruit set in winter season guava (*Psidium guajava* L.) cv. Lalit. *International Journal of Chemical Studies*, 6(5), 2908–2910. <https://www.chemijournal.com/archives/2018/vol6issue5/PartAY/6-5-349-135.pdf>
- Singh, S. P. (2011). Guajava (*Psidium guajava* L.). In E. M. Yahia (Ed.), *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits* (Vol 3., pp. 213–245). Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9780857092885.213>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144>
- Tolić, M. -M., Krbavčić, I. P., Vujević, P., Milinović, B., Jurčević, I. L., & Vahčić, N. (2017). Effects of weather conditions on phenolic content and antioxidant capacity in juice of chokeberries (*Aronia melanocarpa* L.). *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 67(1), 67–74. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2016-0009>
- Verma, N., & Shukla, S. (2015). Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2(4), 105–113. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2015.09.002>
- Vicente, O., & Boscaiu, M. (2018). Flavonoids: Antioxidant compounds for plant defence and for a healthy human diet. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 46(1), 14–21. <https://doi.org/10.15835/nbha46110992>
- Wang, L., Wu, Y., Bei, Q., Shi, K., & Wu, Z. (2017). Fingerprint profiles of flavonoid compounds from different *Psidium guajava* leaves and their antioxidant activities. *Journal of Separation Science*, 40, 3817–3829. <https://doi.org/10.1002/jssc.201700477>

- Wang, L., Ying Lam, P., Lui, A. C. W., Zhu, F. -Y., Chen, M. -X., Liu, H., Zhang, J., & Lo, C. (2020). Flavonoids are indispensable for complete male fertility in rice. *Journal of Experimental Botany*, 71(16), 4715–4728. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa204>
- Weli, A., Al-Kaabi, A., Al-Sabahi, J., Said, S., Amzad Hossain, M., & Al-Riyami, S. (2019). Chemical composition and biological activities of the essential oils of *Psidium guajava* leaf. *Journal of King Saud University Science*, 31(4), 993–998. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.07.021>
- Yazbek, P. B., Matta, P., Passero, L. F., dos Santos, G., Braga, S., Assunção, L., Sauini, T., Cassas, F., Garcia, R. J. F., Honda, S., Barreto, E. H. P., & Rodrigues, E. (2019). Plants utilized as medicines by residents of Quilombo da Fazenda, Núcleo Picinguaba, Ubatuba, São Paulo, Brazil: a participatory survey. *Journal of Ethnopharmacology*, 244, Article 112123. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112123>
- Yuan, Z. -Q., Zhang, R., Wang, B. -X., Gao, B. -Q., Ayana, G., Abara, D., Ashraf, M., & Li, F. -M. (2019). Film mulch with irrigation and rainfed cultivations improves maize production and water use efficiency Ethiopia. *Annals of Applied Biology*, 175, 215–227. <https://doi.org/10.1111/aab.12531>
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555–559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)