



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

JEFATURA DE PROGRAMAS EDUCATIVOS DE POSGRADO

Cuernavaca, Morelos, 30 de noviembre de 2021.

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS.
P R E S E N T E.

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **CARACTERIZACIÓN DE FRUTOS DE GUANÁBANA (*Annona muricata* L.) EN MÉXICO**, que presenta el **M. en C. BENITO TERÁN ERAZO**, mismo que fue desarrollado bajo mi Codirección con el **DR. CARLOS ALBERTO NÚÑEZ COLÍN**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta

DR. IRAN ALIA TEJACAL
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 3304. fagropecuarias@uaem.mx



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

IRAN ALIA TEJACAL | Fecha:2021-11-30 09:07:15 | Firmante

BNfVDUH7eB212hBQzU1pTK+RzC2D6914waHheNpy1HHOIJT6QjVjpWnD/o3HoPPDqUpvqZyMVphTnBVMS3QAPva3LCKTQ5VqN2ECTzJQLjRImYI61ZmTcfl+rQU1hCnYSckX8Oqcy+6loj6TumIkgSWJxkR8ajH78n2EqdwBkl3vyTEhyG5Htrvmx1gDvmi5PIFAkrtD/GQJpagZ9ZLQOVOOrxvW4703r/0u2aeYrvXvkj1Wtmk8+mGe92h7fHiOT285a3Lfs1fD3twwpHEeK88gwCmckAJ3wMJknkgXpy+AgCsLlK3Rn8v/bWmqJM5ClhM50dq9TIVBpU3gpFUZMQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[Vo7huMt6c](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/QKKJEJdlPt1FflnymrQ8RHNttRyJE8fb>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

JEFATURA DE PROGRAMAS EDUCATIVOS DE POSGRADO

Cuernavaca, Morelos, 30 de noviembre de 2021.

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS.
P R E S E N T E.

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **CARACTERIZACIÓN DE FRUTOS DE GUANÁBANA (*Annona muricata* L.) EN MÉXICO**, que presenta el **M. en C. BENITO TERÁN ERAZO**, mismo que fue desarrollado bajo la Codirección del **DR. IRAN ALIA TEJACAL** y el **DR. CARLOS ALBERTO NÚÑEZ COLÍN**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta

DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 3304. fagropecuarias@uaem.mx



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

PORFIRIO JUAREZ LOPEZ | Fecha:2021-11-30 13:56:35 | Firmante

lul3gl+EszrWhK/kIPJifEzplx8jMYxT11O8pOhGMMrhRB8epbQUBa0BxxaKMYR+1rAnKtsKyWz5PsXQM/a7md/yFScrHdWl0vwo0lf8I4yFsTQPrga06v0palM6/xt98QCEkSRJsLglsqq+y4K3zFdRovoejsNvB20Z+yxeb2641P9wT+JVmlfBWsJzuQKLJrsTkhlfGwpMYanqWC2VOMXxzKtsAvLfhRSaA2COlclM8yA6Gp5tG9v7w5gBIVb5VQZ++Z3+PtxvriHdLG6m17uYyFALD4WAP4cJBLQ7zGMbS6NbzJfJmkggwBqugXIOc7A41jif4dnf83garFRxCg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[HXvNOExRA](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/uU1orAPlrGBgYAeAcfil16E9u8Q6LjZg>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS.
P R E S E N T E.

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

JEFATURA DE PROGRAMAS EDUCATIVOS DE POSGRADO

Cuernavaca, Morelos, 30 de noviembre de 2021.

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **CARACTERIZACIÓN DE FRUTOS DE GUANÁBANA (*Annona muricata* L.) EN MÉXICO**, que presenta el **M. en C. BENITO TERÁN ERAZO**, mismo que fue desarrollado bajo la Codirección del **DR. IRAN ALIA TEJACAL** y el **DR. CARLOS ALBERTO NÚÑEZ COLÍN**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta

DR. VÍCTOR LÓPEZ MARTÍNEZ
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 3304. fagropecuarias@uaem.mx





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

VICTOR LOPEZ MARTINEZ | Fecha:2021-11-30 16:56:54 | Firmante

ZwnPuzxp3vOnZjjGv5wVHp+U6zwrIbY2g09OzvdkUvhG3nHrcwCZ3Au35KOY6I/KHDTEVrixVE/9MVsih5U/5xStdv5mzZ45tzz0L4uD1htlSB06BIAt/CFf9rYqh5kk4KGkuEn5cSCxmVkk7wwMy4rn2sIFpXk5eilgjYXtpDi4fygpeNg6iS9NyONQJ9yeqo2wscncdM6sfYEgvaVqr8T1Q+f7na04CJAsJtLukN+IHjjXDNiX5O7mQ2d1qeTtwJmNiyoseuLJcFnP39SFLVOyCmnQGO5Tggp3l02zdH9Enlh5eUjaPQgglurP5os2PkEvfHYs9DRGHhvAar0w==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[nl2JY0PwW](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/8x7p1V1qBSS5uH3K82tel6clqMlspC6V>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS.
P R E S E N T E.

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

JEFATURA DE PROGRAMAS EDUCATIVOS DE POSGRADO

Cuernavaca, Morelos, 30 de noviembre de 2021.

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **CARACTERIZACIÓN DE FRUTOS DE GUANÁBANA (*Annona muricata* L.) EN MÉXICO**, que presenta el **M. en C. BENITO TERÁN ERAZO**, mismo que fue desarrollado bajo la Codirección del **DR. IRAN ALIA TEJACAL** y el **DR. CARLOS ALBERTO NÚÑEZ COLÍN**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta

DR. MANUEL DE JESÚS SAINZ AISPURÓ
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 3304. fagropecuarias@uaem.mx



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MANUEL DE JESUS SAINZ AISPURO | Fecha:2021-12-01 14:42:28 | Firmante

NgSB9VY+FifCssUJxNpyENOOM6pTgD2L6I9ME2lKN60aFKtpWuDnJFyWV0R11tPYHdkMPgPjB+5ev+/SdelZdOPgi7gom4SbMtS7sr/b9wmMf67BFJ+GLnd9rF26LVOBWNJ40J6a65zq5yLiIN0iUPdkqPG36DFRs6Or8EYrBs8prgyZzEUzT10vUNscW/NcWmFwAFSQDZ2XpY+TC4qIvI4/KHi9Uu6DGmuliZ5MTf4M5MVJUUXuho8yAnrSgzawcj3kbAnIGNaUDMLv3m4mx7L5kA2LRoK7BqRAI7O0tO3gyRrV2fTINu0Zsauf9CwP4fhrFDElYraFE2FGpzLA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[c8KuENorJ](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/nIKaVL7wJhd4FJcpaqaWAmckxC5XjUhxj>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

JEFATURA DE PROGRAMAS EDUCATIVOS DE POSGRADO

Cuernavaca, Morelos, 30 de noviembre de 2021.

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS.
P R E S E N T E.

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **CARACTERIZACIÓN DE FRUTOS DE GUANÁBANA (*Annona muricata* L.) EN MÉXICO**, que presenta el **M. en C. BENITO TERÁN ERAZO**, mismo que fue desarrollado bajo la Codirección del **DR. IRAN ALIA TEJACAL** y el **DR. CARLOS ALBERTO NÚÑEZ COLÍN**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta

DR. NELSON AVONCE VERGARA
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 3304. fagropecuarias@uaem.mx



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

NELSON AVONCE VERGARA | Fecha:2021-11-30 14:13:04 | Firmante

2n5Wdls9jNEWHJDzXAW0TJcO3stwEE5aU3J8/KUJx6+ZQ3v2Yxy0Livx8MWHgXt3QQTw4pUuKNZYs4qUwLI/FB7w5YdES+Zh8f1+vUr3C5o4F/eS6miSBTXs3k22Tp6o3pU/3KQNESEb5YFvi/paAAB8ae7EorF5KHu2BeJbBmOsL2Lic0qwiwtiEO1LtBN8XhaR2zubwDBV39XML9/VUzjFXvv61qQAkoDNYCKpQRjrWdk6a5K2vyhOzWI4DPj/qtHipqHF6A9FtpT0ivYNNVyoZDZXIVG89IYI7zKFipxkLjJ1ht76OffTrpCwKADj2PJosdaniojGW/Q+2PYQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[1ZUC72bJw](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/FvKehJGcGTfYZcAP4Owgb629HXPDygQK>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

JEFATURA DE PROGRAMAS EDUCATIVOS DE POSGRADO

Cuernavaca, Morelos, 30 de noviembre de 2021.

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS.
P R E S E N T E.

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **CARACTERIZACIÓN DE FRUTOS DE GUANÁBANA (*Annona muricata* L.) EN MÉXICO**, que presenta el **M. en C. BENITO TERÁN ERAZO**, mismo que fue desarrollado bajo la Codirección del **DR. IRAN ALIA TEJACAL** y el **DR. CARLOS ALBERTO NÚÑEZ COLÍN**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta

DR. JUAN MANUEL VILLARREAL FUENTES
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 3304. fagropecuarias@uaem.mx



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JUAN MANUEL VILLARREAL FUENTES | Fecha:2021-11-30 21:58:24 | Firmante

0b78g3ZYuekGA0rEEc/HZZLJY5xN4chje3K34Fz3qsFlzChpLKMWhPExNasAlwYuEfNDqHBuMoTLLeQlIt5uem+iqB4coPGwW/jGI7ohdl1Wm6f+yt72QYTpEsV8+7TLhEw0CIhwoj
yFA+Cdt5G41T5IHOj4ikC4kiwyLBee/kbZv27toeugeoyPrMp5esEYEJzKerlaviQ83pjoQeBMHDHNP0K+1lw/dH+/7KaL8C2bfv5agUR70DQYxLT7iChXU1CSAqcnjKS4XYZYWvWN
8GFTYx1h8GWraXfNpSYL/6aqJ6kUAjx/1K32UsP1aYaxl8FqkTVe3GqsrtSCocOGeDA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



v8I4X5MiG

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/C9VBv650ppwnHtNgck0VZXf3WENUcnj>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

**DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
DESARROLLO RURAL**

**CARACTERIZACIÓN DE FRUTOS DE GUANÁBANA (*Annona muricata* L.) EN
MÉXICO**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL

P R E S E N T A:

M.C. BENITO TERÁN ERAZO

COORDIRECTORES DE TESIS:

Dr. Irán Alia Tejacal

Dr. Carlos Alberto Núñez Colín



FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS

Cuernavaca, Morelos, diciembre de 2021

CARACTERIZACIÓN DE FRUTOS DE GUANÁBANA (*Annona muricata* L.) EN MÉXICO

Tesis realizada por M.C. Benito Terán Erazo, bajo la dirección del comité asesor indicado, aprobado por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural

Director: Dr. Irán Alia Tejacal

Codirector: Dr. Carlos Alberto Núñez Colín

Revisor: Dr. Dagoberto Guillén Sánchez

Revisor: Dr. Porfirio Juárez López

Revisor: Dr. Víctor López Martínez

Revisor: Dr. Nelson Avonce Vergara

Revisor: Dr. Juan Manuel Villarreal Fuentes

Revisor: Manuel de Jesús Sainz Aispuro

Agradecimientos

A la beca otorgada (584568) por **CONACyT** para la realización del doctorado en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural en la Universidad Autónoma del Estado de Morelos incluida en el Padrón Nacional de Posgrado.



A SADER-CONACyT por el apoyo mediante el proyecto: Aprovechamiento del germoplasma, desarrollo tecnológico e innovación en cadenas de valor de anonáceas en México con clave 2015-04-266891.

Agradecimientos

Gracias al **Dr. Irán Alia Tejacal** por permitirme ser parte de su grupo de trabajo durante 10 años, por sus conocimientos y por brindarme su amistad.

Al **Dr. Dagoberto Guillén Sánchez, Dr. Porfirio Juárez López, Dr. Nelson Avonce Vergara, Dr. Víctor López, Dr. Manuel de Jesús Sainz Aispuro, Dr. Juan Manuel Villarreal Fuentes** gracias por sus observaciones, conocimientos y el tiempo dedicado en la realización de esta tesis.

Al Dr. Carlos Alberto Núñez Colín de la Universidad de Guanajuato, por sus conocimientos, su amistad y por abrirme las puertas de su casa.

Al Dr. Adán Topiltzi Morales de la Universidad de Guanajuato, por su apoyo en el laboratorio.

Al Dr. Jesús Rubén Rodríguez Núñez de la Universidad de Guanajuato, por todo su apoyo.

Al Dr. Cuauhtémoc Sandoval Salazar de la Universidad de Guanajuato, por su amistad y sus consejos.

A la M.C. Alyn Palacios Sosa por todo su apoyo en el laboratorio, por su amistad y sobre todo por sus consejos en etapas personales muy difíciles.

A la M.C. Karina de la Paz García Mariscal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, campo experimental Tecomán, Colima, por todo su apoyo y su amistad.

A la maestra Yuridia Gutiérrez Portillo por su tiempo, conocimiento en el idioma inglés y por su amistad.

Al Dr. José Orlando Jiménez Zurita por su amistad y consejos.

Al Dr. Francisco Javier Delgado Virgen del instituto tecnológico de Colima por todo su apoyo y su amistad.

Al M.C. Manuel de Jesús Bermúdez Guzmán del INIFAP campo experimental Tecomán.

A Edgar Orozco Corona y Alfredo Ochoa Chávez por todo su apoyo en campo y laboratorio y sobre todo su amistad.

A mis compañeros de laboratorio por su apoyo, por los momentos de trabajo y diversión que pasamos juntos, a todos ellos GRACIAS: Samuel Cancino, Orlando Berruecos, Jorge Alía, Oliver Monarres, Juan Emilio Álvarez, Gastón Vargas, Francisco Morales, Claudia Grijalva, Evelin y Edith.

DEDICATORIA

A mis padres.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
INDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
CAPÍTULO I. INTRODUCCION GENERAL	1
OBJETIVO GENERAL	3
CAPÍTULO II. Calidad y fitoquímicos en frutos de guanábana (<i>Annona muricata</i> L.) en Tecomán, Colima, México.	4
2.1 RESUMEN	4
2.2 INTRODUCCIÓN	5
2.3 MATERIALES Y MÉTODOS	5
2.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	8
2.5 CONCLUSIONES	12
2.6 LITERATURA CITADA	12
CAPÍTULO III. CARACTERIZACIÓN <i>Ex situ</i> DE GUANÁBANA (<i>Annona muricata</i> L.) EN COLIMA, MÉXICO: CALIDAD Y PROPIEDADES FUNCIONALES	15
3.1 RESUMEN	15
3.2 INTRODUCCION	16
3.3 MATERIALES Y MÉTODOS	18

3.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
3.5 CONCLUSIONES	31
3.6 LITERATURA CITADA	31
CAPÍTULO IV. Caracterización molecular de una colección de guanábana (<i>Annona muricata</i> L.) en Colima.	35
4.1 RESUMEN	35
4.2 INTRODUCCIÓN	36
4.3 MATERIALES Y MÉTODOS	37
4.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
4.5 CONCLUSIONES	50
4.6 LITERATURA CITADA	50

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág
Cuadro 1. Parámetros estadísticos en 72 árboles de guanábana ex situ en Tecomán, Colima, México.	9
Cuadro 2. Árboles de guanábana evaluados en una colección en Tecomán, Colima, México.	19
Cuadro 3. Valores propios y proporción de la varianza total explicada por los componentes principales, con base a la matriz de correlación aplicada a 18 características físicas y químicas de 48 árboles de guanábana.	24
Cuadro 4. Vectores propios de 18 variables de fruto de las tres primeras variables canónicas de 48 árboles de guanábana pertenecientes a una colección en Tecomán, Colima.	26
Cuadro 5. Distancia de Mahalanobis entre los grupos obtenidos del análisis clúster de 48 árboles de guanábana.	27
Cuadro 6. Prueba de Tukey de las tres primeras raíces canónicas de los cuatro grupos de guanábana obtenidos en el análisis clúster	27
Cuadro 7. Valores promedio de 18 variables de fruto en los grupos identificados mediante el análisis de agrupamiento jerárquico de 48 árboles injertados de guanábana en Tecomán, Colima, México.	30
Cuadro 8. Materiales de guanábana colectados en diferentes localidades de Tecomán, Colima, México.	38
Cuadro 9. Lista de iniciadores ISSR utilizados en una colección de guanábana.	41
Cuadro 10. Rendimiento y calidad de ADN en 20 muestras.	43

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Dendograma jerárquico de 18 variables del fruto evaluadas en una colección de guanábana (<i>Annona muricata</i> L.) en Tecomán, Colima, generado a partir de distancias euclidianas y el método de Ward. CT= 'Costa Rica' y CR = 'Criollo'.	23
Figura 2. Representación tridimensional de 48 árboles de guanábana de una colección de guanábana en Tecomán, Colima, México.	28
Figura 3. Forma de transportar el material vegetal.	38
Figura 4. Tejido vegetal pulverizado con nitrógeno líquido	40
Figura 5. Procedimiento de extracción de ADN.	40
Figura 6. Iniciador PV05 (A) muestras 1-13, 51° (muestras amplificadas 9), (B) muestras 1-13, 51° (muestras amplificadas 7), (C) muestras 1-13, 51° (muestra amplificada 1).	44
Figura 7. Iniciador PV05 (A) muestras 14-26 51° (muestras amplificadas 0), (B) muestras 27-39 51° (muestras amplificadas 33,38 y 39).	44
Figura 8. Iniciador ISSR 7 . (A) Muestras 1-13 49° (muestras amplificadas 12), (B) muestras 14-26 49° (muestras amplificadas 7), (C) muestras 27-39 49° (muestras amplificadas 6), (D) muestras 40-52 49° (muestras amplificadas 7), (E) muestras 53-65 49° (muestras amplificadas 9), (F) muestras 66-78 49° (muestras amplificadas 6).	45
Figura 9. Iniciador PV08 . (A) Muestras 1-13 49° (muestras amplificadas 7), (B) muestras 14-26 49° (muestras amplificadas 6), (C) muestras 27-39 49° (muestras amplificadas 8), (D) muestras 40-52 49° (muestras amplificadas 6), (E) muestras 53-65 49° (muestras amplificadas 7), (F) muestras 66-78 49° (muestras amplificadas 6).	46

Figura 10. Iniciador **ISSR 16.** **(A)** Muestras 1-13 49° (amplificadas 13), **(B)** muestras 14-26 49° (amplificadas 8), **(C)** muestras 27-39 49° (amplificadas 9), **(D)** muestras 40-52 49° (amplificadas 9), **(E)** muestras 53-65 49° (amplificadas 9), **(F)** muestras 66-78 49° (amplificadas 7). 47

Figura 11. Iniciador 19. **(A)** Muestras 1-13 49° (muestras amplificadas 10), **(B)** muestras 14-26 49° (muestras amplificadas 9), **(C)** muestras 27-39 49° (muestras amplificadas 8), **(D)** muestras 40-52 49° (muestras amplificadas 10), **(E)** muestras 53-65 49° (muestras amplificadas 11), **(F)** muestras 65-78 49° (muestras amplificadas 5). 48

Figura 12. Dendrograma de 72 árboles de una colección de guanábana utilizando el método UPGMA. 49

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

La guanábana es originaria de las tierras bajas de América Central y se distribuye en el Caribe, Sureste de México, Costa Rica, Colombia, Ecuador, Brasil, África y sureste de Asia (Babají y Abu, 2018). El fruto de guanábana es apropiado para el procesamiento debido a su alto contenido de azúcares y delicado sabor (Lima y Alves, 2011). En fresco la pulpa del fruto de guanábana es muy apreciada porque tiene un sabor único, agradable, subácido y aromático; es una mezcla de dulzura y sabor agrio suave (Babají y Abu, 2018). El consumo del fruto de guanábana aporta azúcares, minerales, vitaminas, flavonoides, antioxidantes lipofílicos, acetogeninas, alcaloides y fenoles, la importancia de estos compuestos se está estudiando para obtener más información del potencial alimenticio, farmacológico y terapéutico (Berumen *et al.*, 2019).

En México, se cultivan aproximadamente 3600 ha de guanábana (SIAP, 2021). La mayoría de las huertas están constituidas de árboles provenientes de semilla, lo que origina gran diversidad (Evangelista *et al.*, 2003). En México, se han realizado estudios de algunas características de calidad en frutos de árboles de guanábana *in situ*. En Morelos, Colima, Veracruz, Nayarit y Chiapas los estudios se han enfocado en tamaño, peso, sólidos solubles totales (SST), acidez titulable y color (Evangelista *et al.*, 2003; Jiménez *et al.*, 2016; Nolasco *et al.*, 2019; Rosas y Becerra, 2012), y en menor proporción en azúcares solubles, fenoles, flavonoides, actividad antioxidante y vitamina C (Terán *et al.*, 2019, Villarreal *et al.*, 2020). En México se reportan variedades de guanábana en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales (SADER, 2021), sin embargo, aún no se tienen reportes de la calidad de estas variedades, así como la superficie establecida.

Considerando lo anterior en México se reconocen varios esfuerzos de caracterización de materiales como se han indicado anteriormente, pero aún son escasos y aislados, en la mayoría no se ha evaluado uniformemente la calidad, aporte al consumo humano (color, sólidos solubles totales, acidez titulable, fenoles, flavonoides, vitamina C, actividad antioxidante y minerales), además de que no se ha

evaluado la fisiología poscosecha. Este último aspecto es importante para proponer tecnologías para su conservación como fruta fresca.

Por otra parte, el uso de marcadores moleculares se ha utilizado para la identificación y caracterización de especies frutales del trópico. En los marcadores moleculares se utilizan proteínas y los marcadores de ADN; los marcadores de ADN son idóneos, siendo válido cualquier fragmento que se encuentre muy cerca del gen o la secuencia de interés y que lógicamente no afecte el carácter de estudio (Azofeita-Delgado, 2006). Brown *et al.* (2003) analizaron la variabilidad genética en nueve accesiones de guanábana con RAPD; determinándose dos grupos de árboles, uno con materiales de Venezuela y el otro con genotipos de Brasil, se encontró mayor variabilidad en las accesiones de Venezuela. Suratman y Suranto (2015) estudiaron la diversidad genética de guanábana en Java, Indonesia con marcadores RAPD en 70 árboles de siete poblaciones de guanábana, determinando similitudes genéticas a pesar de las diferencias geográficas. Anuragi (2016) determinaron gran diversidad entre genotipos del género *Annona* al realizar un estudio a nivel de ADN con marcadores RAPD y SSR.

Considerando lo anterior la finalidad del presente trabajo fue estudiar una colección de guanábana, desarrollada en el INIFAP CE Tecomán, en cuanto a sus características físicas, químicas y utilizando marcadores moleculares ISSR, para indicar la diversidad de los materiales con ayuda de estos caracteres. Lo anterior ayudará para decidir el manejo de dicha colección hacia la evaluación de estos materiales en otras regiones o iniciar lo relativo al registro y liberación de dichos materiales.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la diversidad en una colección de guanábana en Tecomán, Colima, México, mediante la caracterización físico-química, poscosecha y molecular de para sugerir los posibles escenarios de mejoramiento genético de dicha colección.

CAPÍTULO II

Calidad y fitoquímicos en frutos de guanábana (*Annona muricata* L.) en Tecomán, Colima, México.

2.1 RESUMEN

La guanábana es un fruto de origen tropical con gran aceptación por su sabor agradable, subácido y aromático que es una mezcla de dulzura y sabor agrio suave. En México, a pesar de que ya se tienen registradas tres variedades de guanábana, aun no se conoce las características de calidad de materiales *ex situ* e injertados. En Colima, México se hacen esfuerzos para desarrollar variedades que puedan satisfacer las necesidades del mercado regional, y que puedan ser de interés para otras regiones. Se evaluaron 72 árboles de guanábana *ex situ* o injertados con materiales sobresalientes de la región y se determinaron algunos parámetros de calidad del fruto. El peso promedio del fruto fue alrededor de 800 g. La proporción promedio de epidermis, pulpa, semilla y raquis fue de 15, 80, 2.5 y 2.5 %, respectivamente. Las dimensiones promedio (entre 11 y 12 cm) y el número de semillas promedio (37) fueron menores con respecto a materiales evaluados *in situ*. Los sólidos solubles totales fueron en promedio de 13.1 °Brix y la acidez titulable fue alta entre 0.9 y 1.4 %. El contenido de azúcares totales promedio fue de 12 °Brix. El contenido de fenoles y flavonoides promedio fue moderado, 36.7 y 9.2 mg EAA 100g⁻¹, respectivamente, pero se considera suficiente para aportar sus propiedades antioxidantes al consumo humano. La actividad antioxidante mostró cierta asociación (entre 0.33** y 0.36**) con los fenoles totales. El contenido de vitamina C, entre 41.5 y 98 mg EAA 100g⁻¹, sugiere buen aporte para la salud humana. En conclusión, los frutos de guanábana en Colima, México muestran calidad y aporte de moléculas benéficas para competir con variedades comerciales en el mercado nacional e internacional.

Palabras clave: guanábana, fenoles, flavonoides, pulpa, semillas, dimensiones.

2.2 INTRODUCCIÓN

La guanábana es originaria de las tierras bajas de América Central y se distribuye en el Caribe, Sureste de México, Costa Rica, Colombia, Ecuador, Brasil y Ecuador, África y sureste de Asia (Babaji y Abu, 2018). El fruto de guanábana es apropiado para el procesamiento debido a su alto contenido de azúcares y delicado sabor (Lima y Alves, 2011). En fresco la pulpa del fruto de guanábana es muy apreciada porque tiene un sabor único, agradable, subácido y aromático; es una mezcla de dulzura y sabor agrio suave (Babaji y Abu, 2018). El consumo del fruto de guanábana aporta azúcares, minerales, vitaminas, flavonoides, antioxidantes lipofílicos, acetogeninas, alcaloides y fenoles, la importancia de estos compuestos se está estudiando para obtener más información del potencial alimenticio, farmacológico y terapéutico (Berumen *et al.*, 2019).

En México, se cultivan aproximadamente 3600 ha de guanábana (SIAP, 2021). La mayoría de las huertas están constituidas de árboles provenientes de semilla, lo que origina gran diversidad (Evangelista *et al.*, 2003). En México, se han realizado estudios de algunas características de calidad en frutos de árboles de guanábana *in situ*. En Morelos, Colima, Veracruz, Nayarit y Chiapas los estudios se han enfocado en tamaño, peso, sólidos solubles totales (SST), acidez titulable y color (Evangelista *et al.*, 2003; Jiménez *et al.*, 2016; Nolasco *et al.*, 2019; Rosas y Becerra, 2012), y en menor proporción en azúcares solubles, fenoles, flavonoides, actividad antioxidante y vitamina C (Terán *et al.*, 2019, Villarreal *et al.*, 2020). En México se reportan variedades de guanábana en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales (SADER, 2021), sin embargo, aún no se tienen reportes de la calidad de estas variedades, así como la superficie establecida.

En Colima, la guanábana se considera un frutal con grandes posibilidades para el desarrollo de la agricultura de la región, por lo que el INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias) en 2010 realizó una colecta de materiales sobresalientes en tres localidades del municipio de Tecomán, Colima y en una localidad del municipio de Coahuayana, Michoacán; obteniendo varetas que

fueron injertadas sobre patrones criollos y que se están evaluando para proponer materiales que pudieran ser importantes en su productividad y calidad. Actualmente, en México no se tienen reportes de la calidad de materiales injertados, por lo cual se considera que este es el primer trabajo donde se evalúan algunas características de la calidad de materiales de guanábana mexicanos *ex situ*.

2.3 MATERIALES Y MÉTODOS

Durante 2019 se realizaron colectas de 72 árboles injertados de la colección de guanábana del INIFAP en Tecomán, Colima, México (LN 18°58'08" LO 103°50'43.5', 33 m de altitud), cuyo clima es tropical seco y semiseco, con temperatura media de 26 °C y precipitación media de 750 mm (Manzanilla et al., 2019). Cada semana se colectaron frutos en madurez fisiológica y se mantenían en un cuarto de maduración (25 °C y 80 % de HR) hasta la madurez de consumo y se evaluaron algunas características físicas y químicas. En cada árbol se cosecharon entre 1 y 10 frutos. El índice de cosecha utilizado fue el que los productores realizan, esto es, que el fruto cambia de un verde intenso oscuro a un color verde amarillento.

Las variables peso del fruto, epidermis, pulpa, raquis y semilla se determinaron con una balanza digital Scout ProSp 4001 (OHAUS®, EUA) con sensibilidad de 0.1 g. El número total de semillas se registró en cada fruto. La longitud y el diámetro se evaluaron con una cinta métrica. El contenido de sólidos solubles totales (°Brix) se determinó a partir de dos gotas del jugo de cada fruto colocados en un refractómetro (ATAGO PAL-1®, Japón). La acidez titulable se determinó por el método reportado por la AOAC (Helrich, 1990) donde 1 g de tejido fue homogenizado con 15 mL de agua destilada, posteriormente el homogenizado se filtró y una alícuota de 5 mL fue obtenida del filtrado, y se realizó una titulación con NaOH 1 N, usando fenolftaleína como indicador, los resultados se expresaron en porcentaje de ácido cítrico. Los azúcares totales se cuantificaron siguiendo la metodología propuesta por Whitam et al. (1971) y los fenoles totales conforme a la metodología de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999).

La actividad antioxidante por los métodos de DPPH, ABTS y FRAP se realizó a partir de 1 g de pulpa homogenizado con 10 mL de agua destilada, posteriormente se filtró

y a partir del filtrado se tomaron alícuotas para realizar reacciones colorimétricas. Para DPPH se utilizó el método descrito por Brand *et al.* (1995), donde 1 g de pulpa se homogenizó con 10 mL de agua destilada y se filtró, y del filtrado se tomó 0.10 mL y se dejó reaccionar con 3 mL de una solución metanólica de DPPH (6.1×10^{-5} M, Sigma Aldrich, EUA) durante 30 min en oscuridad, y se leyó a 517 nm el cambio de absorbancia. Para ABTS se preparó el reactivo de ABTS (Sigma-Aldrich®, USA) 7mM y persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$) a 2.45 mM, se mezcló 1:1, reposó 16 h y se diluyó con etanol 20 % hasta alcanzar una absorbancia de 0.7 ± 0.02 a 734 nm. Luego se agregaron 3 mL de ABTS con 50 μ L de muestra y reaccionó durante 15 min, se leyó la absorbancia a 734 nm (Re *et al.* 1999). La actividad antioxidante por FRAP se realizó mediante la metodología de Benzie y Strain (1996) donde se preparó el reactivo FRAP (TPTZ, $FeCl_3$ y amortiguador de acetato); se mezclaron 1.8 mL de FRAP con 140 μ L de agua destilada y 60 μ L de muestra, reaccionaron 30 min a 37 °C y transcurrido el tiempo de reacción se leyó la absorbancia a 593 nm. Los resultados de los métodos de actividad antioxidante se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA) 100 g^{-1} peso fresco.

La vitamina C se determinó con el método propuesto por Jagota y Dani (1982) donde 0.8 mL de una solución de ácido tricloroacético al 10 % (p/v) se adicionaron a una muestra de 1 g de pulpa de frutos de guanábana y 10 mL de agua destilada y se homogenizaron con un Ultraturrax (IKA®, EUA). La mezcla se colocó en baño de hielo por 5 min y se centrifugó 5 min a 4 000 g. Después se realizó una mezcla de reacción con 0.5 mL del sobrenadante, 2 mL de agua doble destilada y 200 mL de una solución diluida del reactivo de Folin-Ciocalteu (1:10), reposó 10 min y se tomó la lectura en un espectrofotómetro (HACH DR 5000®, EUA) a una absorbancia de 760 nm. Los resultados se expresan en mg de ácido ascórbico 100g^{-1} .

Los flavonoides totales se determinaron con la metodología de Arvouet-Grand *et al.* (1994). Primero, 2 g de pulpa se homogenizaron con 10 mL de metanol en un Ultra Turrax (IKA®, EUA) y se centrifugó 15 min a 10 000 g a 4 °C. Del sobrenadante se tomaron 2 mL de muestra, reaccionaron con 2 mL de tricloruro de aluminio al 2 % p/v, reposaron 15 min en la oscuridad y las muestras se leyeron a 415 nm en un

espectrofotómetro (HACH DR 5000®, EUA). Los resultados se expresaron como mg equivalentes de Quercetina (EQ) 100 g⁻¹ de peso fresco.

Los datos obtenidos fueron analizados mediante estadística descriptiva utilizando el programa SigmaPlot (Systat Software, San Jose, CA).

2.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El peso promedio de los frutos de guanábana de los materiales evaluados fue de 881.8 g con gran variación entre los árboles (Cuadro 1). En México se ha reportado que árboles evaluados *In situ* el peso promedio es entre 720 y 1930 g (Jiménez *et al.*, 2016, Terán *et al.*, 2019, Villarreal *et al.*, 2020). En Brasil se reportan variedades entre 2.4 y 3.2 kg de peso promedio (Sacramento *et al.*, 2003). Lo anterior indica que, en México, la producción de guanábana tiene potencial para consumo en fresco, debido a que su tamaño es a menor 2.5 kg (Pinto *et al.*, 2005). Las proporciones de la epidermis, pulpa, semillas y raquis fue de 15, 80, 2.5 y 2.5 %, respectivamente, con gran variabilidad CV= entre 34 y 48 % (Cuadro 1). Evaluaciones *in situ* de selecciones de guanábana en México se ha reportado que la epidermis representa 27 %, la pulpa entre 62 y 89 %, semilla entre 6 % y raquis 5 % (Villarreal *et al.*, 2020). En otros Brasil las proporciones de algunas variedades son 8.2, 84.2, 4.2 y 3.4 % para epidermis, pulpa, semillas y raquis (Sacramento *et al.*, 2003). Esto sugiere que los árboles evaluados *in situ* o injertados, presentaron mayor proporción de pulpa, y menos de epidermis, semillas y raquis que lo reportado en árboles evaluados *in situ*; y que pueden ser competitivos con las proporciones presentadas en otros países.

Las dimensiones del fruto mostraron baja variación, CV = entre 14 y 23 % (Cuadro 1), comparados con frutos de Chiapas que presentaron CV = entre 23.2 y 28.9 % (Villarreal *et al.*, 2020), pero mayor variabilidad comparado con frutos de Nayarit CV= entre 12.4 y 18.8 % (Jiménez *et al.*, 2016; Terán *et al.*, 2019). La longitud de los frutos vario entre 4 y 19.7 cm y el diámetro ecuatorial entre 7 y 14.5 cm (Cuadro). En algunas selecciones evaluadas *in situ* en Nayarit, se reportan entre 14.9 y 21.8 cm de longitud y entre 11 y 12 cm de diámetro (Jiménez *et al.*, 2016; Terán *et al.*, 2019; Nolasco *et al.*, 2019); en Chiapas se reportan frutos desde 7.9 y 28.1 cm de longitud y entre 4.3 y 20.9 cm de diámetro ecuatorial (Villarreal *et al.*, 2020). En Brasil, las

variedades tienen entre 22.6 y 25.4 cm de longitud y entre 13.4 y 15.8 cm de diámetro ecuatorial. Esto sugiere que en México hay diversidad de tamaños para seleccionar material con base a sus dimensiones para la industria o consumo en fresco.

Cuadro 1. Parámetros estadísticos en 72 árboles de guanábana *ex situ* en Tecomán, Colima, México.

Variable	\bar{x}	s	R	Mínimo	Máximo	CV (%)
Peso de fruto (g)	881.8	345.8	1564	224.0	1788	39.2
Peso de cáscara (g)	126.4	34.0	266.3	41.5	307.8	34.0
Peso de pulpa (g)	346.1	283.9	1261	131.8	1392.4	43.9
Peso de semilla (g)	17.8	7.4	35.7	3.68	39.4	42.0
Peso de raquis (g)	17.7	8.5	47.1	2.7	18.6	48.3
Diámetro polar (cm)	12.2	2.8	15.7	4.0	19.7	23.2
Diámetro ecuatorial (cm)	11.2	1.6	7.5	7.0	14.5	14.2
Altura (cm)	9.1	1.0	5.3	6.0	11.3	10.9
Número de semillas	36.9	12.9	61.2	10.0	71.2	35.0
Sólidos solubles totales (SST)	13.5	1.4	8.5	10.0	18.4	10.4
Acidez titulable (%)	1.1	0.1	0.5	0.9	1.4	9.8
Azúcares totales (mg g ⁻¹)	119.4	20.2	114.4	51.9	166.3	16.9
Fenoles totales (mg EAG 100g ⁻¹)	37.6	16.4	70.8	15.8	86.7	43.8
Flavonoides totales (mg EQ 100g ⁻¹)	9.2	1.5	12.8	2.4	15.2	16.3
DPPH (mg EAA 100g ⁻¹)	53.4	11.2	60.9	16.4	134.4	21.0
ABTS (mg EAA 100g ⁻¹)	56.9	13.4	72.5	15.5	88.0	23.5
FRAP (mg EAA 100g ⁻¹)	103.7	53.2	227.2	16.1	243.9	51.3
Vitamina C (mg EAA 100g ⁻¹)	69.2	10.1	56.5	41.4	98.0	14.6

EAG = Equivalentes de ácido gálico, EQ = Equivalentes de quercetina, EAA= Equivalentes de ácido ascórbico.

El número de semillas mostró alta variabilidad CV= 35 %, con frutos que presentaron desde 10 hasta 72 semillas por fruto y en promedio 37 semillas (Cuadro 1). En algunas selecciones evaluadas *in situ* en México se reportan en promedio entre 40 y 137 semillas, con gran variación CV= 72.6 % (Villarreal *et al.*, 2020). El menor número de semillas mostró cierta asociación significativa y positiva ($r= 0.61^{**}$) con el peso del fruto (Datos no mostrados). La gran variabilidad del número de semillas se atribuye a problemas de polinización de la especie (Franco *et al.*, 2001).

Los sólidos solubles totales mostraron baja variación, CV = 10.4 %, el contenido varió entre 10 y 18.4 °Brix y en promedio se tuvo 13.6 °Brix (Cuadro 1). En otras regiones del país, en árboles *in situ* se han obtenido entre 7.1 y 22 °Brix (Rosas y Becerra, 2012; Villarreal *et al.*, 2020), lo que sugiere gran variabilidad y oportunidad de seleccionar materiales considerando esta variable. Sin embargo, la baja variación en esta variable en Colima, hace suponer que este carácter se mantuvo estable. Por otra parte, la acidez titulable fue en promedio de 1.15 %, con valores entre 0.9 y 1.4 % y baja variabilidad, CV= 9.8 % (Cuadro 1). En Chiapas y Nayarit, se reportan valores de acidez ente 0.2 y 1.0 % y entre 0.3 y 1.2 % (Jiménez *et al.*, 2016; Terán *et al.*, 2019; Villarreal *et al.*, 2020), indicando que en los árboles evaluados *in situ* la acidez se expresó con mayor intensidad.

Los azúcares solubles tuvieron valores mínimos y máximos de 51.9 y 166.3 mg g⁻¹, y en promedio 119.4 mg g⁻¹, con baja variación entre los árboles evaluados, CV= 16.9 % (Cuadro 1). En Chiapas se reportan entre 20 y 220 mg g⁻¹ y en Nayarit entre 2.9 y 209 mg g⁻¹ (Jiménez *et al.*, 2016; Terán *et al.*, 2019; Villarreal *et al.*, 2020), indicando que los frutos de Colima mostraron menor contenido de azúcares solubles y probablemente menor dulzura.

Los fenoles mostraron gran variabilidad, CV= 43.8 %, en promedio se cuantificaron 37.6 mg 100g⁻¹ de peso fresco (Cuadro 1). En frutos de árboles de Chiapas y Nayarit, evaluados *in situ* se reporta gran variabilidad del contenido de fenoles totales, entre 1 y 74 mg EAG 100g⁻¹ (Villarreal *et al.*, 2020; Terán *et al.*, 2019). En los frutos evaluados *ex situ*, los valores mínimos y máximos estuvieron entre 15.8 y 86.7 mg

100g⁻¹ (Cuadro 1). Vit *et al.* (2014) reportan entre 624 y 941 mg EAG 100g⁻¹, esto se atribuye a los solventes utilizados para la extracción. El contenido moderado de fenoles totales en el fruto de guanábana podría contribuir en el aporte de metabolitos funcionales para ser consumidos por el humano (Villarreal *et al.*, 2020).

Los flavonoides tuvieron menor variación, CV=16.3 % y la concentración promedio fue de 9.23 mg EQ 100g⁻¹, lo cual es mayor a lo reportado en Nayarit 2.1 mg EQ 100g⁻¹, donde la variabilidad de las muestras es mayor, CV= 36 % (Terán *et al.*, 2019). Actualmente es aceptado que la ingesta de flavonoides ejerce una protección a la salud humana, esto mediante la modificación de rutas bioquímicas y sobre algunas enfermedades en particular (Domínguez *et al.* 2018). Por lo que el consumo de guanábana es importante ya que aporta este tipo de moléculas.

La actividad antioxidante promedio evaluada por los métodos de DPPH, ABTS y FRAP fueron de 53.4, 57 y 103.7 mg EAA 100g⁻¹, respectivamente, con variación entre 21 y 51.3 % (Cuadro 1). Diversos autores reportan valores promedios entre 16.9 – 64.1 mg EAA 100 g⁻¹ para DPPH, entre 79.6 y 91.2 mg EAA 100g⁻¹ para ABTS y entre 62 y 76.3 mg EAA 100g⁻¹ (Beserra *et al.*, 2011; Terán *et al.*, 2019, Villarreal *et al.*, 2020). La variabilidad se reporta en estas variables entre CV= 37 y 51 %, lo cual es similar a lo obtenido en el presente trabajo, pero solo en FRAP. La actividad antioxidante evaluada por DPPH, ABTS y FRAP mostró cierta asociación significativa con el contenido de fenoles, $r =$ entre 0.32 y 0.33**, sugiriendo que la actividad antioxidante se puede atribuir a otras moléculas que se encuentren en la matriz de la pulpa del fruto.

Finalmente, la vitamina C se cuantificó en promedio de 69.2 mg EAA 100g⁻¹, con baja variación entre los árboles evaluados (Cuadro 1). Terán *et al.* (2019) reporta contenido de vitamina C promedio de 13.28 mg EAA 100g⁻¹ en frutos de Nayarit, con una variación de 31.7 %, indicando que en Colima se detectó menor variabilidad y mayor concentración de esta vitamina, ya que los valores estuvieron entre 41.4 y 98 mg EAA 100g⁻¹. La aportación de vitamina C se aceptable ya que se acerca a los valores que se reportan para la naranja, 71 mg EAA 100g⁻¹, el cual es uno de los frutos donde mayor Vitamina C se obtiene (Beserra *et al.*, 2011).

2.5 CONCLUSIONES

Los árboles de guanábana injertados y evaluados *ex situ* mostraron gran proporción de pulpa (80 %), peso promedio de fruto para mercado en fresco, bajo número de semillas, contenido bajo de azúcares y alta acidez, alta variabilidad de fenoles y actividad antioxidante por FRAP, pero baja variación en el contenido de flavonoides y actividad antioxidante por DPPH, ABTS y vitamina C.

Los materiales evaluados mostraron menor variabilidad con lo reportado en arboles evaluados *in situ*, y con características de calidad y antioxidantes aceptables. Es necesario realizar estudios de análisis de agrupación de los árboles para proponer variedades a evaluar en diferentes áreas de la región.

2.6 LITERATURA CITADA

- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A. and Legret, P. (1994). Standardisation dun extrait de propolis et identification des principaux constituents. *J. Pharmacie Belgique* 49(6), 462-468.
- Babaji, S.S. and Abu, M.F.B. (2018). Soursop. In *Exotic Fruits. Reference Guide*, S. Rodrigues, E. de O. Silva, E.S. de Brito, eds. (UK: Elsevier-Academic Press), p.391-395.
- Benzie, I.F. and Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 239 (1), 70-76.
- Berumen, V.G., Hernández, O.M.A. and Tiznado, H.M.E. (2019). Utilization of biotechnological tools in soursop (*Annona muricata* L.). *Sci. Hortic.* 245, 269-273.
- Beserra, M.M.A., Machado, P.H. de S., Campos, A.M.A., do Prado, G.M., de Carvalho, C.E.M., Arraes, G.M., and Gomes, T.L. de L. (2011). Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Res. Int.* 44(7), 2155-2159.

- Brand, W.W., Culivier, M.E. and Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* 28(1), 25-30.
- Domínguez, Á.J.A, Olivas, A.F.J., de la Rosa, L., Wall, M.A, González, A.G.A. (2018). Flavonoids and their relation to human health. In *Fruit and Vegetable Phytochemicals Chemistry and Human Health*, M.E. Yahia, ed. (Hoboken, NJ, USA: Blackwell) p.139-154.
- Evangelista, S.L., Cruz, J.G.C., Pérez, S.G., Mercado, E.S., and Dávila, G.O. (2003). Producción y calidad frutícola de guanábanos (*Annona muricata* L.) provenientes de semilla de Jiutepec, Morelos, México. *Rev. Chapingo S. Hortic.* 9(1), 69-79.
- Franco, M.O., Jaso, M.O., Villanueva, G.E. and Saucedo V.C. (2001). Crecimiento y calidad de frutos de *Annona muricata* L. con diferente intensidad de polinización. *Rev. Fitotec. Mex.* 24(2): 139-144.
- Helrich, K. (1990). *Official Methods and Analysis*. (Arlington: Association of Official Analytical Chemists).
- Jagota, S.K. and Dani H.M. (1982). A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent. *Anal. Biochem.* 127, 178–181.
- Jiménez, Z.J.O., Balois, R.M., Alía, I.T., Juárez, P.L., Sumaya, M.T.M. and Bello, J.E.L. (2016). Caracterización de frutos de guanábana (*Annona muricata* L.) en Tepic, Nayarit, México. *Rev. Mex. Ciencias Agríc.*, 7(6), 1261-1270.
- Lima, C.M.A. and Alves R.E. (2011). Soursop In *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits*, E.M. Yahia. (Cambridge, UK.: Woodhead) p. 363-391.
- Manzanilla, R.M.A., Villegas M.A. Velazquez M.J.J., Sandoval V.M. and Muñoz O.A. (2019). Cambios fisiológicos en árboles de limón mexicano en producción infectados con HLB. *Rev. Mex. Ciencias Agríc.* 10(7), 1603-1614.
- Nolasco, Y.G., Hernández, L.M.F. and Montalvo, E.G. (2019). Caracterización morfológica y fisicoquímica de frutos de accesiones de guanábanas seleccionadas en Nayarit. *Rev. Mex. Ciencias Agríc.* 23, 223-237.
- Pinto, de Q.A.C., Cordeiro R. M.C., Andrade M.S.R., Ferreira R.F., Filgueiras C.H.A., Alves, E.R. and Kinpara, I.D. (2005). *Annona* species. (University of Southampton, UK. International Centre for Underutilised Crops).

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice, C.E. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.* 26, 1231-1337.
- Rosas, G.X. and Becerra, E.N.L. (2012). Manual de producción de guanábana (*Annona muricata* L.). (Veracruz, México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias).
- Sacramento, K.C., Faria C.J., Cruz L.F., Barretto S.W., Gaspar J.W. and Leite V.J.B. (2003). Physical-chemical characterization of fruit of three types of soursop trees (*Annona muricata* L.). *Rev. Bras. Frutic.* 25(2): 329-331.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) (2021). Anuario estadístico de la producción agrícola. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuel, R. M. R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299, 152-178.
- SNICS (Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas) (2020). Catalogo Nacional de Variedades Vegetales. SADER (Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural). En línea: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/606027/CNVV_2020_OK.pdf.
- Terán, E.B., Alia, I.T., Balois, R.M., Juárez, P.L., López, G.G.G., Pérez, G.A.A., and Núñez, C.A.C. (2019). Caracterización física, química y morfológica de frutos de guanábana (*Annona muricata* L.). *Agrociencia* 53, 1013-1027.
- Villarreal, F.J.M., Alia T.I., Hernandez, S.M.A., Hernandez, O.E., Marroquín A.F.J., Núñez, C.C.A. and Campos R.E. (2020) *In situ* characterization of soursop (*Annona muricata* L.) in the Soconusco, Chiapas, México. *Rev. Chapingo S. Hortic.* 26(3), 189-205.
- Vit, P., Santiago, B. and Pérez, P.E.M. (2014). Composición química y actividad antioxidante de pulpa, hoja y semilla de guanabana (*Annona muricata* L.). *Interciencia* 39(5), 350-353.
- Whitam, F. F., Blades, D. F., and Devlin, R. M. (1971). *Experiments in Plant Physiology.* (New York; Van Nostrand Reinhold).

CAPITULO III

Caracterización *ex situ* de guanábana (*Annona muricata* L.) en Colima, México: calidad y propiedades funcionales

3.1 RESUMEN

La guanábana es un fruto altamente apreciado en México por su sabor y sus propiedades medicinales. En México hay pocas variedades que se han liberado para su explotación comercial, sin embargo existen esfuerzos por seleccionar materiales que puedan ayudar a solventar la falta de clones genéticos superiores. El objetivo del presente trabajo fue evaluar algunas características físicas y químicas de frutos de 48 árboles de guanábana injertados en patrones criollos provenientes de tres localidades de Tecomán, Colima y una localidad Coahuayana, Michoacán, México, con la finalidad de determinar los grupos que se forman y las características físicas y químicas que ayudan a esas agrupaciones, para proponer árboles para su propagación masiva con los productores de la región a mediano plazo. El análisis de cluster formó cuatro grupos de 6, 20, 6 y 16 árboles, las principales variables que ayudaron a las diferencias de los grupos fueron el peso de fruto y sus estructuras, las dimensiones, acidez titulable, la actividad antioxidante por el método de FRAP y DPPH, los fenoles totales y la vitamina C. En el grupo 1 y 2, se tuvieron frutos de peso menores a 850 g y dimensiones promedio (de forma redonda), con rendimiento de pulpa de 78 %, bajo número y peso de semillas y raquis, pero contrastando ampliamente en la acidez titulable, sólidos solubles, azúcares, fenoles, flavonoides y actividad antioxidante por el método de FRAP. En el grupo 3 y 4 se ubicaron frutos entre 1.1 y 1,5 kg, mayores dimensiones, número de semilla, sólidos solubles totales que los frutos de los grupos 1 y 2, con proporción de pulpa cercana a 82 %, acidez titulable y contenido de vitamina C promedio y baja actividad antioxidante, contenido de fenoles y flavonoides totales. Los resultados sugieren que en la colección se tienen materiales de guanábana con potencial para consumo en fresco, que se deben seguir estudiando en cuanto a su productividad y resistencia a plagas y enfermedades para su liberación a mediano plazo.

Palabras clave: Sólidos solubles totales, DPPH, fenoles, vitamina C, actividad antioxidante.

3.2 INTRODUCCIÓN

La pulpa del fruto de guanábana es muy apreciada porque tiene un sabor único, agradable, subácido y aromático; que deriva de la combinación de azúcares (16.3 – 18.2 %) y ácidos orgánicos (0.65 - 0.85 %) (Babaji & Abu, 2018; Pareek et al., 2011). Además, contiene nutrientes como proteínas, lípidos, fibras, cenizas, carbohidratos y minerales, como el K el cual se encuentra en gran concentración (0.04 – 0.08 mg g⁻¹); también contiene fenoles, flavonoides, alcaloides, saponinas, terpenoides y taninos (Tiencheu et al., 2021). Coria-Téllez et al. (2018) indican que en la pulpa de guanábana se encuentran acetogeninas que muestran actividad anticancerígena. Por lo anterior se considera que la fruta de guanábana representa una opción como alimento que puede aportar beneficios a la salud humana, además de que tiene gran potencial para su industrialización y desarrollo de productos alimenticios diversos (Villarreal-Fuentes et al., 2020).

La guanábana crece de forma silvestre, cultivada en jardines y de manera comercial, en países de clima tropical como Angola, Brasil, Colombia, Costa Rica, Cuba, Jamaica, India, México, Panamá, Perú, Venezuela y países de Sureste asiático (Hormoza et al., 2020). México se considera el principal productor y Colombia, Venezuela, Brasil y Perú son productores importantes (Coria-Téllez et al. 2018; Hormoza et al., 2020). En México, se tienen 3612.55 ha de guanábana establecidas, donde Nayarit (68 %), Michoacán (12 %) y Colima (11 %) en conjunto alcanzan 91 % del total (SIAP, 2021).

A nivel internacional la mayoría de la superficie establecida es de árboles a pie franco, es decir derivada de semilla (Pinto et al. 2005), y la progenie se ha seleccionado por el sabor de la pulpa: dulce, subácido o ácido de la pulpa del fruto, después por la forma: redonda, acorazonada, oblonga o angular y finalmente por la consistencia del fruto que varía de suave y jugoso a firme y comparativamente seco (Morton, 2013). En las huertas de producción comercial de Cuba, Granada, Costa Rica, Colombia y Brasil se ha realizado selección de materiales superiores que se

han propagado de forma sexual y cultivan regionalmente (Pinto et al., 2005; Paull y Odilio, 2012). Algunas selecciones son 'Burris', 'Guanábana sin fibra', 'Morada', 'Lisa', 'Blanca', 'Cerradonha', 'Ibrimirina', 'Gigante de Alagoas', 'FAO III', 'Elita', 'Ecotipo A', 'Guanay-1', 'Guanay-2' y 'Guanay-3' (Pinto et al. 2005; Rhamkhelawaw, 2008; Paull y Odilio, 2012; SNICS, 2021). Sin embargo, aún se considera que se desconoce la diversidad total de la especie por lo que se sugiere explorar áreas como algunas regiones de los Andes, algunas partes de Brasil, México, Guatemala, Honduras y las Antillas (Pinto et al., 2005).

En particular en México, se considera que un lugar de alta riqueza de especies del género *Annona* es la costa del Pacífico y la Región del Balsas (Escobedo et al. 2019), donde se encuentran los estados de Colima y Michoacán. En Colima, la guanábana se considera un frutal con grandes posibilidades para el desarrollo de la agricultura de la región, actualmente se cultivan cerca de 400 ha (SIAP, 2021) por lo que el INIFAP en 2010 realizó una colecta de materiales sobresalientes en tres localidades del municipio de Tecomán, Colima y en una localidad del municipio de Coahuayana, Michoacán, obteniendo varetas que fueron injertadas sobre patrones criollos y que se están evaluando para obtener materiales que pudieran ser importante en productividad y calidad en la entidad. Durante la colecta se consideró que los frutos de los materiales fueran del tipo 'Costa Rica' o 'Criollo', como se reconocen de manera regional. Los frutos tipo 'Costa Rica' muestran mayor tamaño, las protuberancias estilares de mayor tamaño, mayor acidez y menor número de semillas comparado con los materiales "Criollo".

En México, actualmente se han realizado estudios *In situ* de caracterización de la calidad de frutos en Morelos, Veracruz, Nayarit y Chiapas, donde se enfocan a características de la calidad del fruto como las dimensiones, masa, sólidos solubles totales, acidez titulable y color (Evangelista et al. 2003; Rosas & Becerra, 2012; Jiménez et al. 2016; Nolasco, Hernández & Montalvo, 2019) y en menor proporción azúcares, fenoles, flavonoides, actividad antioxidante y vitamina C (Terán et al. 2019; Villarreal et al., 2020). Sin embargo, se escasos reportes de evaluaciones algunas de las características antes mencionadas en materiales injertados y de forma *Ex situ*

(Rosas y Becerra, 2012), donde se pueda comparar el comportamiento de todos los materiales sobresalientes en un solo ambiente de producción.

Considerando lo anterior, en el presente trabajo se evaluaron algunas características físicas y químicas de frutos de 48 árboles de guanábana injertados en patrones criollos provenientes de tres localidades de Tecomán, Colima y una localidad Coahuayana, Michoacán, México, con la finalidad de determinar los grupos que se forman y las características físicas y químicas que ayudan a esas formaciones, con la finalidad de conocer los materiales que pueden ser propuestos para su propagación masiva con los productores de la región.

3.3 MATERIALES Y MÉTODOS

Durante 2019 se realizaron colectas de 48 árboles injertados de la colección de guanábana del INIFAP en Tecomán, Colima (Cuadro 1; LN 18°58'08" LO 103°50'43.5', 33 m de altitud), cuyo clima es tropical seco y semiseco, con temperatura media de 26 °C y precipitación media de 750 mm (Manzanilla-Ramírez et al., 2019). Cada semana se colectaban los frutos de los árboles en madurez fisiológica y se mantenían en un cuarto de maduración (25 °C y 80 % de HR) hasta que alcanzaran la madurez de consumo y se evaluaron algunas características físicas y químicas. En cada árbol se cosecharon entre 4 y 10 frutos en madurez fisiológica, considerando el índice de cosecha utilizado por los productores, esto es, que el fruto cambiara de un verde intenso oscuro a un color verde amarillento.

El peso del fruto se determinó en cada uno de los frutos cosechados, en una balanza digital Scout ProSp 4001 (OHAUS®, USA) con sensibilidad de 0.1 g. La cuantificación del peso de cáscara, pulpa, raquis y semilla se realizó al seccionar el fruto en cada una de esas estructuras. El número total de semillas se registró en cada fruto. La longitud, el diámetro y altura del fruto se evaluó con una cinta métrica.

El contenido de sólidos solubles totales se determinó a partir de dos gotas del jugo de fruto extraídas con la ayuda de un Súper Extractor (ATAGO ®) de cada uno de los frutos evaluados y se midió con un refractómetro (ATAGO PAL-1®, Japón) los resultados se reportaron en °Brix. La acidez titulable se determinó por el método

reportado por la AOAC (Helrich, 1990) donde 1 g de tejido se homogenizó con 15 mL de agua destilada, posteriormente se filtró el homogenizado y se tomó una alícuota de 5 mL, la cual se tituló con NaOH 1 N, usando fenolftaleína como indicador, los resultados se expresaron en porcentaje de ácido cítrico. Los azúcares totales se cuantificaron siguiendo la metodología propuesta por Whitam, Blades & Devlin (1971) y los fenoles totales conforme a la metodología de Folin-Ciocalteau (Singleton, Orthofer & Lamuel, 1999).

Cuadro 2. Árboles de guanábana evaluados en una colección en Tecomán, Colima.

Árbol	Frutos	Localidad	Municipio	Estado	Tipo
1	10	Cantarranas	Tecomán	Colima	CT
2	10	Cantarranas	Tecomán	Colima	CT
3	10	Cantarranas	Tecomán	Colima	CT
4	10	Cantarranas	Tecomán	Colima	CT
5	10	Cantarranas	Tecomán	Colima	CT
6	10	Cantarranas	Tecomán	Colima	CT
7	10	Cantarranas	Tecomán	Colima	CT
8	10	Cantarranas	Tecomán	Colima	CT
9	10	Cantarranas	Tecomán	Colima	CT
10	10	Cantarranas	Tecomán	Colima	CT
11	10	Cantarranas	Tecomán	Colima	CT
12	10	Cantarranas	Tecomán	Colima	CR
16	7	Chanchopa	Tecomán	Colima	CR
17	4	Chanchopa	Tecomán	Colima	CR
18	5	Chanchopa	Tecomán	Colima	CR
19	10	Chanchopa	Tecomán	Colima	CR
20	6	Chanchopa	Tecomán	Colima	CR
21	6	Chanchopa	Tecomán	Colima	CR

22	7	Chanchopa	Tecomán	Colima	CR
23	10	Chanchopa	Tecomán	Colima	CR
24	6	Chanchopa	Tecomán	Colima	CR
25	6	Chanchopa	Tecomán	Colima	C
26	4	Chanchopa	Tecomán	Colima	CR
27	10	Chanchopa	Tecomán	Colima	CR
31	10	Camalote	Coahuayana	Michoacán	CR
32	4	Camalote	Coahuayana	Michoacán	CR
34	10	Camalote	Coahuayana	Michoacán	CR
36	6	Camalote	Coahuayana	Michoacán	CR
37	9	Madrid	Tecomán	Colima	CT
38	10	Madrid	Tecomán	Colima	CT
39	8	Madrid	Tecomán	Colima	CT
40	10	Madrid	Tecomán	Colima	CT
42	9	Madrid	Tecomán	Colima	CT
44	10	Madrid	Tecomán	Colima	CT
45	10	Madrid	Tecomán	Colima	CT
46	10	Madrid	Tecomán	Colima	CT
47	10	Madrid	Tecomán	Colima	CT
48	9	Madrid	Tecomán	Colima	CR
50	10	Chanchopa	Tecomán	Colima	CR
53	10	Chanchopa	Tecomán	Colima	CR
58	6	Chanchopa	Tecomán	Colima	CR
63	5	Chanchopa	Tecomán	Colima	CT
66	7	Cantarranas	Tecomán	Colima	CT
67	10	Cantarranas	Tecomán	Colima	CT
68	10	Cantarranas	Tecomán	Colima	CT

70	5	CAM	Tecomán	Colima	CR
72	4	CAM	Tecomán	Colima	CR
74	9	CAM	Tecomán	Colima	CR

CR= Criollo, CT= Costa Rica.

La actividad antioxidante se determinó por los métodos de DPPH, ABTS y FRAP. Para el método de DPPH se siguió la metodología propuesta por Brand, Culivier & Berset (1995), donde 1 g de pulpa se homogenizó con 10 mL de agua destilada y se filtró, y del filtrado se tomó 0.10 ml y se dejó reaccionar con 3 mL de una solución metanólica de DPPH (6.1×10^{-5} M, Sigma Aldrich, USA) durante 30 min en oscuridad, y se leyó a 517 nm el cambio de absorbancia. La actividad antioxidante se determinó usando una curva estándar con ácido ascórbico. Los resultados fueron expresados en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA) 100 g^{-1} . Para ABTS se preparó el reactivo de ABTS (Sigma-Aldrich®, USA) 7mM y persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) a 2.45 mM, se mezcló 1:1, reposó 16 h y se diluyó con etanol 20 % hasta alcanzar una absorbancia de 0.7 ± 0.02 a 734 nm. Luego se agregaron 3 mL de ABTS con 50 μL de muestra y reaccionó durante 15 min, se leyó la absorbancia a 734 nm. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA) 100 g^{-1} peso fresco, obtenido desde una curva de calibración (Re *et al.* 1999). La actividad antioxidante por FRAP se realizó mediante la metodología de Benzie y Strain (1996), donde se preparó el reactivo FRAP (TPTZ, FeCl_3 y tampón acetato); se mezclaron 1.8 mL de FRAP con 140 μL de agua destilada y 60 μL de muestra, reaccionaron 30 min a 37 °C y transcurrido el tiempo de reacción se leyó la absorbancia a 593 nm. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA) 100 g^{-1} peso fresco con una curva de calibración de ácido ascórbico.

La vitamina C se determinó con el método propuesto por Jagota y Dani (1984) se usó para determinar vitamina C, donde 0.8 mL de una solución de ácido tricloroacético al 10 % (p/v) se adicionaron a una muestra de 1 g de pulpa de frutos de guanábana y 10 mL de agua destilada, y se homogenizaron con un Ultraturrax (IKA®, USA). La mezcla se colocó en baño de hielo por 5 min y se centrifugó 5 min a 4 000 g.

Después se realizó una mezcla de reacción con 0.5 mL del sobrenadante, 2 mL de agua doble destilada y 200 mL de una solución diluida del reactivo de Folin-Ciocalteu, reposó 10 min y se tomó la lectura en un espectrofotómetro (HACH DR 5000®, USA) a una absorbancia de 760 nm. Para calcular la concentración de vitamina C en las muestras se construyó una curva de calibración utilizando ácido ascórbico (AA), y la concentración se expresó en mg de AA 100

Los datos de las variables se estudiaron con un análisis clúster usando distancias euclidianas y el método de varianzas mínimas de Ward (Ward, 1963) donde el número de grupos se estimó con el pseudoestadístico t^2 de Hotelling (Hotelling, 1951) y que se estableció en la relativización de la distancia euclidiana en R^2 semiparciales para una generalización con estudios comparativos (Johnson, 1998). De acuerdo con Núñez & Escobedo (2014) para los grupos resultantes se realizó un análisis discriminante canónico como método de ordenación (Johnson, 1998; Núñez & Escobedo, 2014). Todas estas pruebas se calcularon con el programa SAS Ver. 8.0 (SAS Institute, 1999).

3.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de conglomerados y análisis discriminante canónico

El análisis de conglomerados agrupó a los 48 árboles en cuatro grupos (Figura 1) de acuerdo con la prueba de t^2 de Hotelling, donde la línea de corte fue de aproximadamente 0.070 (Figura 1). En el primer grupo se agruparon seis árboles, cuatro del tipo Costa Rica (CT) y dos del tipo criollo (CR); en el segundo grupo se agruparon 20 árboles, de los cuales 17 son tipo CR y 3 del tipo CT; mientras que el tercer grupo se integró por 6 árboles CT y en el cuarto grupo se integró por 16 árboles, donde 13 fueron del tipo CT y 3 del tipo CR (Figura 1). Lo anterior sugiere que en los grupos 1, 3 y 4 (entre 67 y 100 %) se agruparon los árboles con frutos tipo CT, en tanto que en el grupo 2 se agruparon en mayor proporción (85 %) los árboles con frutos tipo CR (Figura 1). La agrupación de algunos materiales tipo ‘Costa Rica’

en el grupo 2, predominantemente tipo 'Criollo' y algunos árboles tipo 'Criollo' en los grupos 1 y 4 donde predominan los tipos 'Costa Rica', sugiere que aún existe variabilidad dentro de la colección, por lo cual un estudio molecular puede ayudar a una mejor clasificación de la colección.

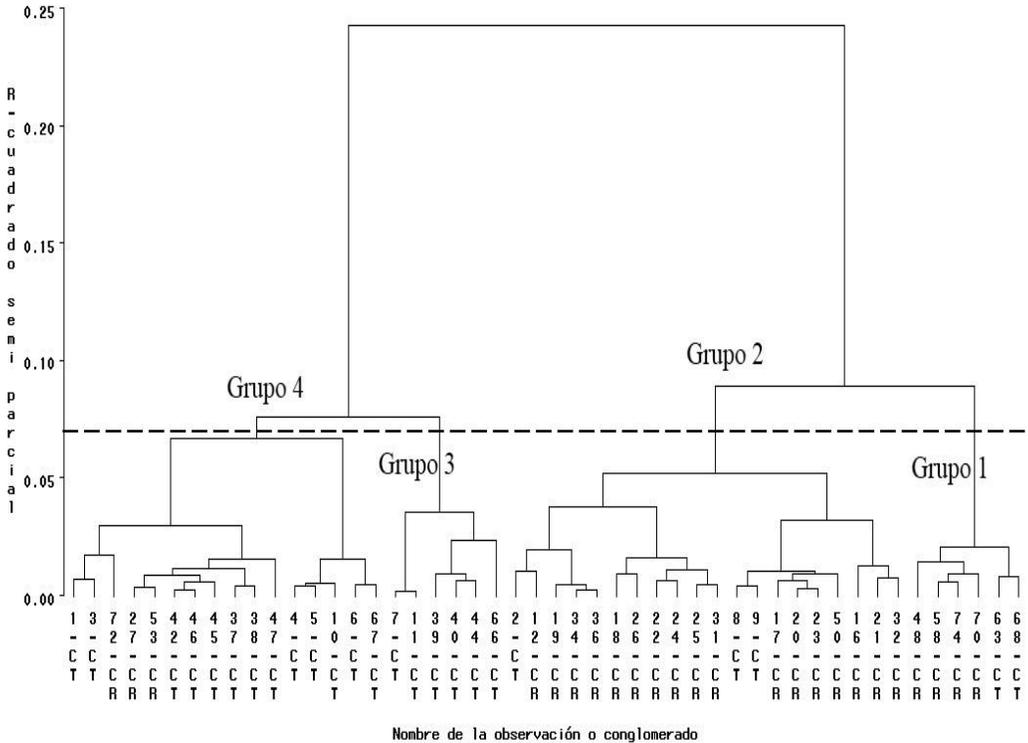


Figura 1. Dendrograma jerárquico de 18 variables del fruto evaluadas en una colección de guanábana (*Annona muricata* L.) en Tecomán, Colima, generado a partir de distancias euclidianas y el método de Ward. CT= 'Costa Rica' y CR = 'Criollo'.

La varianza total se expresó en las tres primeras variables canónicas, ya que la Can1 explicó 56 % de la varianza total, la segunda variable Can2, explicó 38 % y la tercera variable Can3 explicó el 6 % restante (Cuadro 3). En estudios con 65, 52 y 28 genotipos *In situ*, se ha determinado que dos o tres funciones canónicas explican el 100 % de la variabilidad (Evangelista-Lozano et al., 2003; Terán et al., 2019; Villarreal et al. 2020).

Cuadro 3. Valores propios y proporción de la varianza total explicada por los componentes principales, con base a la matriz de correlación aplicada a 20 características físicas y químicas de 48 árboles de guanábana.

Autovalor	Proporción de la varianza	Varianza acumulada	F aproximado	P
7.31	0.5626	0.5626	5.15	<0.0001
4.99	0.3847	0.9474	3.59	<0.0001
0.68	0.0526	1.0000	1.24	0.2983

La Can1 se relacionó de manera positiva el peso del fruto, pulpa, raquis y las dimensiones del fruto (Cuadro 4). En la Can2 se asoció de forma positiva la actividad antioxidante evaluada por el método de FRAP (Cuadro 4). Finalmente, en la Can3 se asociaron de forma positiva la acidez titulable, los fenoles totales y la actividad antioxidante por el método de DPPH, además de forma negativa el contenido de vitamina C (Cuadro 4).

Se han realizado varios estudios *In situ*, es decir en árboles a pie franco, en México donde se han evaluado algunas variables físicas y químicas del fruto y árbol de guanábana, y se ha utilizado el análisis discriminante (Bautista et al., 2003; Terán et al., 2019; Villarreal-Fuentes et al., 2020). Así, en un estudio de 65 árboles de guanábana provenientes de semilla en Jiutepec, Morelos, se determinó que la

formación de tres grupos se asoció con dos variables canónicas (Can1 y Can2), donde la Can1 se asoció al rendimiento del árbol y la luminosidad del fruto (L^*) y la Can 2 a la acidez del fruto (Evangelista-Lozano et al. 2003). Terán et al. (2019) al estudiar frutos de 52 árboles a pie franco en Compostela, San Blas y Tepic, Nayarit determinó la formación de cuatro grupos de árboles, donde el análisis discriminante canónico asoció propiedades nutraceuticas (fenoles, totales y actividad antioxidante por los métodos de DPPH, ABTS y FRAP) a la Can1, en tanto que el peso y número de semilla se asoció con la Can2 y finalmente, la Can3 se relacionó con el peso de cascara y diámetro del fruto. Finalmente, Villarreal-Fuentes et al. (2020) en un estudio de 28 genotipos procedentes de semilla en la región del Soconusco Chiapas, determinaron que los cuatro grupos formados difieren en variables como peso del fruto y sus estructuras, la cromaticidad de pulpa, longitud del fruto, fenoles totales y actividad antioxidante por DPPH y ABTS (Can1), además del diámetro del fruto y cromaticidad de la pulpa (Can2), y la firmeza y luminosidad de pulpa y azúcares totales (Can3).

El análisis discriminante canónico, realizado en la colección de guanábana *Ex situ* Tecomán, Colima, indica que los cuatro grupos difieren en variables asociadas a las dimensiones del fruto, sabor y propiedades nutraceuticas; lo cual se ha observado en estudios previos *In situ*. Por lo que, se puede proponer una clasificación de la colección de guanábana con base a las variables que los diferencian.

Cuadro 4. Vectores propios de 18 variables de fruto de las tres primeras variables canónicas de 48 árboles de guanábana pertenecientes a una colección en Tecomán, Colima.

Variable	can1	can2	can3
Peso fresco (g)	0.702377	0.580898	-0.161226
Diámetro polar (cm)	0.685296	0.520411	-0.044862
Diámetro ecuatorial (cm)	0.641432	0.496205	-0.165681
Altura (cm)	0.635736	0.438859	-0.225008
Peso de cascara (g)	0.530843	0.523926	0.35637
Peso de pulpa (g)	0.728826	0.592336	-0.122627
Peso de semilla (g)	0.598553	0.492871	-0.070965
Peso de raquis (g)	0.719064	0.241632	0.111132
Semillas (Número)	0.452454	0.279887	0.085668
Acidez Titulable (%)	0.062128	-0.568954	0.268231
Sólidos solubles totales (°Brix)	-0.211203	-0.500329	0.011619
Flavonoides totales (mg EQ 100 g ⁻¹)	-0.416769	0.283073	-0.087117
Fenoles totales (mg EAG 100 g ⁻¹)	-0.612389	0.201744	0.237952
Azúcares totales (mg g ⁻¹ p.f.)	-0.361005	-0.146229	0.083961
FRAP (mg EAA 100g ⁻¹)	-0.451965	0.733151	-0.041681
DPPH (mg EAA 100g ⁻¹)	-0.281536	-0.021675	0.248007
ABTS (mg EAA 100g ⁻¹)	-0.235381	0.26058	0.041612
Vitamina C (mg EAA 100g ⁻¹)	0.293545	-0.201034	-0.334253

La formación de los cuatro grupos de guanábana que se formaron en la colección de Tecomán, Colima fueron estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba de Mahalanobis (Cuadro 5). El MANOVA determinó diferencias en las tres raíces canónicas (Cuadro 5). La Can1 determinó diferencias entre todos los grupos, la Can2 detectó diferencias entre los grupos 1, 2 vs 3, 4 y la Can3 detectó diferencias entre los grupos 1, 2 y 4 vs 3 (Cuadro 5).

Cuadro 5. Distancia de Mahalanobis entre los grupos obtenidos del análisis clúster de 48 árboles de guanábana

	1	2	3	4
1	1.0			
2	<0.0001	1.0		
3	0.0012	0.0005	1.0	
4	<0.0001	<0.0001	<0.0001	1.0

Cuadro 6. Prueba de Tukey de las tres primeras raíces canónicas de los cuatro grupos de guanábana obtenidos en el análisis clúster.

Grupo	Can1	Can2	Can3
1	4.98 a	2.2459 a	1.1731 a
2	-0.5941 c	- 2.3357 c	0.3154 a
3	0.7852 b	0.7916 b	- 1.0537 b
4	-5.0957 d	3.4288 a	0.5921 a
DMSH	1.2606	1.2606	1.2606

Letras diferentes en la misma columna significa diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre los grupos.

Con mayor claridad de observa separación de los grupos, en Can1 los grupos 1, 3 y 4 estuvieron en la parte positiva, en tanto que el grupo 2 se mantuvo en la parte negativa. (Figura 2). En Can2 el grupo 1 se mantuvo en la parte positiva y el grupo 4 en la parte negativa, los grupos 2 y 3 se agregaron tanto en parte positiva como negativa (Figura 2). Finalmente, Can3, el grupo 1 se mantuvo en la parte positiva, los demás grupos se mantuvieron en la parte negativa (Figura 2).

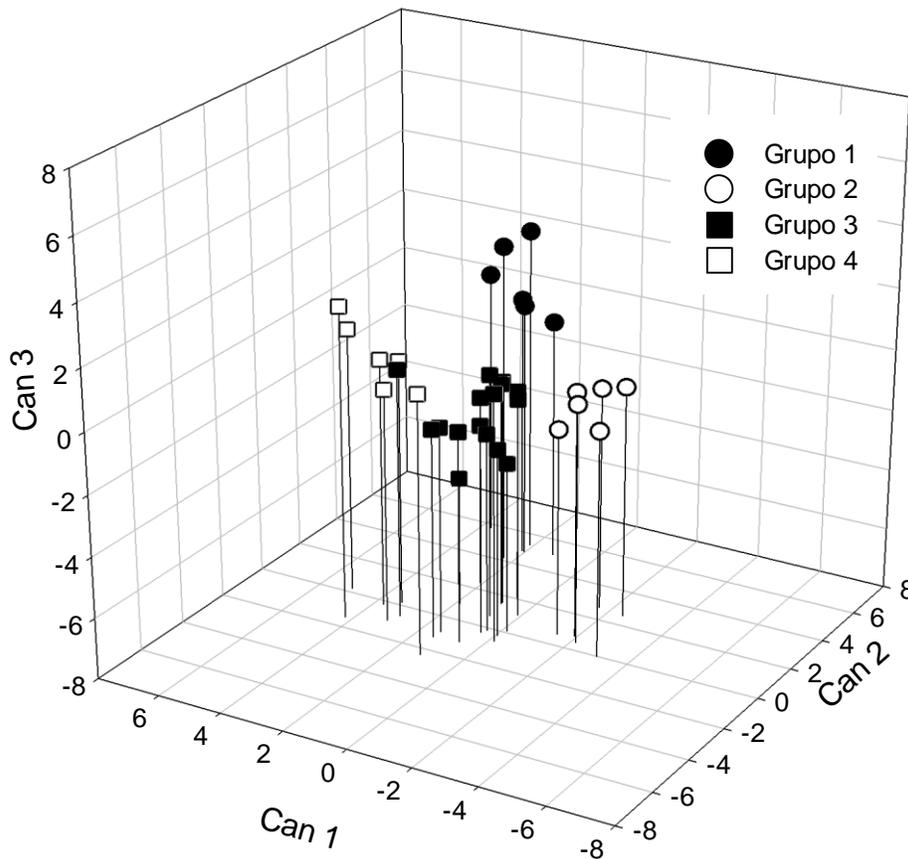


Figura 2. Representación tridimensional de 48 árboles de guanábana de una colección en Tecomán, Colima, México.

El análisis por grupos formados indica que en el grupo 1, se tienen frutos de peso y dimensiones promedio (de forma redonda), con rendimiento de pulpa de 78 %, bajo número y peso de semillas y raquis, la menor acidez titulable, pero alto contenido de sólidos solubles totales, azúcares, fenoles, flavonoides y alta actividad antioxidante por el método de FRAP (Cuadro 7). En el grupo 2 se tuvieron árboles con frutos de características similares al grupo 1 en peso total y de estructuras, así como sus dimensiones y sólidos solubles totales, pero de mayor acidez titulable, menor contenido de fenoles, flavonoides, actividad antioxidante y vitamina C (Cuadro 7).

En el grupo 3 se ubicaron frutos con peso promedio ligeramente superior a 1.1 kg, de mayores dimensiones y peso del fruto, número de semilla, sólidos solubles totales que los frutos de los grupos 1 y 2, con proporción de pulpa cercano a 82 %, acidez titulable y contenido de vitamina C promedio, baja actividad antioxidante, contenido de fenoles y flavonoides totales (Cuadro 7). Finalmente, en el grupo 4 se agruparon los frutos de mayor peso > 1.5 kg y dimensiones del fruto, la proporción de la pulpa fue de 81 %, el mayor número de semillas, el menor contenido de sólidos solubles, flavonoides, fenoles, actividad antioxidante y contenido promedio de vitamina C y acidez titulable (Cuadro 7).

Pinto et al. (2005) indican que un ideotipo del fruto de guanábana debe ser mayor de 2.5 kg para la industria y entre 0.8 y 2.5 kg para el consumo fresco, de forma cónico, sub ácido, bajo en fibras y con pocas semillas (10 a 30 por 100 g de pulpa). En México, se han realizado algunas evaluaciones *In situ* de árboles de guanábana provenientes de semilla, en Morelos, Nayarit y Chiapas, y *Ex situ* en Veracruz, detectándose gran variabilidad en el peso de los frutos, entre 0.37 kg hasta 1.9 kg, contenido de sólidos solubles totales desde 6.8 °Brix hasta 16 °Brix, acidez titulable entre 0.50 y 0.64 y porcentaje de pulpa entre 62 y 81 % (Evangelista et al. 2003; Rosas & Becerra, 2012; Jiménez et al. 2016; Nolasco, Hernández & Montalvo, 2019; Terán et al. 2019; Villarreal et al., 2020). En Brasil, se reportan materiales con peso promedio entre 2.4 y 3.01 kg, contenido de sólidos solubles totales entre 12.2 y 16 °Brix, acidez titulable entre 0.91 y 1.0 % y porcentaje de pulpa entre 83.1 y 85.8 % (Sacramento et al., 2003). En México se introdujeron en 1990 clones superiores (1, 8, 9, 10, 11, 12 y 17) para su evaluación en Tabasco, observándose que produjeron frutos entre 5.2 y 7.6 kg, con más de 12 °Brix, más de 0.75 % de acidez titulable (Cruz et al., 2002; Andrés y Andrés, 2011). Estos mismos clones se han evaluado bajo las condiciones de Cotaxtla, Veracruz cuantificándose frutos entre 1.4 y 2.6 kg de peso promedio, 13 °Brix y entre 60 y 95 semillas por fruto (Rosas y Becerra, 2012). Lo anterior sugiere que en guanábana la estabilidad no se logra en pocos años (Andrés y Andrés, 2011) además que existe influencia en el comportamiento de los materiales en dependencia de las condiciones climáticas donde están establecidos.

Considerando los resultados obtenidos, en la colección de Tecomán, Colima se tienen arboles con características para mercado fresco, con características químicas y de aporte nutricional que deben evaluarse por más tiempo, junto con características de rendimiento y resistencia a plagas y enfermedades que ayuden a ofrecer en el mediano plazo materiales para la región.

Cuadro 7. Valores promedio de 18 variables de fruto en los grupos identificados mediante el análisis de agrupamiento jerárquico de 48 árboles injertados de guanábana en Tecomán, Colima, México.

Variable	Grupo			
	1	2	3	4
Peso fresco (g)	831.07	754.03	1161.77	1518.25
Diámetro polar (cm)	11.62	11.26	13.87	16.96
Diámetro ecuatorial (cm)	11.18	11.04	12.22	13.21
Peso de cascara (g)	135.49	113.81	138.51	215.00
Peso de pulpa (g)	593.70	530.97	868.06	1196.43
Peso de semilla (g)	17.75	16.29	23.19	30.46
Peso de raquis (g)	13.48	17.16	20.88	30.47
Semillas (Número)	35.94	36.24	41.24	51.29
Acidez Titulable (%)	1.08	1.21	1.12	1.14
Sólidos solubles totales (°Brix)	13.31	14.15	13.40	12.82
Flavonoides totales (mg EQ 100 g ⁻¹)	10.01	8.83	9.06	8.52
Fenoles totales (mg EAG 100 g ⁻¹)	51.20	32.27	28.62	23.98
Azúcares totales (mg g ⁻¹ p.f.)	130.43	126.30	118.52	110.39
FRAP (mg EAA 100g ⁻¹)	151.72	65.97	93.00	82.59
DPPH (mg EAA 100g ⁻¹)	59.62	55.11	50.78	50.81
ABTS (mg EAA 100g ⁻¹)	63.64	52.17	54.21	52.86
Vitamina C (mg EAA 100g ⁻¹)	63.35	72.17	74.25	71.91

3.5 CONCLUSIONES

El análisis In situ ayuda a una expresión de mayor estabilidad de las variables evaluadas, lo que ayuda a la selección de materiales para su posterior liberación. Se detectó variabilidad en la colección estudiada, lo que sugiere que aun hace falta mayores evaluaciones para determinar algunos materiales promisorios y su liberación.

3.6 LITERATURA CITADA

- Andrés, A.J., Andrés, H.L. (2011). Biología, diversidad, conservación y uso sostenible de los recursos genéticos de Annonaceae en México. Texcoco, México: Universidad Autónoma Chapingo.
- Helrich, K. (1990). *Official Methods and Analysis*. Arlington: Association of Official Analytical Chemists.
- Babaji, S. S. & Abu, M.F.B. (2018). Soursop. In Rodrigues, S., Silva, E. de O.; De Brito, E.S. (Eds.), *Exotic Fruits. Reference Guide (pp.391-395)*. UK: Elsevier-Academic Press.
- Benzie, I. F., & Strain J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239 (1), 70-76. doi: 10.1006/abio.1996.0292.
- Brand, W.W., Culivier, M.E. and Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* 28(1), 25-30.
- Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS). 2021. Catálogo Nacional de Variedades Vegetales. En línea: <https://www.gob.mx/snics/articulos/catalogo-nacional-de-variedades-vegetales-en-linea?idiom=es>.

- Cruz, C.J.G., Torres, L.P.A., Delgado, M.J.C., Domínguez, M.V., Martínez, P.D., Franco, M.O. (2002). El guanábano. *Agronomía y usos de frutales tropicales*. Texcoco, México: Universidad Autónoma Chapingo.
- Escobedo-López, D., Campos-Rojas, E., Rodríguez-Núñez, J.R., Alia-Tejacal, I., Núñez-Colín, C.A. 2019. Priority areas to collect germplasm of *Annona* (Annonaceae) in Mexico based on diversity and species richness indices. *Genet. Resour. Crop Evol.* 66: 401-413.
- Evangelista, S.L., Cruz, J. G. C., Pérez, S. G., Mercado, E.S., & Dávila, G. O. (2003). Producción y calidad frutícola de guanábanos (*Annona muricata* L.) provenientes de semilla de Jiutepec, Morelos, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 9(1), 69-79. doi: 10.5154/r.rchsh.2001.05.027.
- Hormoza, J.I., Carmona, E., Gonzalez-Padilla, I.M., Larrañaga, N., Lara, J., Talavera, A, López, E.C. 2020. *Annona* spp. Atemoya, Cherimoya, Soursop and Sugar Apple. In *Biotecnology of Fruit and Nut Crops*. Litz, R.E., Pliego-Alfaro, F., Homaza, J.I. (eds.). pp: 65-78. CABI: London, UK.
- Helrich, K. (1990). *Official Methods and Analysis*. (Arlington: Association of Official Analytical Chemists).
- Hotelling, H. A. (1951). Generalized t test and measure of multivariate dispersion. In *Proceedings of the 2nd Berkeley Symposium of Mathematical Statistic and Probability* (pp. 23-41). Berkeley: University of California Press.
- Jagota, S.K. and Dani H.M. (1982). A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent. *Anal. Biochem.* 127, 178–181.
- Jiménez, Z. J. O., Balois, R. M., Alia, I. T., Juárez, P. L., Sumaya, M. T. M., & Bello, J. E. L. (2016). Caracterización de frutos de guanábana (*Annona muricata* L.) en Tepic, Nayarit, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(6), 1261-1270. doi: 10.29312/remexca.v7i6.175.
- Johnson, D. E. (1998) *Métodos multivariados aplicados al análisis de datos*. Ciudad de México: International Thomson Editores.

- Manzanilla-Ramírez, M. Á., Á. Villegas-Monter, J. J. Velázquez-Mancera, M. Sandoval-Villa, A. Muñoz-Orozco. (2019). Cambios fisiológicos en árboles de limón mexicano en producción infectados con HLB. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10(7): 1603-1614.
- Nolasco, Y. G., Hernández, L. M. F., & Montalvo, E. G. (2019). Caracterización morfológica y fisicoquímica de frutos de accesiones de guanábanas seleccionadas en Nayarit. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 23, 223-237. doi: 10.29312/remexca.v0i23.2023.
- Núñez, C.A. C., & Escobedo, D. L. (2014). Caracterización de germoplasma vegetal: la piedra angular en el estudio de los recursos fitogenéticos. *Acta Agrícola y Pecuaria*, 1(1), 1-6. Retrieved from: <http://aap.uaem.mx/index.php/agricolaypecuaria/article/view/45>.
- Pareek, S., E.M. Yahia, O.P. Pareek, & R. A. Kaushik (2011). Postharvest physiology and technology of Annona fruits. *Food Research International* 44: 1741-1751.
- Paull, R.E., Duarte, O. (2012). *Tropical Fruits V. 2*. CABI: London, UK.
- Pinto, A. C. De Q., & Andrade, S. R. M. (2005). Genetic improvement. In Pinto, A. C. De Q., Filgueiras, M. C. R., Alvez, R. E., Kinpara, D. I. (eds.) *Annona species* (pp. 53-69). Southampton: University of Southampton.
- Ramkhelawan, E. (2008). *Production Guide for Sapodilla, Soursop and Sugar Apple*. Trinidad y Tobago: Inter American Institute for Cooperation on Agriculture.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice, C. E. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1337. doi: 10.1016/s0891-5849(98)00315-3.
- Rosas, G. X., & Becerra, E. N. L. (2012). *Manual de producción de guanábana (Annona muricata L.)*. Veracruz, México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

- Sacramento, C.K., Faria, J.C., Cruz, F.L. Barreto, W.S., Gaspar, J.W., Leite, J.B.V. (2003). Caracterizacáo física e química de frutos de tres tipos de graviroleira (*Annona muricata* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura* 25(2): 329-331.
- SAS (Statistical Analysis System Institute). (1999). *SAS OnlineDoc®*, V. 8. Cary: SAS Institute Inc.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2021). Consultado 12-04-2020 en <http://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuel, R. M. R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178. doi: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1.
- Terán, E. B., Alia, I. T., Balois, R. M., Juárez, P. L., López, G. G. G., Pérez, G. A. A., & Núñez, C. A. C. (2019). Caracterización física, química y morfológica de frutos de guanábana (*Annona muricata* L.). *Agrociencia*, 53, 1013-1027. Retrieved from <https://www.colpos.mx/agrocien/Bimestral/2019/oct-nov/art-6.pdf>.
- Tiencheu, B., Egbe, C. A., Achidi, U.A., Tenyang, N., Ngongang, T.EF., Djikeng, T. Fossi, T.B. (2021) Nutritional, organoleptic and phytochemical properties of soursop (*Annona muricata*) pulp and juice after postharvest ripening. *European Journal of Food Nutrition & Food Safety* 13(1): 1-28.
- Villarreal-Fuentes, J.M., Alia-Tejacal, I., Hernández-Salvador, M.A., Hernández-Ortiz, E., Marroquín-Agreda, F.J., Núñez-Colín, C. A., Campos-Rojas, E. (2020) Caracterización *in situ* de guanábana (*Annona muricata* L.) en el Soconusco, Chiapas, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 26(3): 163-179.
- Ward, J. H. Jr. (1963). Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of American Statistics Association*, 58, 236-244.
- Whitam, F. F., Blades, D. F., & Devlin, R. M. (1971). *Experiments in Plant Physiology*. New York; Van Nostrand Reinhold.

CAPÍTULO IV

Caracterización molecular de una colección de guanábana (*Annona muricata* L.) de Colima mediante marcadores ISSR.

4.1 RESUMEN

En el Campo Experimental Tecomán, Colima, México del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas Pecuarias y Forestales se cuenta con una colección de *ex situ* de guanábana la cual tiene como fin evaluar materiales seleccionados del tipo Criollo y Costa Rica para ofrecer material vegetal que ayude a incrementar las opciones de producción de este frutal en la Región. Esta colección se ha evaluado en características físicas, químicas y morfológicas, sin embargo estas son influenciadas por el ambiente, por lo que una evaluación con marcadores moleculares ayudaría a la diferenciación adecuadamente los materiales establecidos. El objetivo fue realizar una evaluación con marcadores moleculares SSR en la colección para determinar la diversidad que se encuentra en la colección de guanábana. Los resultados indican que con la metodología de extracción de DNA se obtienen cantidades suficientes de la hoja de guanábana. Cinco iniciadores fueron los que obtuvieron mayor polimorfismo en los materiales evaluados. El análisis con el árbol de consenso mostró la formación de cinco grupos, sin embargo en cada grupo se tuvo mezclados árboles de tipo Criollo y del tipo Costa Rica, por lo que se concluye que existió baja diversidad en la colección de guanábana, y que no se pudo diferenciar adecuadamente los tipos evaluados.

Palabras clave: Criollo, Costa Rica, DNA, SSR.

4.2 INTRODUCCIÓN

La guanábana (*Annona muricata* L.) es una especie originaria de Centroamérica y los valles de Perú, y se considera que es una especie con gran potencial para procesar o industrializar debido al excelente sabor de su pulpa y gran proporción en los frutos (Brown et al., 2003). En México se tienen establecidas 3 612 ha con un valor de la producción de 248 millones de pesos, y los principales estados productores son Nayarit, Michoacán, Colima y Guerrero, que contribuyen con el 68, 11.7, 8.8 y 5 % de la producción total (SIAP, 2021). En México, este cultivo se consume principalmente en la preparación de refrescos y helados sin embargo esta especie tuvo una amplia expansión desde tiempos prehispánicos (Agustín y Segura, 2014) y actualmente en la región donde se cultiva se considera un cultivo redituable superando en ingresos a otros frutales como el mango (Anaya-Dyck et al. 2021).

México, a pesar de ser el principal productor de guanábana en el Mundo presenta problemáticas importantes en los diferentes eslabones que componen la cadena productiva (Anaya-Dyck et al., 2021). La mayor proporción de las huertas establecidas en México son de semilla, lo que ocasiona una gran diversidad de ecotipos o fenotipos (Lira-Ortiz et al. 2022). La falta de variedades o bancos de germoplasma donde se estudie la diversidad de materiales es importante para general programas de mejoramiento genético que apoyen en la liberación de variedades para las diferentes regiones productoras.

En México, se han realizado caracterización morfológica de árboles de guanábana de forma in situ y ex situ con la finalidad de seleccionar tipos sobresalientes comerciales (Evangelista et al. 2003; Rosas & Becerra, 2012; Jiménez et al. 2016; Nolasco, Hernández & Montalvo, 2019; Terán et al. 2019; Villarreal et al., 2020). Sin embargo, los caracteres morfológicos y bioquímicos son afectados por las condiciones edáficas y climáticas, por lo que para complementar los estudios de diversidad o de caracterización de los cultivos, es importante utilizar marcadores moleculares (Anuragi et al., 2016; Andi et al., 2017).

A nivel internacional se han realizado trabajos de diversidad del género *Annona* y algunas colecciones de guanábana, utilizando marcadores moleculares RAPDS y SSR (Brown et al., 2003; Anuragi et al., 2016; Andi et al., 2017) o utilizando códigos de barras de DNA (Larranaga y Hormoza, 2015). Recientemente la publicación del genoma de la guanábana ayudará a la investigación en la ecología, evolución y domesticación en especies tropicales (Strijk et al., 2021). En México, se han realizado algunos trabajos para determinar la diversidad de la guanábana *In situ* en Nayarit, utilizando marcadores SSR y SRAP, determinando baja diversidad genética en la zona y poblaciones estudiadas (Talamantes-Sandoval et al., 2019; Lira-Ortiz et al. 2021).

En Colima, la guanábana se considera un frutal con grandes posibilidades para el desarrollo de la agricultura de la región, por lo que el INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias) en 2010 realizó una colecta de materiales sobresalientes en tres localidades del municipio de Tecomán, Colima y en una localidad del municipio de Coahuayana, Michoacán; obteniendo varetas que fueron injertadas sobre patrones criollos y que se están evaluando para proponer materiales que pudieran ser importantes en su productividad y calidad. Se ha realizado una caracterización de la calidad morfológica y química de los frutos. Sin embargo, es necesario complementar dicho estudio al utilizar marcadores moleculares, que ayudaran a determinar algunos procedimientos de manejo de esta colección.

4.3 MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se trabajó con árboles de guanábana del Banco de Germoplasma en el Campo Experimental Tecomán, del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en Tecomán, Colima, México, que cuenta con 10 años de establecido y está constituido por 23 accesiones y un testigo (Cuadro 8). Cada accesión tenía tres repeticiones. Se colectaron entre 8 y 12 hojas por la mañana y fueron colocadas en bolsas Ziploc® que contenían sobres de 1 g de

desecante silica gel, y fueron trasladadas en una hielera de plástico al Laboratorio de Biotecnología de la Universidad de Guanajuato (Figura 3).



Figura 3. Forma de transportar el material vegetal.

Cuadro 8. Materiales de guanábana colectados en diferentes localidades de Tecomán, Colima, México.

Árbol	Origen	Tipo	Codificación
1	CANTARRANAS	COSTA RICA	CTR
2	CANTARRANAS	COSTA RICA	CTR
3	CANTARRANAS	COSTA RICA	CTR
4	CANTARRANAS	COSTA RICA	CTR
5	INIFAP	COSTA RICA	CTR
6	CHANCHOPA	COSTA RICA	CTR
7	CHANCHOPA	COSTA RICA	CTR
8	CHANCHOPA	COSTA RICA	CTR
9	CHANCHOPA	COSTA RICA	CTR
10	CAMALOTE	COSTA RICA	CTR
11	CAMALOTE	COSTA RICA	CTR
12	CAMALOTE	COSTA RICA	CTR
13	CAMALOTE	COSTA RICA	CTR
14	MADRID	CRIOLLA	CR

15	MADRID	CRIOLLA	CR
16	MADRID	CRIOLLA	CR
17	MADRID	CRIOLLA	CR
18	CHANCHOPA	CRIOLLA	CR
19	CHANCHOPA	CRIOLLA	CR
20	CHANCHOPA	CRIOLLA	CR
21	CHANCHOPA	CRIOLLA	CR
22	CHANCHOPA	CRIOLLA	CR
23	CHANCHOPA	CRIOLLA	CR
24	TESTIGO SIN INJERTAR	DESCONOCIDO	CR

CR= Criollo, CTR= Costa Rica

EXTRACCIÓN DE DNA

Se procedió a utilizar la metodología descrita por Saghai-Marooof *et al.* (1984) realizando algunas modificaciones, las cuales se describen a continuación. En el Laboratorio de Biotecnología, de la UG Campus Celaya el tejido foliar fue pulverizado con nitrógeno líquido y almacenado a -80 °C en un ultra congelador, utilizando tubos Eppendorf® con capacidad de 1.5 mL (Figura 2 y 3a), posteriormente se llevó a cabo agitación manual con CTAB (Figura 3c), adicionalmente se agregó fenol:cloroformo:alcohol isoamilico (Figura 3d), después se centrifugaron (Figura 3e), se realizó la separación de sobrenadante con DNA (Figura 3f), se obtuvo la formación de hebra con isopropanol (Figura 3g), se inició un lavado de hebra con etanol al 96 % (Figura 3h), se formó la pastilla de DNA y se dejó secar (Figura 3i), se realizaron lecturas en Nanodrop One® para la cuantificación de DNA (Figura 3j) y los índices de calidad, se llevó a cabo la electroforesis (Figura 3k), donde finalmente se visualizó la integridad de DNA (Figura 3l).



Figura 4. Tejido vegetal pulverizado con nitrógeno líquido.

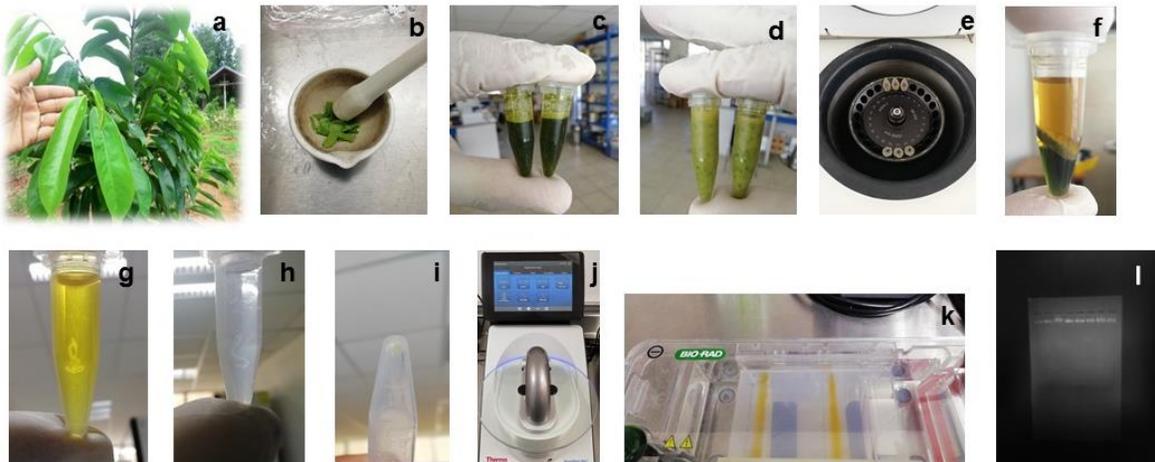


Figura 5. Procedimiento de extracción de ADN.

AMPLIFICACIÓN DE ISSR

Se utilizaron 16 iniciadores universales ISSR (Cuadro 9) de acuerdo con Escobedo-López y Núñez-Colín (2015).

Cuadro 9. Lista de iniciadores ISSR utilizados en una colección de guanábana.

Nombre del primer	Secuencia
PV01	CAC CAC CAC GC
PV02	GTG GTG TGT GTG TGT GTG T
PV03	GAG AGA GAG AGA CC
PV04	CTC TCT CTC TCT CTC TGC
PV05	CCG CCG CCG CCG
PV06	GTG TGT GTG TGT CC
PV07	CAG CAG CAG CAG CAG
PV08	GTG GTG GTG GC
PV09	GAG GAG GAG GC
PV10	CCA CTC TCT CTC TCT CTC T
ISSR7	AGA GAG AGA GAG AGA GTG
ISSR16	ACA CAC ACA CAC ACA C
ISSR19	GCC GCC GCC GCC GCC
UBC830	TGT GTG TGT GTG TGT GG
UBC835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC
UBC841	GAG AGA GAG AGA GAG AYC

Las condiciones de la mezcla de reacción de PCR fueron las siguientes: el volumen para la PCR fue de 25 μL , conteniendo 2.5 μL de 10x PCR, 0.75 μL de 10mM dNTPs, 1 μL de 50mM MgCl_2 , 1.25 μL de oligo, 0.1 μL de Taq DNA Polimerasa, 1 μL de ADN (muestra) y 17.65 μL de agua esterilizada.

Las condiciones de termociclaje fueron las siguientes: 94° por 3 minutos, seguido de 35 ciclos de 94° 1 minuto, 49° por 1 minuto, 72° por 1 minuto y 72° por 10 minutos en un Termociclador BIO-RAD T100™. Los productos de PCR se separaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.5% con amortiguador TAE y teñidos con bromuro de etidio.

ANÁLISIS DE DATOS

Los datos fueron analizados mediante una elaboración de una matriz de datos binarios de ausencia (cero) y presencia (uno) de bandas. Con la matriz se realizó un árbol de consenso utilizándose el método Majority Rule Consensus Tree con una $S=0.5$ (Jansson et al., 2013) con el programa NTSYS v 2.2.

4.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las muestras de ADN con mayor rendimiento y calidad fueron las siguientes como se muestra en el cuadro 2. 10, 17, 18, 23, 62, 68, 76.

Cuadro 10. Rendimiento y calidad de ADN en 20 muestras.

MUESTRA	$\mu\text{g}/\mu\text{l}$	A260/A280	A260/A230
2	2.699	1.9	2.0
6	2.869	2.0	2.0
10	3.749	2.0	2.1
11	2.098	1.9	1.9
17	4.991	1.9	2.0
18	3.354	1.9	1.9
20	2.635	1.9	1.9
23	3.312	1.9	2.1
27	1.096	1.9	1.9
29	2.425	1.9	2.1
32	2.169	1.9	2.1
34	1.016	1.9	2.1
36	1.496	1.9	2.1
41	2.944	1.9	2.1
54	2.379	1.9	2.0
62	3.444	1.9	2.0
68	2.776	1.9	2.0
75	1.769	2.0	2.0
76	2.705	1.9	1.9
78	2.309	2.0	1.9

Los marcadores que presentaron un mayor polimorfismo fueron PV05, PV08, ISSR7, ISSR16 e ISSR19. El iniciador PV05 como se muestra en la Figura 6 A solo amplificaron las muestras 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 10,11 y 13. En el gel B utilizando las mismas muestras solo amplificaron las 3, 4, 5, 9, 10, 11 y 13. Finalmente en el gel C con las mismas muestras solo amplificó la muestra 4.

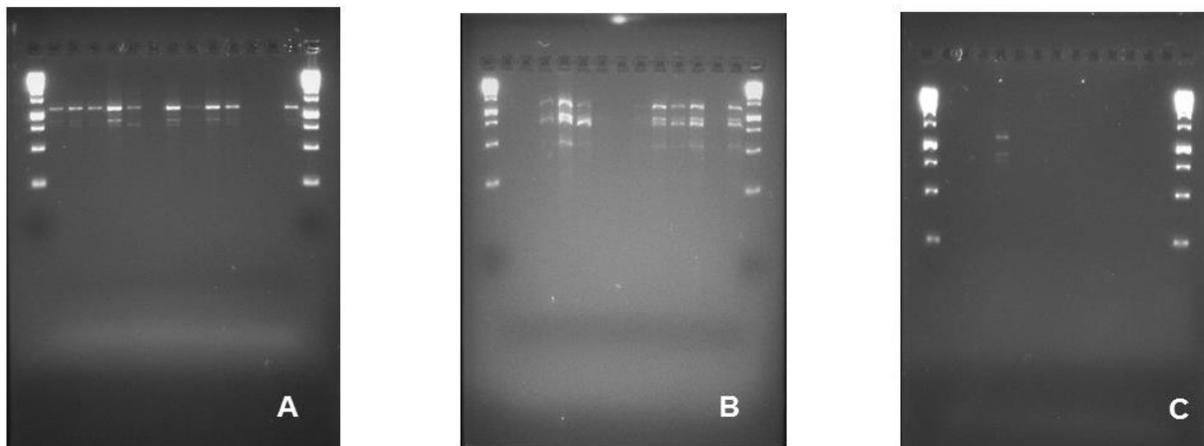


Figura 6. Iniciador **PV05** (A) muestras 1-13, 51° (muestras amplificadas 9), (B) muestras 1-13, 51° (muestras amplificadas 7), (C) muestras 1-13, 51° (muestra amplificada 1).

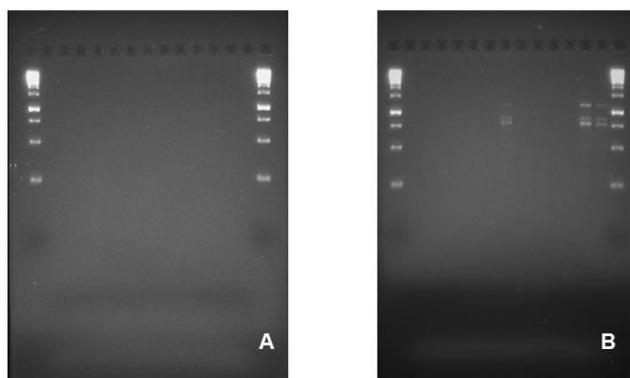


Figura 7. Iniciador **PV05** (A) muestras 14-26 51° (muestras amplificadas 0), (B) muestras 27-39 51° (muestras amplificadas 33,38 y 39).

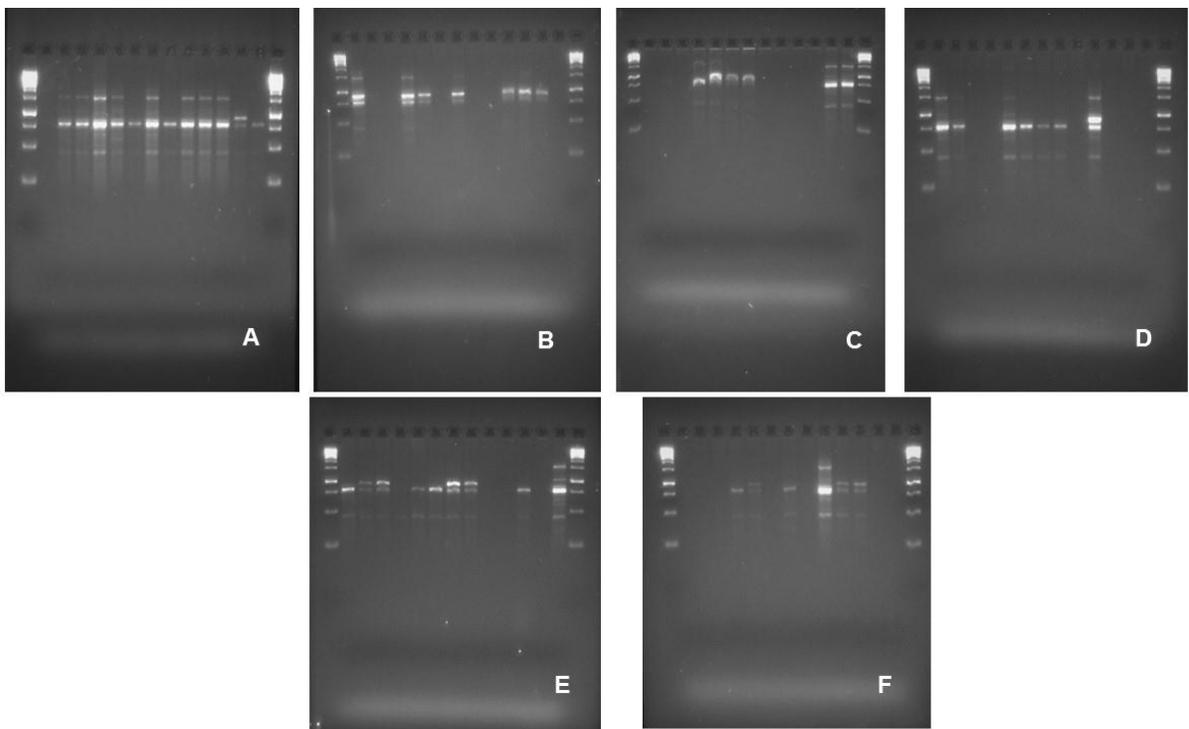


Figura 8. Iniciador **ISSR 7**. **(A)** Muestras 1-13 49° (muestras amplificadas 12), **(B)** muestras 14-26 49° (muestras amplificadas 7), **(C)** muestras 27-39 49° (muestras amplificadas 6), **(D)** muestras 40-52 49° (muestras amplificadas 7), **(E)** muestras 53-65 49° (muestras amplificadas 9), **(F)** muestras 66-78 49° (muestras amplificadas 6).

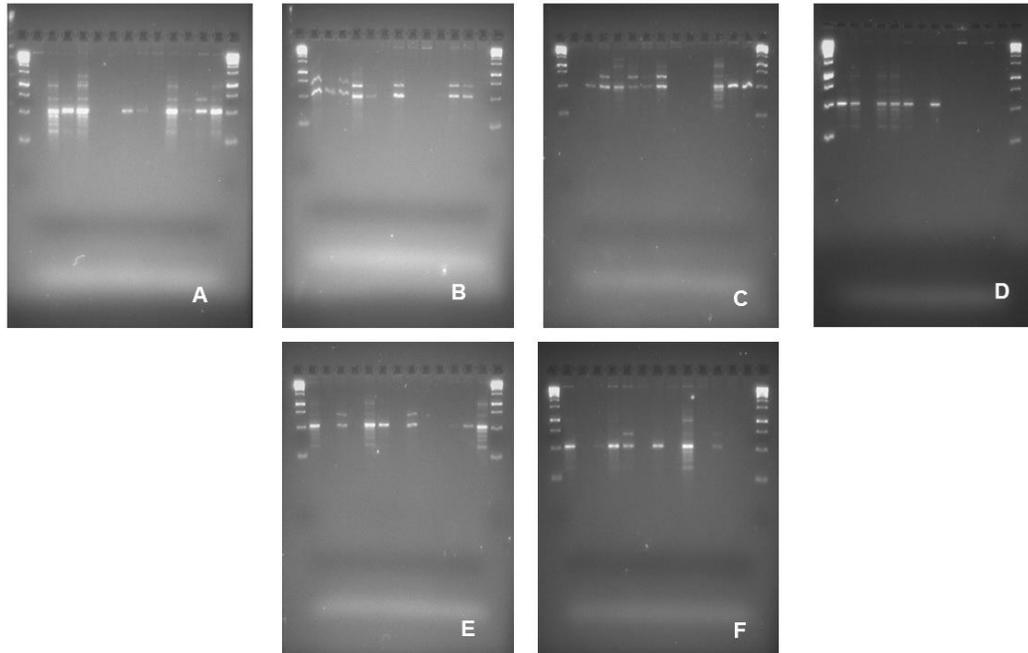


Figura 9. Iniciador **PV08**. **(A)** Muestras 1-13 49° (muestras amplificadas 7), **(B)** muestras 14-26 49° (muestras amplificadas 6), **(C)** muestras 27-39 49° (muestras amplificadas 8), **(D)** muestras 40-52 49° (muestras amplificadas 6), **(E)** muestras 53-65 49° (muestras amplificadas 7), **(F)** muestras 66-78 49° (muestras amplificadas 6).

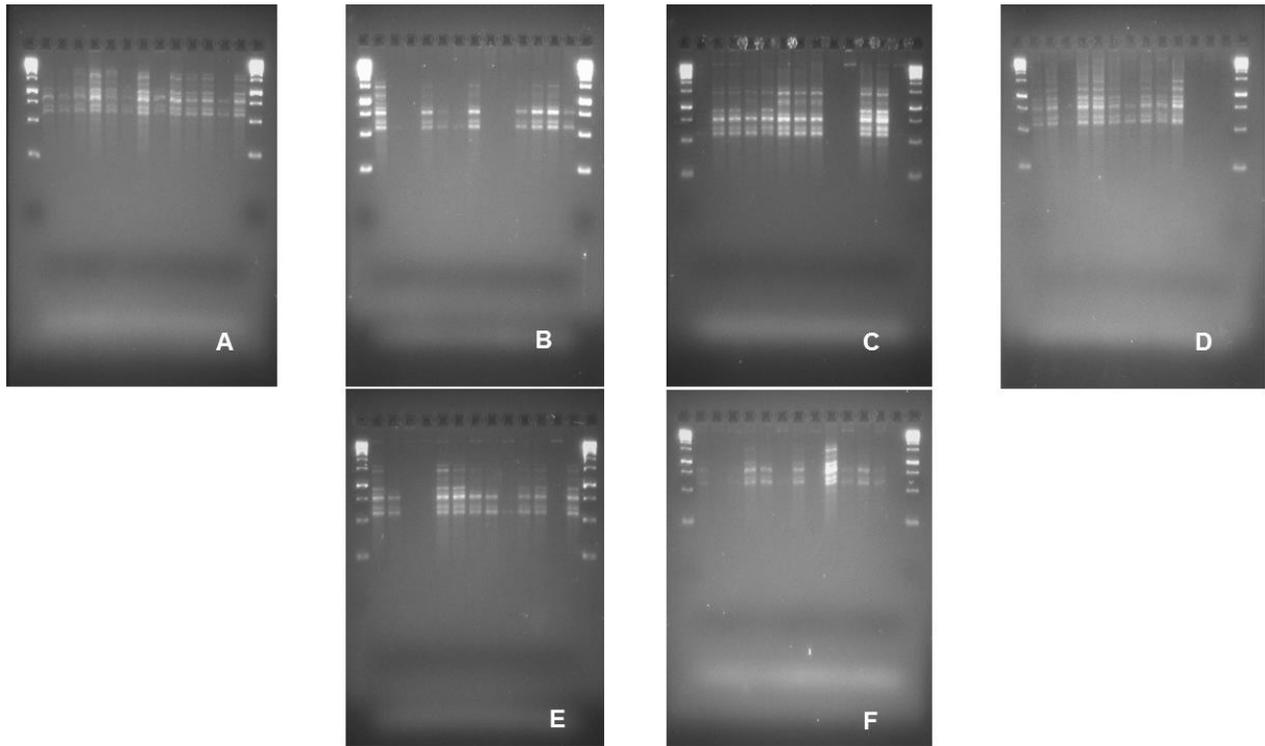


Figura 10. Iniciador **ISSR 16**. **(A)** muestras 1-13 49° (amplificadas 13), **(B)** muestras 14-26 49° (amplificadas 8), **(C)** muestras 27-39 49° (amplificadas 9), **(D)** muestras 40-52 49° (amplificadas 9), **(E)** muestras 53-65 49° (amplificadas 9), **(F)** muestras 66-78 49° (amplificadas 7).

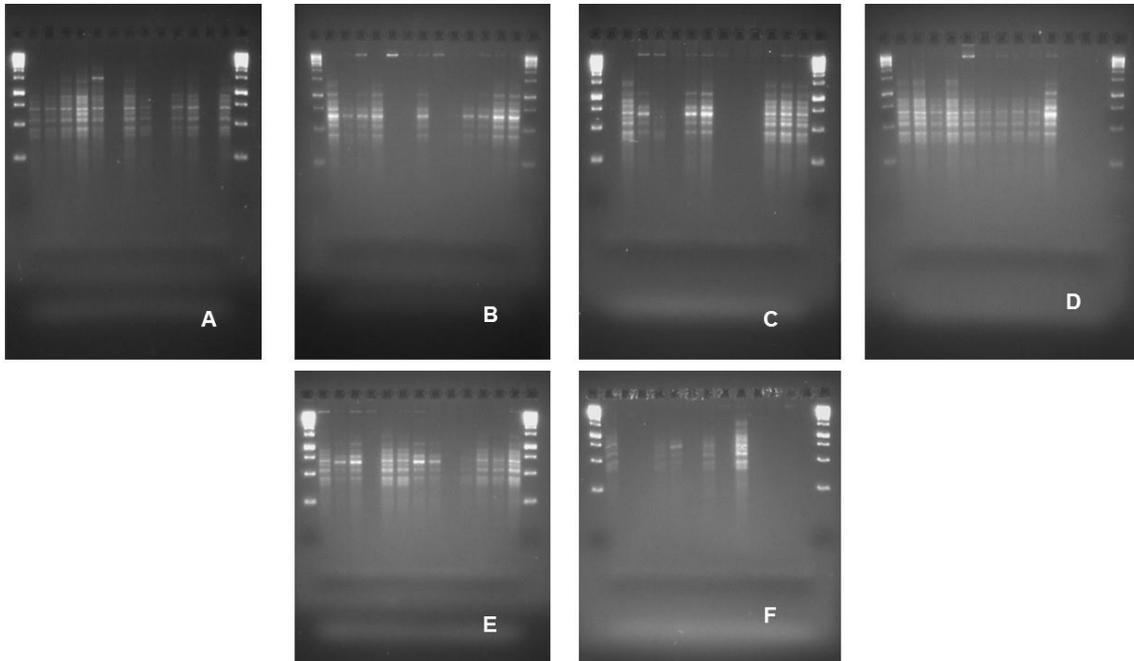


Figura 11. **Iniciador 19.** **(A)** muestras 1-13 49° (muestras amplificadas 10), **(B)** muestras 14-26 49° (muestras amplificadas 9), **(C)** muestras 27-39 49° (muestras amplificadas 8), **(D)** muestras 40-52 49° (muestras amplificadas 10), **(E)** muestras 53-65 49° (muestras amplificadas 11), **(F)** muestras 65-78 49° (muestras amplificadas 5).

La falta de amplificación en las 72 muestras utilizadas puede deberse a que los iniciadores utilizados no encuentran bases complementarias.

ÁRBOL DE CONSENSO

El análisis formó cinco grupos de árboles a una distancia de corte de 0.80 (Figura 12) y coincide con el agrupamiento tridimensional (Figura 13). En el Grupo 1 se integraron 61 árboles; en el Grupo 2 estuvo integrado por 5 árboles de los cuales 4 eran del tipo criollo y 1 del tipo Costa Rica; en el Grupo 3 se integraron 4 árboles, donde 3 árboles fueron del tipo criollo y 1 árbol tipo Costa Rica, y en los Grupos 4 y 5 formaron por 1 árbol cada uno, en el primero uno de tipo criollo y en el segundo uno de tipo Costa Rica (Figura 12 y 13). Estos resultados indican que existe poca diversidad en la colección de guanábana evaluada, y que aun existe mezcla entre los tipos criollos y Costa Rica. Es necesario realizar una evaluación con más iniciadores y corroborara estos resultados preliminares.

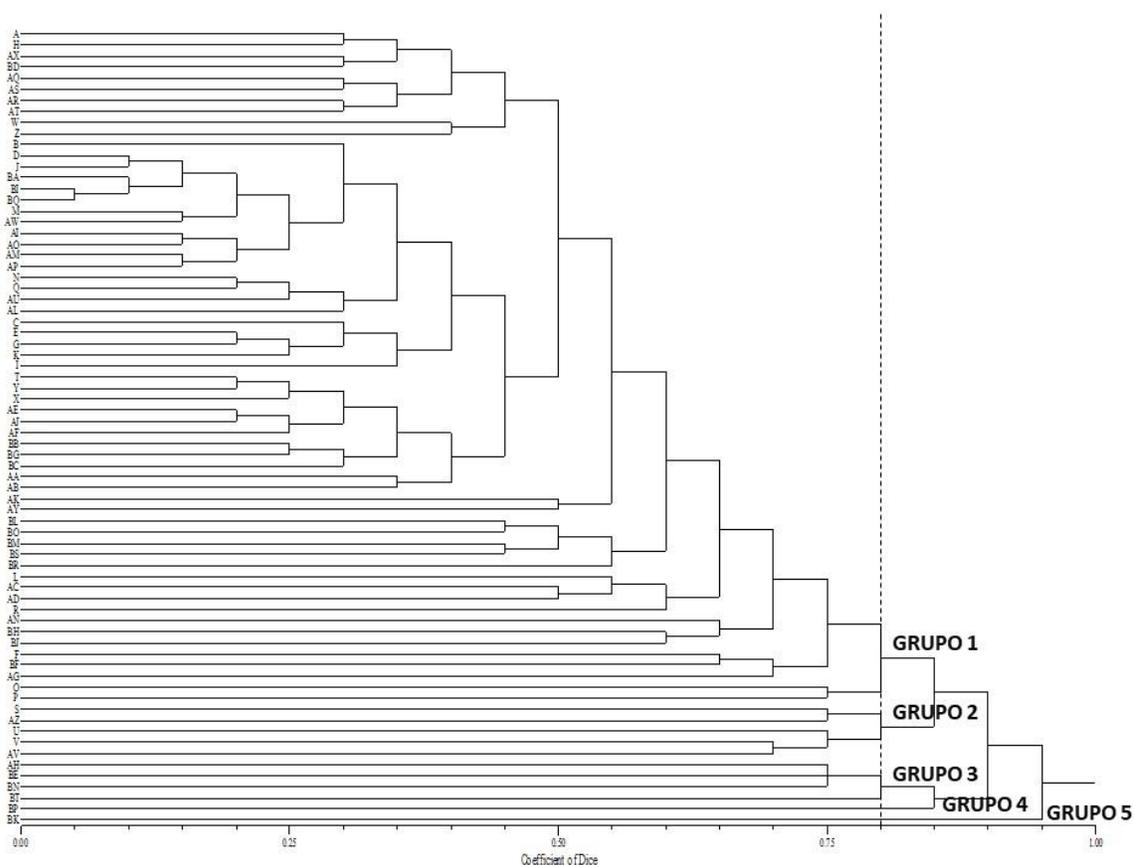


Figura 12. Dendrograma de 72 árboles de una colección de guanábana utilizando el método UPGMA.

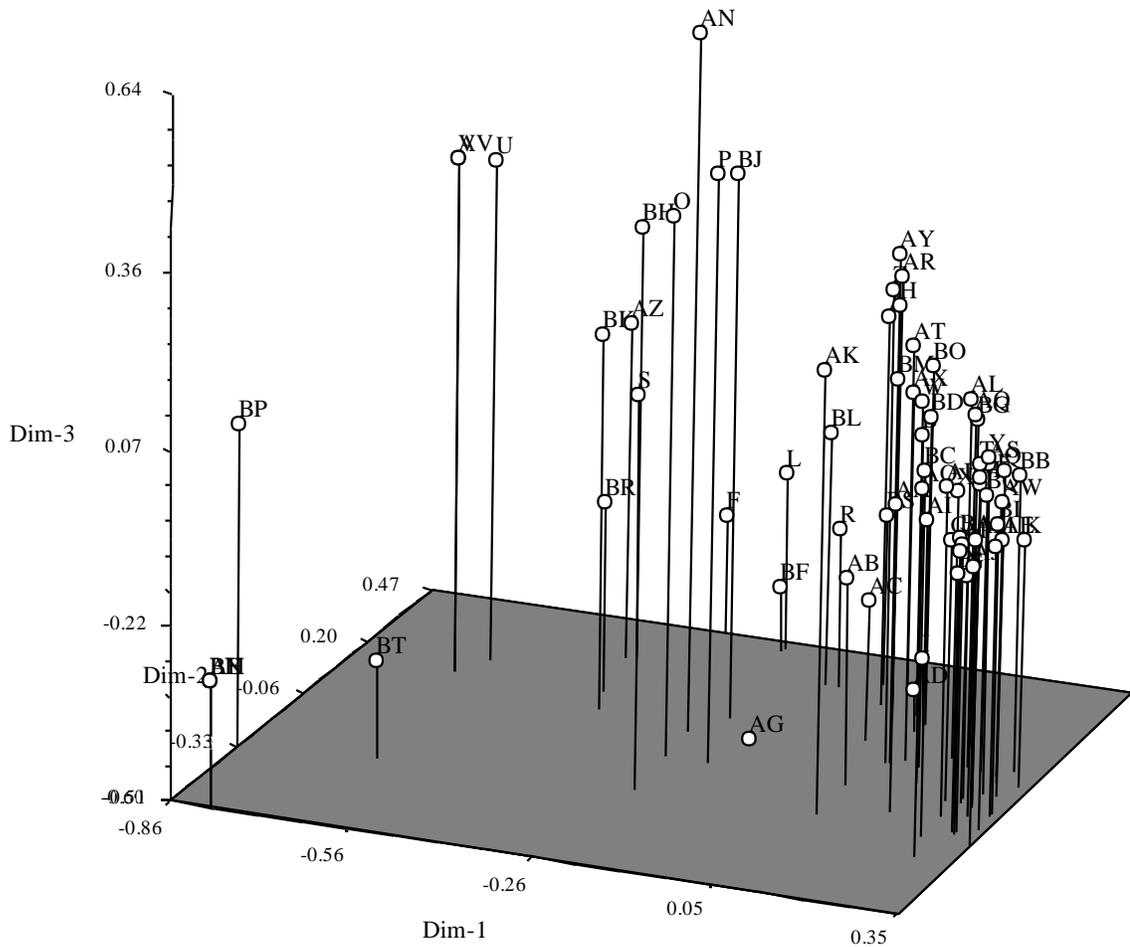


Figura 13. Representación tridimensional de la agrupación molecular de 72 árboles de guanábana de una colección en Tecomán, Colima, México.

4.5 CONCLUSIONES

En este trabajo inicial se observó poca variabilidad dentro de la colección de guanábana, no se formaron grupos considerando el tipo criollo o Costa Rica.

4.6 LITERATURA CITADA

- Agustín, J.A., Segura, L. S.D. (2014). Conservación y uso de los recursos genéticos de annonaceae en México. *Revista Brasileira de Fruticultura* 36: 118-124.
- Anaya-Dyck, J.M., Hernández-Oñate, M.Á., Baéz-Sañudo, R., Gutiérrez-Martínez, P., Tiznado-Hernández, M.E. (2021). La cadena productiva de guanábana: una opción para el desarrollo económico en Compostela, Nayarit. *Estudios Sociales*. 31(57): e211048.
- Andi, B. E., N. Constance O., P. Nkachukwu C. 2017. Characterization and selection of exploitable genetic diversity in soursop (*Annona muricata* Linn.) accessions based on phenotypic attributes and RAPD markers. *Agroforest Syst.* 91: 781-793.
- Anuragi, H., H. L. Dhaduk, S. Kumar, J. J. Dhruve, M. J. Parekh, A. A. Sakure. 2016. Molecular diversity of annona species and proximate fruit composition of selected genotypes. *3 Biotech* 6: 204.
- Brown, J., Laurentín, H., Dávila, M. (2003). Genetic relationships between nine *Annona muricata* L. accesions using RAPD markers. *Fruits* 58: 255-259.
- Escobedo-López, D., Núñez-Colín, C.A. 2015. Variabilidad genética de una población segregante de mora mexicana (*Morus celtidifolia* Kunht) determinada por marcadores ISSR. *Acta Agrícola y Pecuaria* 1(3): 93-98.
- Evangelista, S.L., Cruz, J. G. C., Pérez, S. G., Mercado, E.S., & Dávila, G. O. (2003). Producción y calidad frutícola de guanábanos (*Annona muricata* L.) provenientes de semilla de Jiutepec, Morelos, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 9(1), 69-79. doi: 10.5154/r.rchsh.2001.05.027.
- Jansson, J., Shen, C., Sung, W.K. 2013. An optimal algorithm for building the majority rule consensus tree. In. *Research in Computational Molecular Biology*, Deng, M., Jian, R., Sun, F., Zhang, X. (eds.), China. Pp: 88-99.

- Larranaga, N., J. I. Hormoza. 2015. DNA barcoding of perennial fruit tree species of agronomic interest in the genus *Annona* (*Annonaceae*). *Frontiers in Plant Science* 6: Article 589.
- Lira-Ortiz, R., Córtes-Cruz, M., López-Guzmán, G.G., Palomino-Hermosillo, Y.A., Sandoval-Padilla, I., Ochoa-Jiménez, V.A., Sánchez-Herrera, L.M., Balois-Morales, R., Berumen-Varela, G. (2022). Diversidad genética de poblaciones de guanabana (*Annona muricata*) en Nayarit, México mediante marcadores SSR y SRAP. *Acta Biológica Colombiana* 27(1): 1-10
- Nolasco, Y. G., Hernández, L. M. F., & Montalvo, E. G. (2019). Caracterización morfológica y fisicoquímica de frutos de accesiones de guanábanas seleccionadas en Nayarit. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 23, 223-237. doi: 10.29312/remexca.v0i23.2023.
- Nei, M., Li, W.-H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc Natl. Acad. Sci USA* 76(10): 5269-5273.
- Rosas, G. X., & Becerra, E. N. L. (2012). *Manual de producción de guanábana (Annona muricata L.)*. Veracruz, México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
- Rosas, G. X., & Becerra, E. N. L. (2012). *Manual de producción de guanábana (Annona muricata L.)*. Veracruz, México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2021). Consultado 12-04-2020 en <http://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>.
- Strijk, J.S., Hinsinger, D.D., Roeder, M.M., Chatrou, L.W., Couvreur, T.L.P., Erkens, R. H.J., Sauquet, H., Pirie, M.D., Thomas, D.C., Cao, K. 2021. Chromosome-level reference genome of the soursop (*Annona muricata*): a new resource for Magnoliid research and tropical pomology. *Molecular Ecology Resources* 21: 1608-1619.
- Talamantes-Sandoval, C. A., M. Cortés-Cruz, R. Balois-Morales, G. G. López-Guzmán, Y. A. Palomino-Hermosillo. 2019. Análisis molecular de la diversidad

genética en guanábana (*Annona muricata* L.) mediante marcadores SRAP. Revista Fitotecnia Mexicana 42(3): 209-214.

Terán, E. B., Alia, I. T., Balois, R. M., Juárez, P. L., López, G. G. G., Pérez, G. A. A., & Núñez, C. A. C. (2019). Caracterización física, química y morfológica de frutos de guanábana (*Annona muricata* L.). *Agrociencia*, 53, 1013-1027. Retrieved from <https://www.colpos.mx/agrocien/Bimestral/2019/oct-nov/art-6.pdf>.

Villarreal-Fuentes, J.M., Alia-Tejacal, I., Hernández-Salvador, M.A., Hernández-Ortiz, E., Marroquín-Agreda, F.J., Núñez-Colín, C. A., Campos-Rojas, E. (2020) Caracterización *in situ* de guanábana (*Annona muricata* L.) en el Soconusco, Chiapas, México. Revista Chapingo Serie Horticultura 26(3): 163-179.

CONCLUSIONES GENERALES

Los árboles de guanábana injertados y evaluados *ex situ* mostraron gran proporción de pulpa (80 %), peso promedio de fruto para mercado en fresco, bajo número de semillas, contenido bajo de azúcares y alta acidez, alta variabilidad de fenoles y actividad antioxidante por FRAP, pero baja variación en el contenido de flavonoides y actividad antioxidante por DPPH, ABTS y vitamina C.

Los materiales evaluados mostraron menor variabilidad con lo reportado en árboles evaluados *in situ*, y con características de calidad y antioxidantes aceptables. Es necesario realizar estudios de análisis de agrupación de los árboles para proponer variedades a evaluar en diferentes áreas de la región. El análisis *In situ* ayuda a una expresión de mayor estabilidad de las variables evaluadas, lo que ayuda a la selección de materiales para su posterior liberación.

Se detectó variabilidad en la colección estudiada, lo que sugiere que aún hacen falta mayores evaluaciones para determinar algunos materiales promisorios y su liberación. En este trabajo inicial se observó poca variabilidad dentro de la colección de guanábana, no se formaron grupos considerando el tipo criollo o Costa Rica.