



# **INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

**CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA  
EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL  
UNIDAD DURANGO**

**“CARACTERIZACIÓN Y DETERMINACIÓN DEL PAPEL DE LOS  
POLIFENOLES DURANTE EL DESARROLLO DE DOS  
ESPECIES DE *Physalis*”**

**TESIS QUE PRESENTA:**

**MARCOS COBALEDA VELASCO**

**PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA**

**DIRECTORES DE TESIS:**

**DRA. NORMA ALMARAZ ABARCA**

**DR. MARLON ROJAS LÓPEZ**



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

*ACTA DE REVISIÓN DE TESIS*

En la Ciudad de Durango, Dgo. siendo las 14:00 horas del día 27 del mes de junio del 2016 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación del: CIIDIR-IPN Unidad Durango para examinar la tesis titulada:

Caracterización y determinación del papel de los polifenoles durante el desarrollo de dos especies de Physalis.

Presentada por la alumna:

**COBALEDA**

**VELASCO**

**MARCOS**

Apellido paterno

Apellido materno

Nombre(s)

Con registro:

B	1	2	0	4	8	1
---	---	---	---	---	---	---

**DOCTORADO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA**

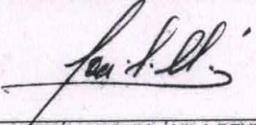
Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis

  
 DRA. NORMA ALMARAZ ABARCA

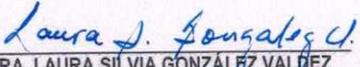
  
 DR. MARLON ROJAS LÓPEZ

  
 DR. JOSÉ ANTONIO ÁVILA REYES

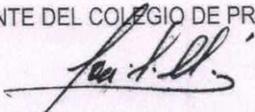
MORALES  
 RODRIGO SARA -  
 44783927Y

Firmado digitalmente por MORALES  
 RODRIGO SARA - 44783927Y  
 Nombre de reconocimiento (DN): c=ES,  
 serialNumber=44783927Y, cn=MORALES  
 RODRIGO, givenName=SARA, cn=MORALES  
 RODRIGO SARA - 44783927Y  
 Fecha: 2016.06.29 10:21:50 +0200'

DRA. SARA MORALES RODRÍGO

  
 DRA. LAURA SILVIA GONZÁLEZ VALDEZ

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

  
 DR. JOSÉ ANTONIO ÁVILA REYES

  
 CENTRO INTERDISCIPLINARIO  
 DE INVESTIGACIÓN PARA EL  
 DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL  
 C.I.D.I.R.  
 UNIDAD DURANGO  
 I.P.N.



[SIP-13-BIS]

**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

**ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS  
Y DESIGNACIÓN DE DIRECTORES DE TESIS**

México, D.F. a 18 de Enero del 2013

El Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR Durango en su sesión Ordinaria No. 10 celebrada el día 04 del mes de Diciembre conoció la solicitud presentada por el(la) alumno(a):

<u>COBALEDA</u>	<u>VELASCO</u>	<u>MARCOS</u>
Apellido paterno	Apellido materno	Nombre (s)
		Con registro: <b>B 1 2 0 4 8 1</b>

Aspirante de: ACTA 127 Doctorado en Ciencias en Biotecnología

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:  
Caracterización y determinación del papel de los polifenoles durante el desarrollo de dos especies de Physalis

De manera general el tema abarcará los siguientes aspectos:  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

2.- Se designan como Directores de Tesis a los Profesores:  
Dra. Norma Almaraz Abarca y Dr. Marlon Rojas López

3.- El trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:  
CIIDIR-IPN Unidad Durango  
que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente hasta la aceptación de la tesis por la Comisión Revisora correspondiente:

Directores de Tesis

\_\_\_\_\_  
Dra. Norma Almaraz Abarca

\_\_\_\_\_  
Dr. Marlon Rojas López

Aspirante  
  
\_\_\_\_\_  
M. en C. Marcos Cobaleda Velasco

Presidente del Colegio  
  
\_\_\_\_\_  
Dr. José Antonio Ávila Reyes





**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

*CARTA CESIÓN DE DERECHOS*

En la ciudad de Durango, Dgo., el día **24** del mes de **junio** del año **2016** el que suscribe **Marcos Cobaleda Velasco** alumno del Programa de **Doctorado en Ciencias en Biotecnología**, con número de registro **B120481**, adscrito al **Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango. CIIDIR-IPN Unidad Durango**, manifiesta que es el autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la **Dra. Norma Almaraz Abarca** y del **Dr. Marlon Rojas López** y cede los derechos del trabajo titulado **“Caracterización y determinación del papel de los polifenoles durante el desarrollo de dos especies de *Physalis*.”**, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o directores del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones [marcoscob@gmail.com](mailto:marcoscob@gmail.com), [noralab@yahoo.com](mailto:noralab@yahoo.com) y [mrojal@ipn.mx](mailto:mrojal@ipn.mx). Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

  
MARCOS COBALEDA VELASCO

Este proyecto se realizó en el laboratorio de Biotecnología del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) Unidad Durango las instalaciones del Centro de Biotecnología Aplicada (CIBA) Tlaxcala bajo la supervisión de los Dres. Norma Almaraz Abarca y Marlon Rojas López.

*Gracias Ruth, por las dichas y  
desdichas, la espera y la  
incertidumbre, los momentos  
dulces y los imposibles, gracias.*

*Mi ya no tan pequeña Diana, he  
aprendido yo más de ti de lo que  
jamás puedas imaginar, gracias por  
ser tan buena hija.*

*Papá, mamá y hermanitos, gracias  
por estar ahí siempre aunque no  
nos veamos.*

*A la persona con paciencia infinita,  
gracias Norma.*

# ÍNDICE

GLOSARIO.....	i
RELACIÓN DE FIGURAS .....	ii
RELACIÓN DE TABLAS .....	iv
RESUMEN .....	v
ABSTRACT .....	vii
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1 Familia Solanaceae.....	4
2.1.1 El género <i>Physalis</i> .....	5
2.1.1.1 Aspectos Botánicos de <i>Physalis</i> – Taxonomía.....	5
2.1.1.2 Morfología de <i>Physalis</i> .....	7
2.1.1.3 Cultivo de <i>Physalis</i> .....	9
2.1.1.4 Manejo tradicional de <i>Physalis</i> .....	10
2.1.1.5 Características fitoquímicas .....	11
2.2 Metabolitos secundarios .....	13
2.2.1 Compuestos fenólicos .....	14
2.2.1.1 Flavonoides.....	16
2.3 Determinaciones espectrofotométricas .....	18
2.4 Variabilidad molecular .....	18
2.5 Citogenética .....	21
III. JUSTIFICACIÓN .....	22
IV. OBJETIVO GENERAL .....	23
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
5.1 Material vegetal.....	24
5.2 Primer periodo.....	24
5.3 Segundo periodo.....	26

5.4 Tercer periodo.....	28
5.5 Selección, limpieza y almacenamiento del material vegetal .....	28
5.6 Extracción de compuestos fenólicos.....	28
5.7 Determinación del perfil fenólico .....	30
5.8 Determinación de fenoles totales.....	31
5.9 Determinación de flavonoides totales .....	32
5.10 Determinación de ácidos fenólicos.....	34
5.11 Pruebas de capacidad antioxidante .....	34
5.11.1 Capacidad bloqueadora del radical DPPH*.....	34
5.11.2 Capacidad antioxidante total (CAT).....	36
5.11.3 Poder reductor de fierro (PR) .....	37
5.12 Caracterización por absorción infrarroja (FTIR). .....	37
5.13 Análisis de datos.....	38
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	39
6.1 Comparación de las características agromorfológicas de <i>P. angulata</i> silvestre y cultivada en invernadero .....	39
6.2 Comparación de las concentraciones de fenoles totales y propiedades antioxidantes de los frutos de <i>P. angulata</i> silvestre y cultivada en invernadero .....	42
6.3 Efecto de la permanencia del cáliz en el contenido de compuestos fenólicos totales y las propiedades antioxidantes de los frutos de <i>P. angulata</i> cultivados en invernadero .....	43
6.4 Variación del contenido de fenoles totales y de las propiedades antioxidantes durante el desarrollo del fruto de <i>P. ixocarpa</i> cultivado en invernadero.....	44
6.5 Composición fenólica.....	45
6.6 Contenido total de fenoles, flavonoides y ácidos fenólicos. ....	72
6.7 Propiedades antioxidantes.....	77
VII. CONCLUSIONES .....	79

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84
IX. RECOMENDACIONES.....	100
X. SUGERENCIAS.....	101
XI. AGRADECIMIENTOS.....	102
XII. ANEXOS.....	104

## GLOSARIO

**Absorbancia:** Medida de la atenuación de una radiación al atravesar una sustancia. Se expresa como el logaritmo de la relación entre la intensidad saliente y la entrante.

**Antioxidante:** Sustancia o producto que evita la oxidación de otros compuestos mediante su reducción.

**Cromatografía líquida:** Técnica de separación física de distintos compuestos utilizando la solubilidad de éstos, permitiendo cualificarlos y cuantificarlos.

**Cromatograma:** Diagrama resultante de separar cada uno de los componentes químicos de una muestra analizada. Se presenta en el caso del HPLC-DAD como una gráfica de absorbancia (ordenadas) contra el tiempo de retención (abscisas). Cada compuesto separado eficientemente dará un pico de absorción que se distingue de otros picos por su tiempo de retención.

**Espectro de Absorción:** Intervalo de radiación electromagnética que absorbe una sustancia. Se representa mediante la gráfica absorbancia (eje y) contra longitud de onda (eje x).

**Fenología:** Ciencia que comprende el estudio y observación de los estadios de desarrollo reproductor y vegetativos de una planta y animales en relación con los parámetros ambientales.

**FTIR:** Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier.

**HPLC-DAD:** Cromatografía líquida de alta resolución acoplado a un detector de arreglo de diodos.

**Perfil fenólico:** Composición de sustancias fenólicas representadas en un cromatograma.

## RELACIÓN DE FIGURAS

Figura		Página
1	Descripción simplificada de las rutas sintéticas del metabolismo secundario y su relaciones con el metabolismo primario.....	14
2	Estructura básica de los flavonoides y sistemática de numeración.....	17
3	Estructura de los flavonoides más comunes.....	18
4	Metodología usada en el presente estudio para la extracción de los compuestos fenólicos de <i>Physalis angulata</i> y <i>P. ixocarpa</i> var. Premier.....	29
5	Barrido de absorción de DPPH* (oxidado; línea morada) y barrido de absorción de DPPH-H (reducido; línea amarilla).....	35
6	Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de la raíz de <i>P. ixocarpa</i> en las etapas de desarrollo 1 (abajo) y 2 (arriba).....	47
7	Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto del intertallo de <i>P. ixocarpa</i> en cuatro etapas de desarrollo: de abajo hacia arriba, etapa 1, etapa 2, etapa 3, y etapa 4.....	48
8	Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de flores de <i>P. ixocarpa</i> en dos etapas de desarrollo: etapa 2 (abajo) y etapa 3 (arriba).....	50
9	Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto foliar de <i>P. ixocarpa</i> en cuatro etapas de desarrollo: de abajo hacia arriba, etapa 1, etapa 2, etapa 3, y etapa 4.....	52
10	Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de tallo de <i>P. ixocarpa</i> en cuatro etapas de desarrollo: de abajo hacia arriba, etapa 1, etapa 2, etapa 3, y etapa 4.....	54
11	Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de frutos de <i>P. ixocarpa</i> en dos etapas de desarrollo: etapa 3 (abajo), etapa 2 (arriba).....	55
12	Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de cáliz de <i>P. ixocarpa</i> en dos etapas de desarrollo: etapa 3 (abajo), etapa 4 (arriba).....	56
13	Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de fruto de <i>P. angulata</i> en dos etapas de desarrollo: etapa 3 (abajo), etapa 4 (arriba).....	59
14	Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de las hojas de <i>P. angulata</i> en cuatro etapas de desarrollo: de abajo hacia arriba, etapa 1, etapa 2, etapa 3, y etapa 4.....	61
15	Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de tallo de <i>P. angulata</i> en cuatro etapas de desarrollo: de abajo hacia arriba, etapa 1, etapa 2, etapa 3, y etapa 4.....	63
16	Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de cáliz de <i>P. angulata</i> en dos etapas de desarrollo: etapa 3 (abajo), etapa 4 (arriba).....	65
17	Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de raíz de <i>P. angulata</i> en la etapa 2 de desarrollo.....	66

<b>18</b>	Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto del intertallo de <i>P. angulata</i> en la etapa 4 de desarrollo.....	<b>66</b>
<b>19</b>	Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de flores de <i>P. angulata</i> en las etapas 2 (abajo) y 3 (arriba) de desarrollo.....	<b>67</b>
<b>20</b>	Análisis de agrupamiento de Jaccard de los perfiles fenólicos de cinco diferentes estructuras de <i>P. angulata</i> durante 4 etapas de desarrollo..	<b>70</b>
<b>21</b>	Análisis de agrupamiento de Jaccard de los perfiles fenólicos de siete diferentes estructuras de <i>P. ixocarpa</i> durante 4 etapas de desarrollo...	<b>71</b>

## RELACIÓN DE TABLAS

<b>Tabla</b>		<b>Página</b>
1	Descripción taxonómica de las especies de <i>Physalis ixocarpa</i> y <i>P. angulata</i> , de acuerdo a Vargas-Ponce <i>et al.</i> (2003).....	7
2	Clasificación de compuestos fenólicos basada en su estructura química.....	15
3	Etapas de desarrollo reconocidas en el presente estudio para <i>Physalis angulata</i> y <i>P. ixocarpa</i> var. Premier. Las etapas se reconocieron con base en la escala BBCH (Biologische Bundesanstalt Bundessortenamt and Chemical), descrita por Ramírez <i>et al.</i> (2013)...	26
4	Número de plantas y estructuras vegetales usadas en cada etapa, de <i>Physalis angulata</i> y <i>P. ixocarpa</i> var. Premier.....	27
5	Relación del peso del tejido y volumen de etanol (80%, v/v) usado para la extracción de compuestos fenólicos de diferentes estructuras de <i>Physalis angulata</i> y <i>P. ixocarpa</i> var. Premier.....	29
6	Relación de DPPH* y etanol (80%) como solvente para la preparación de la curva de calibración de DPPH*.....	35
7	Indicadores agronómicos de <i>Physalis angulata</i> sembrada en invernadero y silvestre.....	38
8	Fenoles totales, actividad bloqueadora de radicales libres (EC50), capacidad antioxidante total (TAC), y poder reductor de hierro (PR) de los frutos de plantas silvestres y cultivadas en invernadero de <i>P. angulata</i> .....	41
9	Efecto del cáliz sobre la concentración de fenoles totales, actividad bloqueadora de radicales libres (EC50), y capacidad antioxidante total de los frutos de <i>P. angulata</i> cultivada en invernadero, en diferentes etapas de maduración.....	42
10	Concentración de fenoles totales, actividad bloqueadora de radicales libres (EC50), y capacidad antioxidante total de los frutos de <i>P. ixocarpa</i> cultivada en invernadero, en diferentes etapas de maduración.....	44
11	Fenoles totales, flavonoides totales, ácidos fenólicos totales, actividad bloqueadora del radical libre (EC50), capacidad antioxidante total (CAT) y poder reductor de hierro (PR) de diferentes tejidos de <i>P. angulata</i> en las cuatro etapas de desarrollo.....	81
12	Fenoles totales, flavonoides totales, ácidos fenólicos totales, actividad bloqueadora del radical libre (EC50), capacidad antioxidante total (CAT) y poder reductor de hierro (PR) de diferentes tejidos de <i>P. ixocarpa</i> en las cuatro etapas de desarrollo.....	82

**CARACTERIZACIÓN Y DETERMINACIÓN DEL PAPEL DE LOS  
POLIFENOLES DURANTE EL DESARROLLO DE DOS ESPECIES DE  
*Physalis***

**RESUMEN**

México es el centro de origen y de diversidad de muchas especies vegetales, entre ellas se encuentran la mayoría de las pertenecientes al género *Physalis*. Este género comprende alrededor de las 90 especies y más del 50% se distribuyen en México. Los frutos comestibles de las especies de este género se les conoce como tomate verde, tomatillo o tomate de cáscara, entre otros nombre comunes, y proceden a nivel comercial, en su mayoría, de la especie domesticada *P. ixocarpa*. Existen varias especies silvestres de *Physalis*, cuyos frutos también se aprovechan, siendo *P. angulata* la más reconocida entre éstas. Para algunas de esas especies se han reportado altas concentraciones de compuestos fenólicos. En el presente estudio, se cultivaron *P. ixocarpa* y *P. angulata* bajo condiciones de invernadero para poder determinar el papel de los polifenoles durante el desarrollo de la planta. Para esto, se seleccionaron 4 diferentes etapas de desarrollo, y se analizaron, independientemente, todas las estructuras de la planta: raíz, intertallo, tallo, hoja, flor, fruto y cáliz. La composición fenólica se determinó mediante cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD). A cada una de las muestras se les realizó pruebas espectrofotométricas para la cuantificación de compuestos fenólicos totales y determinación de sus propiedades antioxidantes. La composición fenólica de *P. ixocarpa* fue más compleja que la de *P. angulata*. La hoja fue la estructura con la composición fenólica más compleja en *P. angulata*, mientras que en *P. ixocarpa* la flor presentó más polifenoles. Los perfiles fenólicos fueron únicos para cada estructura a cada etapa de desarrollo y para cada una de las especies. Los compuestos fenólicos encontrados fueron diferentes quercetina-3-*O*-glicósidos, quercetina-3,7-di-*O*-glicósidos, canferol-3-*O*-glicósidos, canferol-3,7-di-*O*-glicósidos, ácidos fenólicos, y en menor cantidad y solo en *P. ixocarpa*, dihidroflavonoides. En la parte subterránea de ambas especies, la concentración de compuestos fenólicos y la diversidad de los mismos fueron las menores de toda la planta. Se encontró correlación

significativa entre la concentración de fenoles totales de la hoja de *P. angulata* y las etapas de desarrollo (correlación de Spearman  $>0.99$ ). La hoja, la flor y el cáliz fueron las estructuras con mayor poder antioxidante en ambas especies de *Physalis*. Los cambios cuantitativos en los perfiles asociados a la edad de las plantas sugieren una participación de estos compuestos en el desarrollo de las mismas. Ambas especies de *Physalis* son fuentes importantes de compuestos fenólicos antioxidantes. Para *P. ixocarpa* y *P. angulata*, los perfiles fenólicos obtenidos por HPLC-DAD pueden considerarse como una huella química de identidad específica, de edad, y de estructura de la planta, que pueden obtenerse de manera rápida y relativamente sencilla.

**CHARACTERIZATION AND DETERMINATION OF THE ROLE OF  
POLYPHENOLS DURING THE DEVELOPMENT OF TWO SPECIES OF  
*Physalis***

**ABSTRACT**

Mexico is the center of origin and diversity of many plant species, among them are practically all the species belonging to the genus *Physalis*. This genus comprises about 90 species and more than 50% of them growth in Mexico. The edible fruits of the species of this genus are known as green tomato, tomatillo or husk tomato, among other common names, and commercially come mostly from the domesticated species *P. ixocarpa*. There are several wild species of *Physalis*, whose fruits are also edible, *P. angulata* is the most recognized among them. Several of these species have been reported to synthesize high concentrations of phenolic compounds. In the current study, *P. ixocarpa* and *P. angulata* were cultivated under greenhouse conditions to determine the role of polyphenols during plant development. For this, 4 different stages of development were selected, and all plant structures were independently analyzed: root, interstem, stem, leaf, flower, fruit and calyx. The phenolic composition was determined by high resolution liquid chromatography with diode array detection (HPLC-DAD). Spectrometric analysis were carried out to determine the total phenolic concentration and the antioxidant activities of each sample. Leaves were the structures with the most complex phenolic composition in *P. angulata*, while *P. ixocarpa* flowers presented more polyphenols. The phenolic profile were unique for each structure at a given develop stage for each species. The found phenolic compounds were different quercetin-3-*O*-glycosides, quercetin-3,7-di-*O*-glycosides, kaempferol-3-*O*-glycosides, kaempferol-3,7-di-*O*-glycosides, phenolic acids, and as minor ones and only in *P. ixocarpa*, dihydroflavonoids. In the underground parts of both species, the concentration and diversity of phenolic compounds were the lowest. A significative correlation was found between the concentration of total phenolics of leaves from *P. angulata* and the stages of development (Spearman correlation > 0.99). Leaf, flower and the calyx were the structures with the most antioxidant capacity in both species of *Physalis*. The quantitative changes in the phenolic profiles associated to plant age suggest an

important role played by these compounds in plant development. For both, *P. ixocarpa* and *P. angulata*, phenolic profiles obtained by HPLC-DAD represent a chemical fingerprinting to identify the species, plant structure and plant age, which can be obtained fast and easy.

## I. INTRODUCCIÓN

La biodiversidad de México está reconocida a nivel mundial, su localización geográfica al igual que su extensión permite a este país albergar un gran abanico de especies, las cuales, en repetidas ocasiones, son nativas o endémicas de México.

La familia Solanaceae se encuentra bien representada en el continente Americano en general, particularmente en México, donde crece una importante cantidad de representantes de cada género de esta familia. Dentro de los géneros más grandes, en cuanto a número de especies que albergan, se encuentra *Physalis*, con alrededor de 100 especies descritas, este es el quinto género más grande dentro de Solanaceae.

Una de las características más representativas de *Physalis* es el cáliz, el cual se expande durante la maduración del fruto, generalmente apenas tocando el fruto. En este género los frutos son primordialmente verdes, aunque se encuentran naranjas, como en *P. peruviana*, y morados, como en ciertas variedades de *P. ixocarpa*. Pese a la distitividad del cáliz, existen muchas controversias taxonómicas para delimitar las especies pertenecientes al género y en la circunscripción del género mismo, por confusiones con el grup *Physaloides*. Esas controversas han provocado, en parte, las grandes diferencias en la estimación del número de especies que forman al género, desde 75 hasta 135, según diferentes autores. Esto se debe por un lado a la similitud morfológica entre algunas especies y por otro, a la alta variabilidad de caracteres dentro de otras. Las dificultades y controversias taxonómicas llegan a englobar a *P. ixocarpa*, principal especie cultivada del género en México y a la especie silvestre *P. philadelphica*, una de las especies silvestres con frutos comestibles, más representativas de *Physalis*. Los perfiles fenólicos de varias especies de *Physalis* han tenido una tendencia especie-específica. Sin embargo, para proponer a estos caracteres químicos como marcadores de identidad y para comenzar a determinar la importancia que los compuestos fenólicos desempeñan durante el desarrollo de las especies del género, es importante realizar estudios sobre la dinámica de los cambios cualitativos y cuantitativos de esos perfiles en las diferentes estructuras de las plantas a lo largo del desarrollo. Se han reportado

diferentes participaciones de compuestos fenólicos en el desarrollo de las plantas, como en la raíz, principalmente como reguladores negativos de auxinas, que son un tipo de fitoreguladores del crecimiento vegetal. El objetivo del presente estudio fue precisamente ese, determinar la dinámica de los cambios de la composición fenólica durante el desarrollo de las plantas de las dos especies, económicamente hablando, más importantes en México de *Physalis*, *P. ixocarpa* y *P. angulata*.

### Organización de la tesis

Previa a esta Introducción se encuentran el índice y el listado de Figuras y Tablas, seguido por el Resumen y el Abstract. Continúa con el capítulo II que incluye el Marco Teórico; en éste se exponen algunos aspectos biológicos y económicos generales de *Physalis*, en el mundo y en México. Además se presentan algunos aspectos sobre el metabolismo secundario y los compuestos de interés en el presente trabajo, los fenólicos. En los capítulos III y IV se disponen la justificación del trabajo y el objetivo general del mismo. La metodología llevada a cabo en el invernadero en los diferentes años de siembra, la recolección de las diferentes estructuras de la planta, la extracción de compuestos fenólicos, la determinación del perfil mediante HPLD-DAD y de las propiedades antioxidantes se presentan en el capítulo V. Los resultados obtenidos y la discusión de los mismos se muestran en el capítulo VI, donde se abarca desde los indicadores agronómicos hasta las variaciones en la concentración de los compuestos fenólicos descritos, así como de las diferentes determinaciones de capacidad antioxidante. Las conclusiones se presentan en el capítulo VII. Las recomendaciones hechas para posibles trabajos y líneas de investigación están en el capítulo VIII, mientras que las sugerencias aparecen en el capítulo IX. Las referencias bibliográficas consultadas se encuentran en el capítulo X, y los anexos en el XI.

## II. MARCO TEÓRICO

La diversidad natural, de la mano de la evolución, ha permitido al reino vegetal acceder a prácticamente todos los rincones del planeta. Un efecto inherente a la adaptación a los distintos ecosistemas es la aparición de diferentes estrategias fisiológicas, moleculares, químicas, y bioquímicas que permiten que las diferentes especies de plantas enfrenten las múltiples condiciones que las rodean. Esto permite abordar un abanico enorme de compuestos químicos con capacidades y potencialidades aún no descubiertas. A su vez, esta diversidad hace que en la naturaleza se aprovechen todos los nichos posibles, haciendo que cada especie cumpla un rol particular en cada lugar. La subjetividad humana hace que en lugares donde se considera a una especie una molestia en otros lugares pueda ser valorada y aprovechada, como sucede con ciertos insectos y las plantas llamadas malas hierbas.

Si bien es cierto que la diversidad y la variabilidad permiten establecer estrategias frente a multitud de escenarios, eso se convierte en una desventaja a la hora de establecer una agricultura de alto rendimiento. Lo anterior explica el proceso de domesticación de plantas silvestres con potencial alimenticio, farmacológico u ornamental.

La domesticación de especies vegetales se ha producido durante los últimos 15000 años con el inicio de la agricultura. En México, la mejora o domesticación de los alimentos ha traído consigo importantes avances en el cultivo y producción de especies de alto interés como son maíz (*Zea mays* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), y tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot), entre otras. Si bien los dos primeros son los cultivos principales en México, el tomate de cáscara ocupa un lugar también importantes entre los cultivos más extensos del país (SIAP, 2014).

El nombre de tomate proviene de la palabra náhuatl “tomatl” (Santiaguillo y Blas, 2009). Al fruto de *Physalis ixocarpa* se le denomina en México como tomate, tomatillo, tomate de cáscara, y tomate verde. En otros países de Latinoamérica se les denomina uchuva, aguaymanto, tomate de bolsa, mientras que las denominaciones anglosajonas son “husk tomato”, tomatillo, goldenberry, capegooseberry. Algunas especies de *Physalis* eran consumidas en tiempos precolombinos por diferentes civilizaciones indígenas de América, siendo usadas

más que el tomate rojo (*Solanum lycopersicum* L.). Existen registros botánicos detallados de más de 380 años sobre las especies de *Physalis* en América (Martínez, 1994), en las que aparecen las primeras referencias escritas sobre el género *Physalis* y su uso alimenticio y medicinal (Hernández, 1649; Hernández, 1790).

En la actualidad, *Physalis*, es un género con alta presencia en la cocina americana, especialmente en México, donde el uso medicinal de esta especie ha perdurado y se ha transmitido generacionalmente (Santiaguillo y Blas, 2009).

## 2.1 Familia Solanaceae

La familia de las solanáceas se caracteriza por su capacidad cosmopolita, poblando prácticamente todos los hábitats del planeta. Es una familia de tamaño mediano, comprende 96 géneros, 2400 especies (Barboza *et al.*, 2016). El género más amplio de la familia es el género *Solanum*, que tiene más de 1000 especies, seguido de los géneros *Lycianthes*, *Cestrum*, *Nolana*, *Physalis* y *Lycium*, entre otros. Esta familia es especialmente importante en términos económicos porque contiene especies alimenticias relevantes, como el jitomate (*Solanum lycopersicum*), papa (*Solanum tuberosum* L.) y chile (*Capsicum annuum* L.); medicinales como la belladona (*Atropa belladonna* L.) y estramonio (*Datura stramonium* L.); o drogas como el tabaco (*Nicotiana tabacum* L.). La mayor diversidad de esta familia se encuentra en el continente Americano, especialmente en Centro y Sudamérica (Barboza *et al.*, 2016). En México se han reportado 398 especies de esta familia (Martínez *et al.*, 2011), aunque se sospecha que la presencia de especies puede ser bastante superior. México contiene a todos los miembros de algunos de los géneros de esta familia, llegando a encontrarse el 100% de las especies de los géneros *Datura* y *Tzeltalia*, y el 72% del género *Physalis* del cual, más del 80% es endémico de México (Martínez *et al.*, 2011). Los Estado con mayor diversidad de las solanáceas son Chiapas, Oaxaca y Jalisco, con 180, 176 y 149 especies, respectivamente. Durango contabilizó 62 especies. Los estados de México con mayor número de especies endémicas son Jalisco, Chiapas y Michoacán con 53, 52 y 38, respectivamente, mientras que en Durango se encontraron 14 especies endémicas (Martínez *et al.*, 2011). Gracias a esta diversidad y

ubiquidad, Solanaceae es una de las familias químicamente más diversas, conteniendo una alta variedad de productos con potencial nutracéutico y farmacológico (Lee, 2006; Boulogne *et al.*, 2012; Kanteh y Norman, 2015).

### **2.1.1 El género *Physalis***

El nombre de *Physalis* tiene etimología griega y significa vejiga, llamado así por la cáscara que rodea al fruto. El género *Physalis* es uno de los más representativos de las solanáceas. Su distribución se delimita prácticamente al continente americano, del cual son nativas todas las especies del género, salvo *P. alkekengi*, la cual es nativa de Asia. Otras especies se han introducido en diferentes continentes, como *P. angulata* en África y Asia, o *P. peruviana* en África (Ramadan, 2011).

*Physalis* comprende entre 75 y 120 especies, existe cierta controversia taxonómica en el establecimiento de los límites específicos y la circunscripción del género mismo, en función de las diferentes descripciones de autores (Hendrych, 1989; D'Arcy, 1991). Estas complicaciones hacen difícil estimar la diversidad de *Physalis* en México. Martínez *et al.* (2011) reportaron 64 especies, de 89 estimadas, que están distribuidas en México, de las cuales 35 son endémicas de este país. Por lo anterior se considera a México el centro de diversificación, además de centro de domesticación de algunas de las especies (Martínez, 1999; Álavez-Gómez *et al.*, 2009).

En México, es el estado de Jalisco en el que se han reportado más especies de *Physalis*, con un total de 35 especies (39 contando las halladas en zonas limítrofes con otros estados) (Vargas-Ponce *et al.*, 2003). En Durango, debido a su gran extensión y variedad de hábitats, se han encontrado 20 especies de *Physalis*, identificadas y depositadas en el Herbario CIIDIR (González–Elizondo *et al.*, 1991; González–Elizondo *et al.*, 2007).

#### **2.1.1.1 Aspectos Botánicos de *Physalis* – Taxonomía**

El género *Physalis* se engloba en el orden Solanales y dentro de la familia Solanaceae (Tabla 1). De acuerdo a Martínez (1999), *Physalis* comprende cuatro

subgéneros y nueve secciones: *Physalis* subgénero *Physalis* (única especie: *Physalis alkekengi*), *Physalis* subgénero *Physalodendron* (G. Don) M. Martínez (con dos especies: *Physalis arborescens*, *Physalis melanocystis*), *Physalis* subgénero *Quincula* (Raf.) M. Martínez (única especie: *Physalis lobata* (sin. *Quincula lobata*), y *Physalis* subgénero *Rydbergis* Hendrych (con cerca del 60% de las especies). Dentro del subgénero *Rydbergis*, ese mismo autor reconoce nueve secciones: sección *Angulatae* (Rydb.) M. Y. Menzel (con 10 especies), sección *Campanulae* M. Martínez (con dos especies: *Physalis campanula* Standley & Steyerm, y *Physalis glutinosa* Schidl.), sección *Carpenterianae* (Rydb.) M. Y. Menzel (con una especie), sección *Coztomatae* M. Martínez (con 11 especies), sección *Epeteiorhiza* G. Don (con 14 especies), sección *Lanceolatae* (Rydb.) M. Y. Menzel (con alrededor de 14 especies), sección *Rydbergae* M. Martínez (con dos especies: *Physalis mininacelata* Waterf., y *Physalis rydbergii* Fernand), sección *Viscosa* (Rydb.) M. Y. Menzel (con seis especies), y sección *Tehuacanae* M. Martínez (con una especie.). Sin embargo, de acuerdo a Whitson y Manos (2005), las relaciones dentro y entre secciones no han sido claramente establecidas, y la definición específica dentro de ese género es a menudo difícil (Sullivan, 1985; Whitson y Manos, 2005). Whitson (2011) propone separar *Physalis alkekengi* en su propio género y especie, sugiriendo el nombre de *Alkekengi officinarum*, esto basándose en aspectos de origen, ya que es la única no nativa de América, y en estudios moleculares realizados en diferentes géneros de las solanáceas. Los aspectos taxonómicos de *Physalis* han sido estudiados principalmente con base en datos morfológicos (Martínez, 1999). Debido a la similitud entre especies, han existido dificultades taxonómicas, principalmente, a la hora de considerar a *P. ixocarpa* y *P. philadelphica* como especies diferentes. Waterfall (1967) concluyó que ambas se trataban de la misma especie según la colección de Lamarck. Menzel (1951) las consideró sinónimos, identificando a *P. ixocarpa* como la forma anual de *P. philadelphica*, otros autores sostienen que se trata de especies diferentes (Alavez-Gómez *et al.*, 2009). Según el ITIS (Integrated Taxonomic Information System), *P. ixocarpa* es una sinonimia de *Physalis philadelphica* var. *Immaculata*; sin embargo, esta variedad no aparece en otros registros (Coboleda-Velasco *et al.*, 2013). Sobrino-Vesperinas y Sanz-Elorza (2007) han

sugerido que se trata de la subespecie *ixocarpa* de *P. philadelphica*, nomenclatura propuesta para el tomatillo domesticado. Por lo general al tomate de cáscara comercialmente cultivado en México, se le suele denominar como *Physalis ixocarpa* Brot. (Sobrino-Vesperinas y Sanz-Elorza, 2007), aunque ambos nombres son reconocidos por la UPOV (Union Internationale Pour La Protection Des Obtentions Végétales). Actualmente, esa controversia taxonómica se ha abordado con marcadores moleculares, tales como secuencias de cpDNA por Olmstead *et al.* (1999), ITS (“internal transcriber spacer”) de una región de DNA ribosomal y la variabilidad en el gen waxy (“granule bound starch synthase” o gen GBB1) por Whitson y Manos (2005), y con los marcadores ISSR (“inter-simple sequence repeats”) por Vargas-Ponce *et al.* (2011).

Tabla 1. Descripción taxonómica de las especies de *Physalis ixocarpa* y *P. angulata*, de acuerdo a Vargas-Ponce *et al.* (2003).

Taxón	Denominación
Dominio	Eucarya
Reino	Plantae
Subreino	Embryophyta
División	Angiospermae
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Tribu	Solaneae
Subtribu	Physalinae
Subfamilia	Solanoideae
Género	<i>Physalis</i>
Especie	<i>ixocarpa</i> ; <i>angulata</i>

#### 2.1.1.2 Morfología de *Physalis*

Son plantas de ciclo anual, bianual o perenne, con una altura desde los 20 cm hasta alrededor de 2 m, según los hábitos de crecimiento y las condiciones geoclimáticas. Herbáceas o sufrútices, que son las plantas cuyo tallo central es leñoso únicamente en la parte inferior, lo que les confiere una naturaleza entre

hierba y arbusto, y pocos son completamente arbustos, con rizomas en la mayoría de las perennes; erectas, procumbentes, postradas o extendidas, con frecuencia se apoyan en otras plantas; glabras o pubescentes, los tricomas simples a ramificados o estrellados, algunas veces glandulares, por lo común viscosas y con olor fétido. Su raíz puede presentar forma típica o columnar y presenta ramificaciones secundarias que alcanzan hasta 60 cm de profundidad (Castillo-Rodríguez, 2011). Los tallos presentan ramificación dicotómica, poco o muy ramificados desde la base; cilíndricos, pocos angulosos; lisos o costados; en algunas especies llegan a enraizar en los nudos basales o en aquellos tramos donde el tallo tiene contacto con el suelo; el diámetro del tallo oscila entre 0.8 a 2.5 cm, en los primeros días de vida presenta tricomas esparcidos en el tallo los cuales se pierden conforme avanza el desarrollo (Pérez-Pérez, 2006). Hojas pecioladas, alternas, desiguales en tamaño, la pequeña hasta un medio menor que la mayor; limbo foliar en su mayoría ovado, en ocasiones orbicular, lanceolado o linear lanceolado; el margen entero, repando, sinuado, aserrado o sólo con algunos dientes. Inflorescencias solitarias la mayoría, pocas fasciculadas o en falsos racimos. Botones esféricos u ovoides. Flores pediceladas, axilares y péndulas, los pedicelos cortos o algunas veces alcanzan hasta 5 cm de largo; cáliz 5-lobado, los acúmenes de los lóbulos de forma igual a los mencionados en el fruto; la corola campanulada, campanulado rotada, por lo común refleja, en pocas especies tubular campanulada, con el limbo extendido o angosto o bien urceolada con el limbo constricto, desde 0.5 mm hasta 6 cm de largo; limbo de la corola casi siempre 5-angulado, pocas veces 5-lobado; amarillo, amarillo verdoso o amarillo crema, blanco o púrpura. Lóbulos de la corola con cinco máculas. Estambres cinco, anteras con dehiscencia longitudinal, púrpuras, azules, azules con una línea amarilla o amarillas; filamento filiforme. Ovario con un estilo filiforme, estigma claviforme, algunas veces capitado. Cáliz en el fruto acrescente, inflado vesicular, cubre completa o parcialmente a la baya durante la fructificación, 5-angulado o 10-costado, con cinco ángulos más prominentes o cilíndrico, de menos de 1 a 7 cm de largo, en la mayoría de las especies de 1-2.5 cm de ancho, las variedades domesticadas alcanzan los 8 cm; lóbulos del cáliz ovados, lanceolados, deltoides o angostamente triangulares. Pedicelos de 0.6 a 6 cm de largo, pocas veces

robustos y recurvos. Fruto una baya succulenta, en su mayoría sésil y pocas veces sobre un ginóforo, la baya de color verde, naranja, amarilla o con tonos púrpuras, de sabor agrídulce de 0.8-1.5 cm de diámetro (hasta 8 cm en el tomate cultivado) (Martínez, 1999; Vargas-Ponce *et al.*, 2003). Semillas numerosas, llegando a haber más de 200 por fruto, reniformes, foveoladas, de 1.2-2 mm de diámetro, amarillas, doradas, de color marrón tenue u oscuro. El crecimiento del tomatillo puede ser de tres tipos: rastrero, erecto y semi-erecto. Su ciclo va desde los 85 a 120 días, en función de la variedad y condiciones ambientales (Castillo-Rodríguez, 2011).

### **2.1.1.3 Cultivo de *Physalis***

Hay dos especies primordialmente comerciales dentro del género *Physalis*, éstas son *P. ixocarpa* y *P. peruviana*. La primera, el tomate verde, es cultivada principalmente en Centro y Norteamérica, y *P. peruviana*, conocida como uchuva, es cultivada mayoritariamente en Sudamérica. Desde la década de los setentas del siglo XX, en México y en otros países se ha incrementado el cultivo comercial de *P. ixocarpa*, esto en parte debido al aumento en el consumo nacional, pero también debido a los subproductos que se derivan de éste y a la exportación hacia los EUA y Canadá (Carstensen, 2014; Islas-Blancas, 2006). Comercialmente también se cultiva en parte de Estados Unidos, Guatemala, y Colombia y ha sido introducida en otros países como Polonia, Rusia, e incluso algunos países de África (Drost-Karbowska *et al.*, 1993). *Physalis peruviana* se cultiva en países como Venezuela, Ecuador, y Colombia, este último es el mayor productor mundial, que destina el 80% de su producción a Europa (Bonilla-Cortés *et al.*, 2009).

El cultivo en México del tomate verde se realiza utilizando diferentes variedades de *P. ixocarpa*, como son Rendidora, Salamanca, Tamazula, Rendidora Suprema, Súper Cerro Gordo, Verde Supremo, Yoreme, Querétaro, Orizaba y Carrizeño. *Physalis ixocarpa*. En los últimos 15 años (2000-2014), de acuerdo al SIAP (Sistema de Información Agrario y Pesquero, 2014), el área cultivada de *P. ixocarpa* en México varió desde un mínimo de 44522.68 ha (año 2013) hasta un máximo de 64533.62 ha (año 2006); en 2011 se cultivaron 47830.85 ha. Esto convierte al tomate verde en la quinta hortaliza en importancia en función del

área cultivada. La producción total máxima lograda en esos 15 años varió entre 805721.26 ton (año 2006) y 553868.87 ton (año 2005). En ese mismo periodo de tiempo, los rendimientos variaron entre 11.62 ton/ha (año 2000) y 15.58 ton/ha (año 2010); sin embargo, estos datos están muy lejos del potencial que se estima que tienen estos cultivos, que es de 40 ton/ha (Peña, 2001), se obtuvieron 66 ton/ha con acolchado plástico y cintillas de riego (López-López *et al.*, 2009), pudiendo alcanzar hasta las 80 ton/ha, usando un paquete tecnológico de fertirriego (Castro-Brindis *et al.*, 2000).

La obtención de tomatillo silvestre se hace por colecta en campo, no obstante, en algunas zonas de Jalisco, desde hace relativamente poco tiempo, alrededor de 65 años (Vargas-Ponce *et al.*, 2015), se ha desarrollado el cultivo de *Physalis angulata*. Valdivia-Mares *et al.* (2016) evaluaron el potencial de producción de *P. angulata* en 27 ton/ha, y en alrededor de 20 ton/ha para otras tres especies silvestres de *Physalis*. En Durango, pese a la riqueza de especies silvestres del género, la máxima superficie sembrada correspondió al año 2012, cuya área fue de 35 ha, lo que convierte a Durango en el Estado con menor superficie cultivada dentro de los 30 estados que tienen plantaciones de *P. ixocarpa*. Sinaloa es el estado con mayor superficie sembrada, con 8594.62 ha (año 2011); Zacatecas es el de mayor producción total, con 65252.65 ton (año 2011); y Nuevo León el que tiene el mejor rendimiento, con 31.26 ton/ha (año 2011) (SIAP, 2014).

#### **2.1.1.4 Manejo tradicional de *Physalis***

Debido a la riqueza de especies del género *Physalis* y a su facilidad de crecimiento en las distintas zonas de México y América en general, el aprovechamiento de este recurso ha sido habitual en muchas poblaciones. Las poblaciones indígenas americanas las utilizaron como alimento y remedios medicinales desde tiempos precolombinos, como lo indican diversos hallazgos arqueológicos (Hernández-Bermejo y León-Arguedas, 1998). En el trabajo de Santiaguillo y Blas (2009) se aprecian algunos de los usos tradicionales de varias especies: *P. nicandroides* como trampa vegetal para atrapar pulgas, *P. cinerascens* es un recurso industrial para separar sólidos durante el cuajado de la leche; *P. arborescens*, *P. chenopodifolia*, *P. cinerascens*, *P. gracilis*, y *P. hederifolia* se utilizan como recurso medicinal aprovechando las raíces, hojas,

fruto o tallo. Entre las propiedades farmacológicas reconocidas para varias especies del género se encuentran la actividad antibacteriana contra enfermedades respiratorias causadas por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, y *Streptococcus pyogenes* (Cáceres *et al.*, 1991) y contra otras especies bacterianas (Dimayuga *et al.*, 1998); y la actividad antiinflamatoria (Montes, 1994). Además, se ha sugerido que proporcionan beneficios para la salud contra trastornos gastrointestinales e infecciones cutáneas (Cáceres *et al.*, 1993).

Se sabe de 14 representantes cuyos frutos son comestibles; sin embargo, para su aprovechamiento sólo se cultivan los siguientes: *P. ixocarpa*, *P. peruviana*, *P. grisea* y *P. alkekengi*. Los frutos de estas especies, salvo los de *P. peruviana* que se comen sin procesar, se utilizan para elaborar salsas acompañados comúnmente de estructuras vegetales de otras especies como cebolla (*Allium cepa* L.) y chile (*Capsicum spp.*) o complemento en la preparación de diversos guisados (Morton y Russell, 1954).

#### **2.1.1.5 Características fitoquímicas**

En los frutos del género *Physalis* se han encontrado diferentes compuestos químicos relevantes para el humano, entre ellos, concentraciones elevadas de vitaminas como el ácido ascórbico y vitaminas del complejo B, como el ácido fólico y otros folatos que ayudan a prevenir ciertas enfermedades congénitas (Ibave-González y Ochoa, 2007). El término folatos incluye a derivados del ácido pteroilmonoglutámico o ácido fólico, que actúan a nivel coenzimático recibiendo o donando unidades monocarbono en la síntesis de ácidos nucleicos y en la regeneración de metionina (Olivares *et al.*, 2006; Verhaar *et al.*, 2002). También se han encontrado carotenos (Cantwell *et al.*, 1992), que son precursores de la vitamina A, un nutriente esencial para el ser humano, llegando a tener hasta 1700 U.I. por 100 g de pulpa (NRC, National Research Council), 1989; Fischer *et al.*, 2000; Osorio y Roldan, 2003).

Los principales azúcares que se encuentran en los frutos de *Physalis* son sacarosa, glucosa y fructosa. El contenido de los monosacáridos permanecen constante durante la maduración del fruto mientras que la sacarosa aumenta (Cantwell *et al.*, 1992; Fischer y Lüdders, 1997), estos carbohidratos mostraron

su mejor conservación y mantenimiento procesados a 18°C y conservados a 12°C (Novoa *et al.*, 2006). El porcentaje de lípidos totales en *Physalis* puede alcanzar hasta el 2% del peso del fruto (Ramadan y Morsel, 2003) con altas proporciones de ácido linoléico y oléico, los cuales son más del 80% del total de los ácidos grasos. Para algunas especies de *Physalis* se han reportado altos contenidos de fitoesteroles, del orden del 5% del total de lípidos del fruto (Ramadán y Morsel, 2003). Los fitoesteroles son alcoholes de esteroides, estos últimos son triterpenos, compuestos complejos formados por seis unidades de isopreno, que son importantes componentes de las membranas celulares vegetales (Taiz y Zeiger, 1991), algunos de ellos tienen importante efecto hipocolesterolémico (Martínez *et al.*, 2011; Campos-Florian *et al.*, 2011; Ramadan, 2012).

También se han encontrado witanólidos y distintos tipos de fisalinas en especies como *Physalis minima*, *P. angulata*, y *P. peruviana*, entre otras. De los alrededor de 50 witanólidos encontrados, 6 se reportaron en *P. ixocarpa*, éstos son fisalina A y B, wita-fisacarpina, ixocarpanólido, ixocarpalactona A y B (Vasina *et al.*, 1986; Drost-Karbowska *et al.*, 1993), Las cantidades y subtipos de estas sustancias varían mucho entre especies, llegando a ser algunas de ellas exclusivas de una sola. Los witanólidos son esteroides (triterpenos como los fitoesteroles) en los que dos carbonos (el C<sub>22</sub> y el C<sub>26</sub>) se oxidan para formar un anillo de lactona (Glotter, 1991). Las fisalinas, como los fitoesteroles y los witanólidos, son derivados triterpenos del tipo esteroides, los cuales representan un estado altamente oxidado de los witanólidos (Makino *et al.*, 1995). Estos terpenoides están siendo estudiados por poseer propiedades antiproliferativas y preventivas contra el cáncer (Maldonado *et al.*, 2011).

Existe una gran cantidad de metabolitos secundarios en las especies de *Physalis*, como se reporta en el trabajo de Nathiya y Dorcus (2012) sobre *P. minima*, de la que se extrajeron cantidades importantes de alcaloides, quinonas, glucósidos, diferentes compuestos fenólicos como flavonoides y taninos, y varios tipos de terpenos como saponinas y esteroides.

Los compuestos fenólicos son los metabolitos secundarios más abundantes en el reino vegetal y varios estudios se han centrados en estas moléculas. En *Physalis* se han reportado derivados de quercetina (Drost-Karbowska *et al.*,

1993). En genotipos morados de *P. ixocarpa* se han encontrado compuestos antioxidantes como las antocianinas, presentes a niveles similares a los reportados para la fresa o la soya negra (González-Mendoza *et al.*, 2010). El potencial antioxidante de los frutos de *P. ixocarpa* también ha sido estudiado, y se ha encontrado que diferentes genotipos presentan distintos niveles de capacidad antioxidante, evaluada ésta como capacidad bloqueadora del radical libre DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil). Las antocianinas son un tipo de flavonoides, que brindan color a los tejidos vegetales que los sintetizan (Taiz y Zeiger, 1991). Los antioxidantes son productos de alto interés para el consumo humano, por sus demostradas cualidades benéficas para el organismo al poder neutralizar los radicales libres generados por él, que pueden dañar los distintos componentes celulares, incluido el ADN (Bellomo, 1991; Dizdaroglu *et al.*, 2002; Valko *et al.* 2004; Abdel-Haliem *et al.*, 2013). Para *Physalis* se han reportado altos niveles de antioxidantes que pueden ser aprovechables de forma directa o a partir de extractos (Ramadan y Morsel, 2003; Rockenbach *et al.*, 2008).

## 2.2 Metabolitos secundarios

El metabolismo secundario es el conjunto de reacciones químicas que produce compuestos que se cree que no son esenciales para el desarrollo y crecimiento básico de las plantas, pero que se sabe que están involucrados en la defensa y supervivencia de las plantas, además se han descubierto otras funciones como la adaptación ambiental al estrés y otros papeles importantes como la polinización y dispersión de semillas, interacción con otros organismos o en mecanismos de defensa contra estos (Do Nascimento y Fett-Neto, 2010). De acuerdo a la ruta de biosíntesis, los metabolitos secundarios se dividen principalmente en cuatro grandes grupos: los terpenoides, compuestos fenólicos, derivados nitrogenados y oxilipinas (Figura 1) (Schmidt *et al.*, 2005).

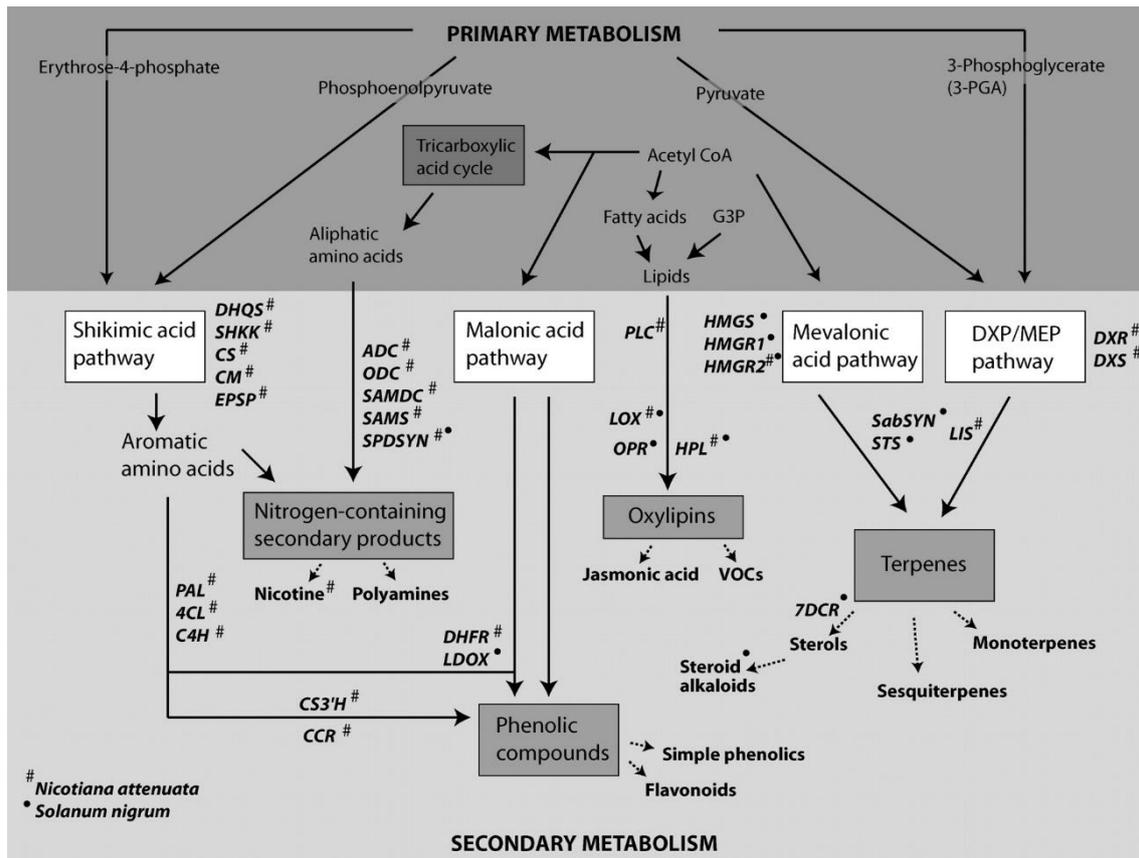


Figura 1. Descripción simplificada de las rutas sintéticas del metabolismo secundario y su relaciones con el metabolismo primario (Fuente: Schmidt *et al.*, 2005).

### 2.2.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son los metabolitos secundarios aromáticos más abundantes del reino vegetal (Vermerris y Nicholson, 2008), caracterizados por tener en su estructura uno o más grupos hidroxilo unidos directamente a un anillo aromático, además de otros grupos funcionales. Otros compuestos cumplen estas características pero tienen otra vía de síntesis principal, por lo que sólo se consideran fenólicos a los que se originan por las vías del ácido siquímico y del ácido malónico (Harborne, 1989).

Los compuestos fenólicos están ampliamente distribuidos en la naturaleza, encontrándose en bacterias, hongos, algas, líquenes, briofitas (plantas no vasculares) y plantas vasculares; sin embargo, tienen una mayor distribución en este último grupo de plantas (Harborne, 1989). Suelen encontrarse como ésteres o compuestos glicosilados (Vermerris y Nicholson, 2008).

Los compuestos fenólicos comprenden un grupo muy extenso y diverso por sus estructuras, por lo que necesitan una clasificación dentro del mismo grupo. En la Tabla 2 se presenta la clasificación basada en el número de carbonos de la molécula, su estructura, y grupos sustituyentes hidroxilo y otros radicales.

Tabla 2. Clasificación de compuestos fenólicos basada en su estructura química (Harborne y Simmons, 1964)

<b>Estructura</b>	<b>Clase de compuesto</b>
C <sub>6</sub>	Fenoles simples
C <sub>6</sub> – C <sub>1</sub>	Ácidos fenólicos y compuestos relacionados
C <sub>6</sub> – C <sub>2</sub>	Acetofenonas y ácidos fenilacéticos
C <sub>6</sub> – C <sub>3</sub>	Ácidos cinámicos, cinamil aldehídos, cinamil alcoholes
C <sub>6</sub> – C <sub>3</sub>	Cumarinas, isocumarinas y cromonas
C <sub>15</sub>	Chalconas, auronas y dihidrochalconas
C <sub>15</sub>	Flavanos
C <sub>15</sub>	Flavonas
C <sub>15</sub>	Flavanonas
C <sub>15</sub>	Flavanoles
C <sub>15</sub>	Antocianidinas
C <sub>15</sub>	Antocianinas
C <sub>30</sub>	Biflavonilos
C <sub>6</sub> – C <sub>1</sub> – C <sub>6</sub> , C <sub>6</sub> – C <sub>2</sub> – C <sub>6</sub>	Benzofenonas, xantonas, estilbenos
C <sub>6</sub> , C <sub>10</sub> , C <sub>14</sub>	Quinonas
C <sub>18</sub>	Betacianinas
Lignanós, neolignanós	Dímeros u oligómeros
Lignina	Polímeros
Taninos	Oligómeros o polímeros
Flavafenos	Polímeros

Los compuestos fenólicos son sintetizados por dos vías principales: la vía del ácido siquímico, que sintetiza a la fenilalanina, precursora de fenilpropanoides como los ácidos hidroxicinámicos y cumarinas, y la vía del ácido malónico o

policétido, de la cual surgen fenoles simples y también muchas quinonas (Harborne, 1989), aunque en su mayoría, los fenoles se sintetizan por la vía del ácido siquímico (Figura 1).

Los compuestos fenólicos se sintetizan y acumulan en prácticamente todos los tejidos vegetales. Muchos de estos compuestos, principalmente flavonoides y ácidos fenólicos, tienen propiedades biológicas con implicaciones médicas (Zhang y Cui 2005). Lo anterior es debido en gran parte a la actividad antioxidante, ya que gracias a su estructura química son capaces de amortiguar la actividad de los radicales libres y también aumentar la expresión de enzimas protectoras del estrés oxidativo (Rodríguez-Ramiro *et al.*, 2012; 2016).

### **2.2.1.1 Flavonoides**

Dentro del grupo de los compuestos fenólicos se encuentran los flavonoides, con estructura C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (Figura 2). Son un grupo muy extenso por su variabilidad de estructuras, con más de 10,000 descritas (Agati *et al.*, 2013), y conforman el grupo fenólico con mayor distribución en el reino vegetal. Dentro de las plantas tienen numerosas funciones, como proteger del daño producido por agentes diversos, incluyendo las interacciones planta-patógeno, y proteger a las células vegetales de la excesiva luz ultravioleta (Hernández *et al.*, 2009). También intervienen en el crecimiento vegetal, actuando como reguladores negativos en el transporte de las fitohormonas auxinas (Brown *et al.*, 2001; Ng *et al.*, 2015), en el desarrollo de semillas, la alelopatía, la polinización, viabilidad de polen y atrayendo polinizadores, además de servir como soporte en algunos tejidos (Do Nascimento y Fett-Neto, 2010). Por otra parte, las investigaciones quimiotaxonómicas, suelen centrarse en compuestos fenólicos como los flavonoides porque sus patrones tienden a ser específicos (Medina-Medrano *et al.*, 2015).

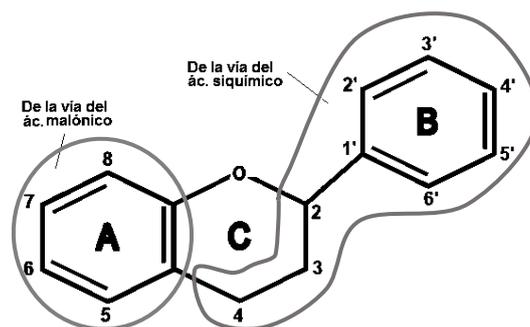


Figura 2. Estructura básica de los flavonoides y sistemática de numeración (Ghasemzadeh y Ghasemzadeh, 2011).

Los flavonoides se derivan biosintéticamente de una combinación de las vías que sintetizan a los compuestos fenólicos (Harborne, 1989), la vía del ácido siquímico y la del ácido malónico. La IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) clasifica a los flavonoides dependiendo de la posición del anillo B en el anillo C: Flavonoides (anillo B unido al carbono 2), isoflavonoides (anillo B unido al carbono 3) y neoflavonoides (anillo B unido al carbono 4). Pero también se clasifican por su patrón de sustitución (diferentes arreglos de grupos hidroxil y metoxil, entre otros), y en la conjugación entre los anillos A y B (Heim *et al.*, 2002).

Los flavonoides más comunes son las flavonas (como la apigenina y luteonina), los flavonoles (como la quercetina y canferol), los flavan-3-oles (como la catequinas y epicatequinas), las isoflavonas (como la genisteína), las antocianidinas (como la cianidina y petunidina), las auronas y las xantonas (Ghasemzadeh y Ghasemzadeh, 2011). En la Figura 3 se muestran las estructuras más comunes.

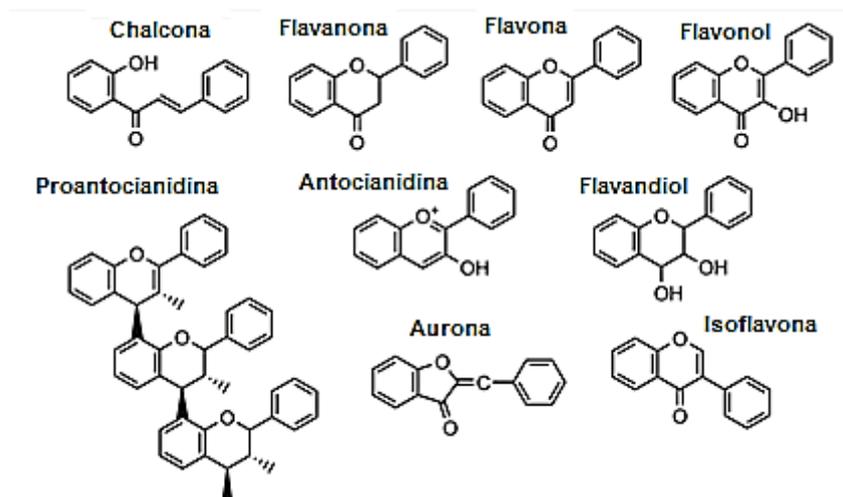


Figura 3. Estructura de los flavonoides más comunes. Modificado de Ghasemzadeh y Ghasemzadeh (2011).

### 2.3 Determinaciones espectrofotométricas

Los compuestos fenólicos y sus propiedades antioxidantes se pueden cuantificar mediante diferentes técnicas, los ácidos fenólicos se pueden cuantificar mediante HPLC (Medina-Medrano *et al.*, 2015), flavonoides y fenoles totales mediante HPLC, espectroscopía ultravioleta/visible o de infrarrojo. Si bien ciertos compuestos fenólicos se pueden cuantificar por su color natural como las antocianinas (González-Mendoza *et al.*, 2013) o haciendo que reaccione con otro elemento para poder cuantificarlo como sucede con los flavonoides y el cloruro de aluminio (Mabry *et al.*, 1970).

La espectroscopía infrarroja, permite, mediante diferentes métodos estadísticos, cuantificar moléculas que compartan características químicas estructurales similares, como reportó Lu *et al.* (2011) para la determinación de fenoles totales y capacidades antioxidantes de dos especies de cebollas.

### 2.4 Variabilidad molecular

Debido a la dificultad para la identificación de ciertas especies del género *Physalis* el apoyo de estudios moleculares a las clasificaciones tradicionales, basadas en caracteres morfológicos, ofrece datos que de otro modo podrían quedar ocultos. Los estudios moleculares también permiten tipificar o caracterizar especies silvestres (como lo son la mayoría de las pertenecientes a

*Physalis*) relacionadas a especies cultivadas, lo que revela “pools” genéticos útiles para el desarrollo de variedades. La utilización de diversos marcadores para descubrir formas alélicas valiosas para un carácter relevante de hortalizas como el tomate de cáscara son de gran importancia en los materiales de cruzamiento, como ha sido corroborado en especies cultivadas como el maíz (Zein *et al.*, 2007; Andersen *et al.*, 2007). Los estudios moleculares sobre *Physalis* han ido en aumento en los últimos años, reflejo del creciente interés en este género (Garzón-Martínez *et al.*, 2012; Vargas-Ponce *et al.*, 2011).

Olmstead *et al.* (1999) realizaron estudios filogenéticos de Solanacea, incluyendo tres especies del género *Physalis*: *P. alkekengi*, *P. peruviana*, y *P. heterophylla*, utilizando como marcador molecular al gen cloroplástico *ndhF* (NADH dehidrogenasa F). Sus resultados sugirieron que la relación filogenética entre *P. alkekengi* y las otras dos especies de *Physalis* era más lejana que la que existía entre *P. peruviana* y *P. heterophylla*. *Physalis alkekengi* es la única especie del género que no es nativa de América, su origen endémico se encuentra en Asia. Debido a que los datos de ADN del cloroplasto carecen de la variabilidad necesaria para resolver las relaciones entre especies dentro de *Physalis* es necesario utilizar marcadores moleculares que proporcionen mayor información respecto a la variabilidad interpoblacional de este género.

La utilización de microsatélites como marcadores moleculares para estimar la variabilidad es cada vez más frecuente. Los SSR (microsatélites o Simple Sequence Repeat) se han usado en varias solanáceas. Un ejemplo de lo anterior, es el estudio realizado por Wei *et al.* (2012), en el que a través de los marcadores SSR, PIP (Potential Intron Polymorphism) e InDel (Insertion/Deletion), conocidos en el jitomate gracias al proyecto de la secuenciación del jitomate publicado en mayo de 2012 (The Tomato Genome Consortium, 2012), se observó que marcadores moleculares del jitomate podían ser utilizados para estudios de variabilidad y diversidad en algunas especies de *Physalis*, y observaron que eran adecuados para determinar relaciones intra e interespecíficas. En otros estudio se reportó que los ISSR técnica basada en detectar la variabilidad de la longitud de regiones espaciadoras entre microsatélites, son útiles para estimar relaciones genéticas en *Physalis*, con especial utilidad para discriminar especies y realizar evaluaciones intraespecíficas (Vargas-Ponce *et al.*, 2011). Garzón-Martínez *et*

*al.* (2012) han realizado estudios con marcadores SSR en *Physalis peruviana*, esos autores, a través del programa informático Phobos (Mayer, 2006-2010), que permite la identificación de minisatélites, microsátélites y satélites de DNA, identificaron en el transcriptoma 5971 marcadores SSR, de los cuales 403 eran motivos perfectos y 5568 eran imperfectos; esta clasificación de microsátélites se basa en el tipo de repetición, si se repite el mismo motivo sin interrupción se le denomina perfecto, si hay interrupción entre las repeticiones de ese motivo se denomina imperfecto (Webber y May, 1989; Goldstein y Schlötterer, 1999). En ese mismo trabajo se desarrollaron los primeros marcadores específicos para *P. peruviana* a partir de SSR, dos de los cuales aparecían relacionados con proteínas de defensa involucradas en la respuesta a patógenos (Garzón-Martínez *et al.*, 2012). Existen trabajos realizados en *Physalis* utilizando otros marcadores moleculares como los AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), que además de reportar una correlación entre el tamaño de la flor y el peso del fruto de *P. philadelphica*, se encontró una asociación entre la variación del tamaño floral y la expresión de genes TFD (Transcript-Derived Fragments) identificados mediante AFLP (Wang *et al.*, 2012). Los resultados de Wang *et al.* (2012) dan una idea de la importancia de estos marcadores moleculares, que pueden llegar a estar relacionados con proteínas importantes tratándose de especies cultivadas, como en el caso de *P. peruviana*. Otras características importantes que están siendo estudiadas usando marcadores moleculares es la autoincompatibilidad que predomina en el género *Physalis*, con algunas excepciones como *P. ixocarpa* var. Rendidora, la cual sí es auto-compatible. Los trabajos como el de Mulato-Brito *et al.* (2007) y el de Lu (2002), en los que se estudiaron los genes de compatibilidad, su modo de transmisión, la posible implicación en procesos selectivos y la importancia que pueden tener con patrones genealógicos pueden contribuir a mejorar ciertos aspectos de interés para el cultivo de esa especie. Hay estudios en los que se han realizado caracterizaciones morfológicas asociándolos con marcadores moleculares RAM (Random Amplified Microsatellites), y pese a que estos marcadores moleculares demostraron ser útiles para determinar la variabilidad molecular, no se encontraron correlaciones con los caracteres morfológicos de *P. peruviana* (Morillo-Paz *et al.*, 2011).

## 2.5 Citogenética

Los estudios citogenéticos en *Physalis* han mostrado que su variabilidad cromosómica no es demasiada. Menzel (1951) publicó los datos encontrados en ese momento sobre citotaxonomía y genética del género. Así se puede observar que la ploidía común en *Physalis* es  $2n=24$ , aunque desde 1928 se reportaron especies con  $2n=48$  y  $2n=24$ , como son los casos de *P. peruviana* y *P. angulata*, ésta última reportada en 1938 (datos reportados por Menzel, 1951). Actualmente se han realizado estudios citogenéticos en *P. peruviana* estudiando ciertos ecotipos. Dado que los mayores productores del mundo de *P. peruviana* son Colombia, Sudáfrica, y Brasil (Bonilla-Cortés *et al.*, 2009), Rodríguez y Bueno (2006) estudiaron la ploidía de los distintos ecotipos de esos países y reportaron valores desde  $2n = 24$  en el silvestre,  $2n = 36$  en el ecotipo Colombia, y  $2n = 48$  en el ecotipo Kenia (reintroducido a Colombia desde África). De acuerdo a Rodríguez y Bueno (2006) es importante contemplar estas características, ya que la ploidía puede ser una adaptación a las distintas condiciones de crecimiento, por lo que mezclar ecotipos con distintas ploidías podría afectar a la producción.

### III. JUSTIFICACIÓN

La familia Solanácea está siendo ampliamente estudiada. El género *Physalis* tiene su origen de distribución y biodiversidad en México, está siendo estudiado aunque existen controversias en la delimitación específica y genérica, debido al gran desconocimiento sobre muchos aspectos taxonómicos, evolutivos, ecológicos y fisiológicos relacionados a ese género. *Physalis* contiene nutrientes y compuestos que tienen características importantes desde el punto de vista alimenticio, nutracéutica y farmacológico. Parte de estos compuestos son los compuestos fenólicos, pero prácticamente no se han estudiado en el género. *Physalis* es un recurso valioso para México, por lo tanto, determinar métodos espectroscópicos efectivos para establecer características antioxidantes y de composición fenólica ayudará a comprender la función de estos compuestos durante el desarrollo de la planta, aprovechar el potencial de estos compuestos y permitirá reducir la actual controversia taxonómica que existe en este género en México. Pudiendo ser de utilidad de cara a futuros procesos de adaptación y mejoramiento.

#### **IV. OBJETIVO GENERAL**

Determinar la composición y el papel de los flavonoides y ácidos fenólicos durante el desarrollo de raíz, intertallo, tallo, hoja, flor, cáliz y fruto de las especies *Physalis angulata* y *Physalis ixocarpa* cultivadas bajo condiciones de invernadero.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Material vegetal

En el presente estudio se utilizaron dos especies de *Physalis*, *Physalis angulata*, la cual es silvestre, procedente del Estado de Durango, y *Physalis ixocarpa* var. Premier, la cual es cultivada. Las semillas de *P. ixocarpa* var. Premier fueron proporcionadas por el CIIDIR-IPN Unidad Oaxaca.

En el caso de *Physalis angulata*, se extrajeron las semillas de los frutos maduros colectados en una población natural localizada en Durango, México (24°08'15.4"N, 104°31'58.5"), en agosto de 2012. Un ejemplar voucher fue depositado en el herbario CIIDIR (número curatorial: 42854). Las semillas se separaron de la pulpa y se esterilizaron en una solución de hipoclorito de sodio al 4% durante 30 minutos, posteriormente, las semillas se enjuagaron abundantemente con agua y se secaron rápidamente. Se colocaron en una bolsa de papel hasta su utilización.

En el lugar de colecta de *P. angulata* se registró información sobre el número de frutos por planta, peso del fruto, y altura de la planta para 10 individuos silvestres. La siembra de las semillas se realizó en tres periodos.

### 5.2 Primer periodo

En abril de 2013 se sembraron 100 semillas de *P. ixocarpa* y 100 semillas de *P. angulata* en almácigos, en bandeja de poliuretano de 2 cm x 2cm. Las semillas se sembraron en turba ("peat moss"), a una profundidad de 0.5 cm, tapándose con vermiculita (8:2 v:v), para mantener calor y humedad. Para evitar la entrada de la luz, las bandejas se envolvieron en plástico negro y se dejaron 4 días en el invernadero del CIIDIR-IPN unidad Durango (24°03'02" N, 104°36'40" O, 1878 msnm). La temperatura osciló entre los 12 y 34 °C durante el periodo de crecimiento. Después de esos 4 días se retiró el plástico. A los 30 días, las plántulas se trasplantaron a suelo, dentro del mismo invernadero, para que completaran su desarrollo.

Condiciones de Cultivo

Las condiciones de cultivo en el invernadero se describen a continuación.

Las plantas se colocaron en una cama de doble hilera. La separación entre hileras fue de 40 cm. El riego se efectuó mediante cintillas de goteo de 16 mm de grosor, calibre 8000 y con sus emisores separados a 20 cm para permitir una correcta distribución del agua. Para la optimización del uso del agua se usaron tensiómetros cuyo objetivo era establecer la capacidad de campo del suelo. El PH del suelo fue de 7.35 y la conductividad eléctrica de 0.165 dS/m. Las camas estuvieron cubiertas por acolchado plástico blanco sobre negro. El acolchado plástico, ahorra el uso de agua, al tener la cara interior negra se evita el crecimiento de otras plantas, el exterior blanco atenúa la temperatura del suelo. El plástico usado contaba con un grosor de 20  $\mu\text{m}$  y una anchura de 1.10 m. Las camas se encontraban a una separación de 1.64m. Con lo anterior se obtiene una densidad de siembra de 29268 plantas por hectárea. Para calcular el rendimiento, se estimó el peso promedio del fruto (Kg) y el promedio de frutos por planta y se utilizó la siguiente fórmula (Vallejo *et al.*, 2010):

$$\begin{array}{ccccccc} \text{Peso promedio} & & & & \text{Densidad de} & & \\ \text{del fruto (kg)} & \times & \text{Promedio de} & \times & \text{siembra} & = & \text{Rendimiento} \\ & & \text{frutos por planta} & & (29268) & & \text{o (kg ha}^{-1}\text{)} \end{array}$$

Se trasplantaron 30 plantas de *Physalis angulata* y 20 plantas de *P. ixocarpa* var. Premier. Para cada planta individual se realizó el seguimiento de la altura, morfología, fenología, y cantidad y tamaño de frutos. También se registraron las temperaturas máximas y mínimas, las humedades relativas máximas y mínimas, y el gasto total de agua.

Los frutos se recogieron en el inicio del mes de septiembre de 2013. En ese primer periodo, los frutos de cada especie se separaron en cuatro grupos en función de su diámetro.

En este periodo se registraron los siguientes parámetros agromorfológicos: altura de la planta (desde la base del tallo hasta la inserción de la última hoja), número de frutos maduros por planta, y peso del fruto. Esos registros se realizaron

en las plantas de 115 días de edad para tres lotes de 10 plantas cada uno, en un diseño completamente al azar.

### 5.3 Segundo periodo

En este segundo periodo se realizó el muestreo de las diferentes estructuras vegetales, de acuerdo a su etapa de desarrollo.

Para el segundo periodo, de marzo de 2014 a septiembre de 2014, se sembraron 1500 semillas de cada especie, de la manera descrita anteriormente, pero en vez de trasplantar las plántulas al suelo, se trasplantaron a bolsas de polietileno de alta densidad. Se reconocieron cuatro etapas de desarrollo, de acuerdo a la escala BBCH (Biologische Bundesanstalt Bundessortenamt and Chemical), las cuales se describen en la Tabla 3 (Ramírez *et al.*, 2013). En cada etapa de desarrollo se colectaron las plantas enteras para después separar las diferentes estructuras.

Tabla 3. Etapas de desarrollo reconocidas en el presente estudio para *Physalis angulata* y *P. ixocarpa* var. Premier. Las etapas se reconocieron con base en la escala BBCH (Biologische Bundesanstalt Bundessortenamt and Chemical), descrita por Ramírez *et al.* (2013).

Etapa de desarrollo	Escala BBCH		
	Estadio principal	Código	Descripción
1	Desarrollo de hojas verdaderas	102	Segunda hoja verdadera completamente desplegada.
2	Floración	602	Segunda flor abierta.
3	Fructificación	702	Segundo fruto alcanza el tamaño y la forma típica. El 80% de los cálices de los frutos
4	Maduración del fruto	808	maduros muestran un color verde-amarillo y comienzan a secarse.

Las estructuras colectadas fueron raíz, intertallo (sección no completamente diferenciada que se ubica entre la raíz y el tallo, normalmente de color blanco y con estructura similar al tallo con algunos pelos radicales en ella), tallo, hojas, flor (incluyendo polen, anteras y cáliz no globuloso), fruto, cáliz (una vez que empieza a inflarse y a rodear al fruto).

Debido a que no todas las estructuras se encuentran en todas las etapas y el tamaño de las plantas fue dependiente de la edad de las mismas, el número de plantas requerido para juntar suficiente material vegetal fue diferente. En la Tabla 4 se presenta el número de plantas utilizadas en cada una de las cuatro etapas.

Tabla 4. Número de plantas y estructuras vegetales usadas en cada etapa, de *Physalis angulata* y *P. ixocarpa* var. Premier.

Número de plantas	Etapa	Estructura						
		Raíz	Intertallo	Tallo	Hoja	Flor	Fruto	Cáliz
500	1							
100	2							
30	3							
30	4							

Las plantas o individuos de la etapa 1 fueron seleccionados directamente de los almácigos, mientras que para las etapas 2, 3 y 4 las plantas se tomaron de las bolsas de trasplante. Las plántulas destinadas a usarse en la etapa 2 se trasplantaron 3 por bolsa, mientras que las destinadas a usarse en las etapas 3 y 4 se trasplantaron una por bolsa. La composición del sustrato de las bolsas fue arena, tierra y composta de cerdo (1:1:1), utilizando aproximadamente 6 litros de volumen de sustrato en cada bolsa de trasplante.

#### **5.4 Tercer periodo**

En el periodo comprendido de febrero a septiembre de 2015, se realizó la siembra de 1000 semillas de las dos especies de *Physalis* para completar material y recuperar semilla.

#### **5.5 Selección, limpieza y almacenamiento del material vegetal**

Todos los individuos colectados crecieron de una manera homogénea en relación al tiempo. Una vez seleccionadas, las plantas se retiraron con cuidado de la bandeja o bolsa y se lavaron cuidadosamente con agua corriente para retirar el sustrato. Posteriormente se enjuagaron con agua bidestilada. Las diferentes estructuras fueron seccionadas, congeladas con nitrógeno líquido y guardadas en bolsas de plástico etiquetadas. Las bolsas conteniendo las diferentes estructuras se almacenaron en un ultracongelador a una temperatura de -50°C hasta su análisis.

Las diferentes estructuras de un número variable de individuos (Tabla 4) por etapa de desarrollo, se combinaron y para cada una se formaron tres lotes que fueron analizados de manera independiente. Para cada estructura vegetal en cada una de las etapas de desarrollo descritas, se realizaron los análisis que se describen a continuación. Cada análisis se realizó por triplicado para cada uno de los tres lotes independientes de cada estructura y de cada especie.

#### **5.6 Extracción de compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos son altamente solubles en solventes polares, como metanol o etanol. Para garantizar una representatividad de los resultados, tres lotes independientes fueron usados para realizar las extracciones de compuestos fenólicos. Los lotes se conformaron tras dividir en tres partes la mezcla del mismo tipo de tejido de todos los individuos de una misma etapa. El solvente utilizado fue etanol al 80%, la descripción del método de extracción se muestra en la Figura 4, y está basado en el método de Medina-Medrano *et al.* (2015) con modificaciones.

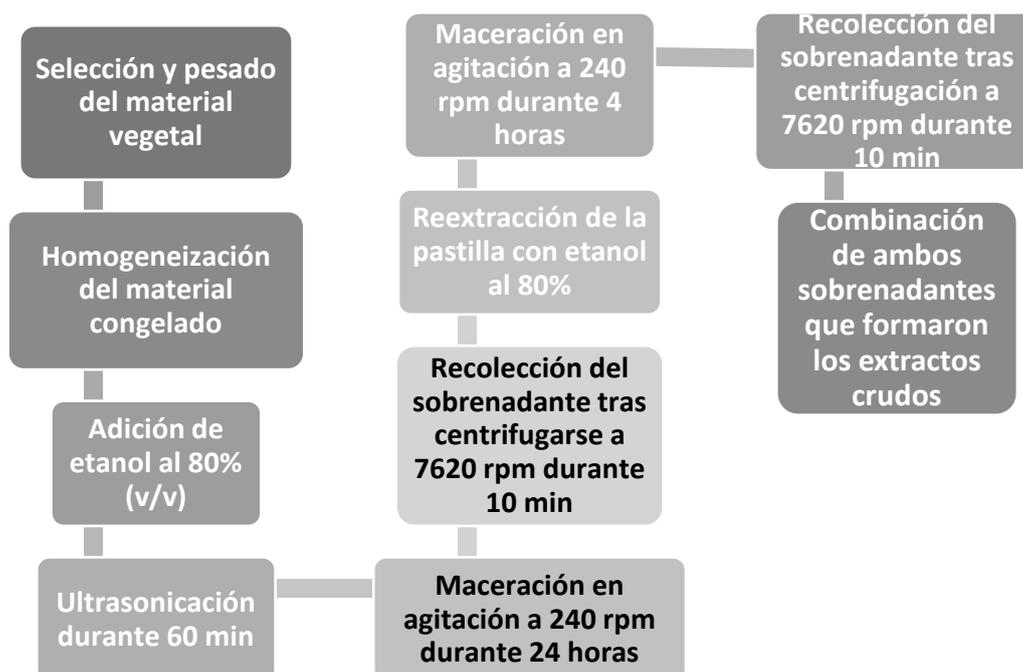


Figura 4. Metodología usada en el presente estudio para la extracción de los compuestos fenólicos de *Physalis angulata* y *P. ixocarpa* var. Premier.

Debido a las diferentes propiedades de cada una de las estructuras, diferentes proporciones de etanol (80%, v/v) fueron aplicadas para la extracción de los compuestos. Las respectivas proporciones se presentan en la Tabla 5. Para mejorar la extracción, la mezcla se sometió a ultrasonido a temperatura ambiente, durante 60 min. Posteriormente se dejó en maceración, con una agitación de 240 rpm en un agitador orbital por 24 horas a temperatura ambiente y en oscuridad. Después, las mezclas se centrifugaron a 7620 rpm por 10 minutos a 25°C, y se recuperó el sobrenadante. La pastilla se sometió a una segunda extracción, de la manera anteriormente descrita, con el volumen indicado en la Tabla 5 y dejando macerar en agitación durante 4 horas.

Tabla 5. Relación del peso del tejido y volumen de etanol (80%, v/v) usado para la extracción de compuestos fenólicos de diferentes estructuras de *Physalis angulata* y *P. ixocarpa* var. Premier.

Tejido	Primera extracción: mL etanol g <sup>-1</sup>	Segunda extracción: mL etanol g <sup>-1</sup>	Volumen total de extracto total formado (mL)
Raíz	5	2	7
Intertallo	5	2	7
Tallo	5	2	7
Hoja	3	2	5
Flor	3	2	5
Fruto	3	2	5
Cáliz	5	3	8

Los extractos totales (crudos) se almacenaron en tubos de polipropileno en oscuridad y a temperatura ambiente.

### 5.7 Determinación del perfil fenólico

La determinación del perfil fenólico de cada tipo de tejido, a una determinada etapa de desarrollo, se realizó por HPLC-DAD, usando el método de Campos y Markham (2007). Alícuotas de 100 µL de los extractos etanólicos fueron analizados en un HPLC Perkin Elmer Series 200 y una columna analítica C18 Perkin Elmer Brownlee (4.6 x 250 mm, 5 µm). El análisis se llevó a cabo con un gradiente de agua-acetonitrilo como fase móvil. El agua se ajustó a un pH de 2.5 con ácido ortofosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>). Como solvente A se utilizó el agua acidificada y como solvente B se utilizó acetonitrilo (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>N). El gradiente se estableció de la siguiente manera: Inicio del 100% de A, disminuyendo a 91% durante los siguientes 12 minutos, bajando a un 87% durante 8 minutos, al 67% en los siguientes 12 minutos y hasta un 57% durante 10 minutos. Este último nivel se mantuvo hasta el final de los 60 minutos que duró el análisis. El volumen de inyección fue de 50 µL, la velocidad de flujo fue de 0.8 mL/min. Los análisis se llevaron a cabo a temperatura ambiente.

Los cromatogramas se registraron a 260 y 340 nm. Los espectros UV de cada pico se obtuvieron en el rango de 200 a 400 nm, usando un detector de arreglo de diodos Perkin Elmer Series 200. Información estructural de cada compuesto

resuelto en los cromatogramas fue obtenida por comparación directa de su tiempo de retención (TR) y su espectro UV con los de los siguientes estándares: ácido clorogénico (RT: 27.76 min;  $\lambda_{\max}$ : 243sh, 296sh, 326), ácido caféico (RT: 53.13,  $\lambda_{\max}$ : 239sh, 295sh, 318), ácido *p*-cumárico (RT: 37.2,  $\lambda_{\max}$ : 293sh, 308), quercetina (RT: 47.05,  $\lambda_{\max}$ : 255, 268sh, 299sh, 370), morina (RT: 45.4,  $\lambda_{\max}$ : 254, 264sh, 298sh, 354), apigenina (RT: 59.62,  $\lambda_{\max}$ : 269, 335) hesperidina (RT: 39.34,  $\lambda_{\max}$ : 284, 335sh), y naringenina (RT: 52.25,  $\lambda_{\max}$ : 289, 335sh). Información estructural de los compuestos de las dos especies de *Physalis* analizadas también se obtuvo por comparación de sus espectros UV con los de 18 ácidos fenólicos, 5 dihidroflavonoides, y 111 flavonoides reportados por Campos y Markham (2007), y 175 espectros UV de flavonoides reportados por Mabry *et al.* (1970). Una fuente valiosa de información estructural también fue la teoría UV de flavonoides y ácidos fenólicos desarrollada por Campos y Markham (2007). De acuerdo a esa teoría, con base en el número, posición, intensidad y forma de las bandas; y en el número, posición y forma de las inflexiones de los espectros UV es posible distinguir entre ácidos fenólicos y flavonoides, y entre flavonas, flavonoles, y dihidroxiflavonoides, además de elucidar algunas sustituciones OH- y glicosil- en las estructuras de esos compuestos.

El perfil fenólico de cada tipo de tejido estuvo formado por todos los compuestos encontrados en los respectivos cromatogramas. Cada compuesto representó un carácter químico individual.

Para tener una idea más completa de la composición fenólica de los extractos de cada tipo de tejido en cada una de las cuatro etapas de desarrollo, se realizaron las pruebas de determinación de fenoles totales, flavonoides totales y ácidos fenólicos totales.

## 5.8 Determinación de fenoles totales

Esta y las determinaciones de las propiedades antioxidantes se hicieron también para los frutos maduros silvestres de *P. angulata*. El método del reactivo de Folin–Ciocalteu para cuantificar la concentración de fenoles totales de un extracto vegetal es el más frecuentemente usado (Prior *et al.*, 2005), el cual involucra la oxidación en solución alcalina de los fenoles por el reactivo molibdotungstofosfórico, el cual es un heteropolianión amarillo. Este método está

considerado como una buena referencia de la cantidad de fenoles totales en tejidos vegetales, lo que es importante determinar dada la conocida alta actividad antioxidante de ese tipo de fitoquímicos, que además son los metabolitos secundarios que normalmente abundan en las plantas (Agati *et al.*, 2013). A este ensayo también se le puede considerar otra prueba de capacidad antioxidante porque el mecanismo básico implicado es una reacción de óxido/reducción (Prior *et al.*, 2005). La oxidación de los compuestos fenólicos y la reducción del reactivo Folin-Ciocalteu da como resultado una reacción color azul, por lo que se puede leer el producto de la reacción con un espectrofotómetro VIS-UV, a una longitud de onda ( $\lambda$ ) entre los 700 y 760 nm, el pico máximo de absorción se escoge tras determinar el pico máximo de absorción del estándar usado (Cicco *et al.*, 2009). El método se llevó a cabo como se describe en Medina-Medrano *et al.* (2015) con algunas modificaciones. Se combinaron 31  $\mu$ L de muestra, 312  $\mu$ L de agua bidestilada y 31  $\mu$ L del reactivo de Folin-Ciocalteu. La mezcla se agitó en vórtex durante 2 minutos y se dejó reposar 5 minutos mientras la reacción de oxidación se desarrollaba. Para neutralizar la reacción, se añadieron 93.5  $\mu$ L de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20%, preparado previamente con agua desionizada, y se dejó 120 minutos a temperatura ambiente, hasta completar la neutralización. El blanco se preparó de la misma manera sólo que se substituyó la muestra por etanol al 80%. Al añadir el reactivo de Folin-Ciocalteu, la mezcla de reacción se vuelve amarillenta, si la muestra tiene capacidad antioxidante, el color amarillo de la mezcla de reacción vira a azul. En el blanco, la adición de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  provoca la decoloración de la mezcla.

El contenido de fenoles totales se determinó por un análisis de regresión lineal a partir de una curva de calibración [ $\text{Abs}_{760\text{nm}}=0.003x - 0.0241$  ( $r=0.9986$ )] construida con cuatro concentraciones (entre 8 y 92  $\mu\text{g/mL}$ ) de ácido gálico (AG). El ácido gálico es un ácido fenólico y se utilizó como estándar de referencia para la determinación del contenido fenólico de las muestras. El contenido se expresó en mg de equivalentes de ácido gálico por gramo de peso fresco (EAGS/g PF).

## 5.9 Determinación de flavonoides totales

La determinación de flavonoides totales se realizó mediante dos técnicas, una espectrofotométrica y otra cromatográfica, por HPLC-DAD.

### Método espectrofotométrico

Se realizó basándose en el método de Medina-Medrano *et al.* (2015) con modificaciones. A 450  $\mu\text{L}$  de etanol al 80% se agregaron 50  $\mu\text{L}$  de muestra y se añadieron 30  $\mu\text{L}$  de cloruro de aluminio al 5%, disuelto en etanol al 80% (p/v). El cloruro de aluminio tiene la capacidad de formar complejos estables con flavonas y flavonoles que tiene grupos OH- en C3 o C5, y forma complejos lábiles con los flavonoides que tienen sistemas orto-dihidroxilo (Mabry *et al.*, 1970). Al producirse esos complejos, el color de la muestra vira a amarillo. La reacción se realizó en un tubo para microcentrífuga de 2 mL, se agitó invirtiendo los tubos, y se registró el valor de absorbancia de la muestra a 425 nm en un espectrofotómetro VIS – UV. Todo el proceso se llevó a cabo a temperatura ambiente. El blanco se preparó de la manera indicada, salvo que se sustituyó la muestra por etanol al 80%. Las lecturas se hicieron en celda de vidrio de 1.4 mL. El contenido de flavonoides totales se determinó por un análisis de regresión lineal a partir de una curva de calibración [ $\text{Abs}_{425\text{nm}}=0.02x-0.009$  ( $r=0.9960$ )] construida con cuatro concentraciones (entre 0 y 7  $\mu\text{g/mL}$ ) del estándar de quercetina (Q). La determinación de flavonoides totales de cada muestra se expresó en miligramos equivalentes de quercetina por gramo de peso fresco (EQ/g PF).

### Método cromatográfico

Las concentraciones de flavonoides también fueron determinadas por HPLC, considerando el área bajo la curva de cada pico en los cromatogramas y a partir de una curva estándar del flavonol quercetina ( $\text{Área}= 1.08 \times 10^{-7}$  [quercetina] +  $3.19 \times 10^6$ ;  $r = 0.9985$ ). La suma de todas las concentraciones de flavonoides individuales, representadas por el área bajo la curva de los picos correspondientes en los cromatogramas de una muestra, e identificados como tales por su espectro de absorción UV con el detector DAD, correspondió a la concentración total de flavonoides. Las concentraciones se expresaron como miligramos por gramo de peso fresco (mg/g PF). La muestra, suspendida en etanol al 80%, fue secada y resuspendida en metanol al 100% para su posterior lectura en HPLC-DAD.

## 5.10 Determinación de ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos fueron cuantificados por HPLC, considerando el área bajo la curva de los picos correspondientes. Para ello, por regresión lineal, se construyó una curva de calibración de ácido gálico ( $\text{Área} = 2.51 \times 10^8 [\text{ácido gálico}] + 3.02 \times 10^6$ ;  $r = 0.996$ ). Al igual que para los flavonoides, la suma de todas las concentraciones de los picos identificados como ácidos fenólicos de una misma muestra, representó el contenido total de los mismos. Las concentraciones se expresaron como miligramos por gramo de peso fresco (mg/g PF). La muestra, suspendida en etanol al 80%, fue secada y resuspendida en metanol al 100% para su posterior lectura en HPLC-DAD.

## 5.11 Pruebas de capacidad antioxidante

### 5.11.1 Capacidad bloqueadora del radical DPPH\*

El radical DPPH\* (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl o 2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl) hydrazyl) es una molécula artificial con características similares a los radicales libres que pueden encontrarse en el organismo, es muy usado en la literatura científica para determinar propiedades antioxidantes de diferentes productos naturales. Este radical tiene un electrón libre, que está deslocalizado en la molécula, lo que en solución, le confiere un color violeta/morado intenso cuyo máximo de absorción se encuentra alrededor de 523 nm. Esa deslocalización hace que el compuesto no pueda formar dímeros (Molyneux, 2004) ni reaccionar con oxígeno (Ionita, 2005). Cuando se encuentra en presencia de un antioxidante se produce una reacción de óxido-reducción y el DPPH\* vira de morado a amarillo pálido, indicando que el DPPH\* se ha reducido (Figura 5).

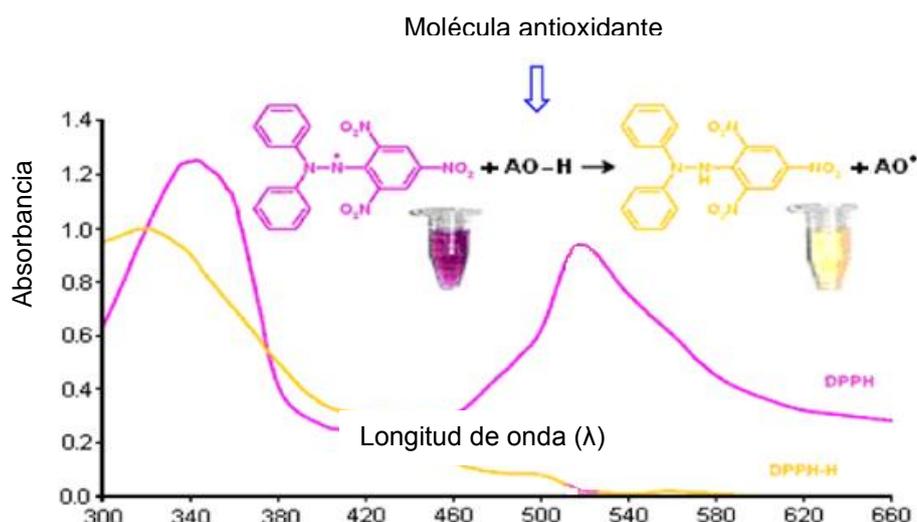


Figura 5. Barrido de absorción de DPPH\* (oxidado; línea morada) y barrido de absorción de DPPH-H (reducido; línea amarilla). Modificado de Boligon *et al.* (2014).

Para el presente estudio se realizó una curva de calibración [ $A_{523} = 0.0019$  [DPPH\*] + 0.0309, correlation coefficient  $r = 0.9998$ ], registrando la absorción a 523 nm de soluciones de DPPH\* a diferentes concentraciones. A partir de una solución original-(62.5  $\mu\text{g/mL}$ , en etanol al 80%) se realizaron 3 diluciones como se menciona en la Tabla 6.

Tabla 6. Relación de DPPH\* y etanol (80%) como solvente para la preparación de la curva de calibración de DPPH\*.

DPPH* ( $\mu\text{L}$ )	Etanol 80% ( $\mu\text{L}$ )	Concentración final de la solución de DPPH ( $\mu\text{g/mL}$ )
500	0	62.5
450	50	56.25
400	100	50
375	125	46.875

Una vez obtenido lo anterior, se realizó la determinación de la capacidad bloqueadora del radical, utilizando la curva anterior solo que en lugar de Etanol como se indica en la Tabla 5, se adiciona el extracto etanólico a estudiar.

Con los registros de absorbancia a 523 nm de cada muestra y la curva de calibración arriba mencionada, se calculó la cantidad de mL de extracto que se requirió para bloquear el 50% del radical presente. Para estimar la concentración de extracto, los volúmenes utilizados se dejaron evaporar para obtener el peso seco por cada mL de los mismos. De esta forma los datos se expresaron en mg de extracto por mililitro (mg/mL) necesarios para alcanzar la  $EC_{50}$ , que es la concentración de extracto que reduce en un 50% la concentración inicial del DPPH\*.

### 5.11.2 Capacidad antioxidante total (CAT)

La capacidad antioxidante total fue evaluada con modificaciones del método descrito por Medina-Medrano *et al.* (2015), usando como medición del poder antioxidante la reducción de Mo (VI) a Mo (V) causada por un antioxidante, que provoca la formación del complejo de fosfomolibdato en un ambiente ácido, el cual es de color verde (Prieto *et al.*, 1999). Se utilizaron 50  $\mu$ L de los extractos crudos, se combinaron con 500  $\mu$ L de una solución preparada con ácido sulfúrico 0.6 M, fosfato de sodio 28mM, y molibdato de amonio 4mM. Las muestras se incubaron en un termoblock a 95° C durante 90 min. A esta temperatura se facilita la reacción de reducción de molibdato VI a molibdato V debido al efecto antioxidante de la muestra, dando lugar, después de que las muestras alcanzan la temperatura ambiente, al complejo verde de fosfato/Mo (V). Se registró la absorbancia a 695 nm contra un blanco preparado de la misma manera y formado por todos los componentes de la mezcla de reacción, agregando etanol al 80% en vez de extracto. Los valores de la CAT se determinaron por un análisis de regresión lineal a partir de la siguiente curva realizada con cuatro concentraciones (0.1 and 1 mg/mL) de ácido ascórbico (AA):  $A_{695} = 4.213 [AA] - 0.236$ , coeficiente de correlación  $r = 0.9988$ . La CAT de cada muestra se expresó como miligramos equivalentes de ácido ascórbico por mililitro (mg EAA/mL).

### 5.11.3 Poder reductor de hierro (PR)

El poder reductor de hierro se puede cuantificar mediante la conversión del  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$ . A mayor capacidad antioxidante de la muestra, mayor será la reducción del  $\text{Fe}^{3+}$ , y por lo tanto, mayor poder reductor presentará el extracto. Para esta técnica se siguió el método de Yang *et al.* (2008) con algunas modificaciones. A 50  $\mu\text{L}$  de extracto se le adicionaron 125  $\mu\text{L}$  de regulador de fosfatos. Para preparar el regulador se utilizaron 69 g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  disueltos en 250 mL de agua bidestilada y 134.04 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  en 250 mL de agua bidestilada (buffer 0.2M y pH 6.6). Posteriormente, se añadieron 125  $\mu\text{L}$  de una solución de ferrocianuro (0.1/10, m/v), se homogeneizó, y se incubó a 50 °C durante 20 min. Después, se adicionaron 125  $\mu\text{L}$  de ácido tricloroacético (1/10, m/v) y se centrifugó a 3000 rpm durante 10 min. Se recuperaron 250  $\mu\text{L}$  del sobrenadante y se añadieron 250  $\mu\text{L}$  de agua desionizada y 50  $\mu\text{L}$  de cloruro férrico, estos últimos se añadieron justo antes de realizar el registro de la absorbancia 700 nm. Los valores se representaron en unidades de absorbancia.

### 5.12 Caracterización por absorción infrarroja (FTIR).

Se analizaron las propiedades de estructura de los fenoles mediante espectroscopia infrarroja (FTIR), la cual permite el estudio de los grupos funcionales existentes en cada muestra, resultado de vibracionales moleculares. La medición de espectros FTIR permite obtener una “huella digital” estructural característica de cada muestra analizada, lo cual provee una vía rápida para la discriminación de acuerdo algún parámetro composicional. Se realizaron la medición de espectros de absorción infrarroja empleando un espectrómetro de transformada rápida de Fourier (FTIR) marca Bruker modelo Vertex 70 en la modalidad de muestreo por reflectancia total atenuada (ATR). El tiempo de adquisición de cada espectro fue de 120 segundos, realizándose la medición por duplicado, y las señales fueron procesadas mediante el software OPUS incluido en el sistema FTIR.

### 5.13 Análisis de datos

Todos los ensayos se realizaron por triplicado para tres muestras independientes. Los resultados se expresaron como la media aritmética  $\pm$  desviación estándar (DE). Los datos se sometieron a análisis de varianza ( $p \leq 0.05$ ). La discriminación de medias se realizó por la prueba de Tukey, usando el software Statistica 7. Las correlaciones entre las propiedades antioxidantes y las concentraciones de los diferentes compuestos fenólicos se estimaron con la prueba de Spearman, usando el software SPSS 17.0. La comparación entre los perfiles fenólicos se realizó construyendo una matriz binaria de presencia (1)/ausencia (0), con base en los perfiles fenólicos de cada muestra y sometiendo la matriz a un análisis de agrupamiento (basado en el algoritmo Neighbour Joining y el índice de similitud de Jaccard), usando el software Past 3.10.

Una vez que se obtengan los espectros FTIR, se aplicó el análisis quimiométrico. Combinando un resultado experimental como lo es FTIR, con el análisis multivariado, el cual incluye entre algunas de sus rutinas a el análisis de componentes principales (PCA) para tipificar de acuerdo a algún parámetro composicional y el análisis por mínimos cuadrados parciales (PLS) para cuantificar variables de interés en cada estudio.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Comparación de las características agromorfológicas de *P. angulata* silvestre y cultivada en invernadero

Durante el año 2013, en la plantación en invernadero se obtuvieron algunos datos agronómicos de interés, principalmente para *P. angulata*, que es la especie silvestre. Estos datos se presentan en la Tabla 7, en la que se comparan las características agromorfológicas evaluadas de *P. angulata* cultivada en el invernadero, con los de la misma especie en una población natural.

Tabla 7. Indicadores agronómicos de *Physalis angulata* sembrada en invernadero y silvestre.

<i>Physalis angulata</i>	Frutos/planta	Altura de la planta (cm)	Producción de fruto (Kg/ha)	Peso del fruto (g)
Silvestre	88 ± 14a	53 ± 09a	No estimado	1.52 ± 0.16a
Cultivada en invernadero	962 ± 112b	151 ± 12b	54623 ± 6214	1.94 ± 0.21b

Los valores representan la media y desviación estándar de 30 individuos. Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). La producción de fruto se estimó multiplicando el peso del fruto x el número de frutos por planta x la densidad de plantación (29268 plantas/ha), de acuerdo a Vallejo *et al.* (2010).

Las condiciones de invernadero mejoraron de forma significativa la capacidad de producción de frutos de *P. angulata*, así como la altura de las plantas y el peso de los frutos. Los individuos de *P. angulata* crecidos en condiciones de invernadero produjeron casi 11 veces más frutos/planta que los silvestres, alcanzando hasta 962 frutos/planta en promedio. Sin embargo, esa cantidad de frutos fue menor que la reportada por Valdivia-Mares *et al.* (2016) para *P. angulata* cultivada en campo, quienes obtuvieron 1339 frutos/planta.

Valdivia-Mares *et al.* (2016) también estudiaron el potencial agronómico de tres especies silvestres de *Physalis*, cultivadas en campo, y reportaron un rendimiento de alrededor de 27 t/ha para *P. angulata*. Ese valor fue aproximadamente la mitad del que se reporta en el presente estudio, que fue de 54 t/ha (Tabla 7).

El peso promedio del fruto encontrado en el presente estudio para *P. angulata* cultivada en condiciones de invernadero fue de 1.94 g, este valor fue superior al reportado por Valdivia-Mares *et al.* (2016), que fue de 1.64g. Sin embargo, el rendimiento por planta reportado por esos mismos autores fue mayor (2196 g/planta) al estimado en el presente trabajo para la misma especie cultivada en condiciones de invernadero (alrededor de 1866 g/planta). Esas diferencias pueden deberse a que Valdivia-Mares *et al.* (2016) utilizaron genotipos de *P. angulata* que se estima llevan seleccionándose y cultivándose desde hace 65 años (Vargas-Ponce *et al.*, 2015), y los genotipos de la misma especie evaluados en el presente estudio fueron completamente silvestres. El cultivo en invernadero, usando el acolchado plástico, que permite una mayor densidad de siembra, podría elevar los rendimientos de los genotipos semidomesticados de *P. angulata*.

La producción de fruto de *P. angulata* crecida en condiciones de invernadero fue de 54623 Kg/ha (Tabla 7). Este valor fue alrededor de dos veces más alto que el valor reportado por Valdivia-Mares *et al.* (2016) para esta misma especie cultivada en campo (27265 Kg/ha), y 3.6 veces alta que el promedio de la producción nacional mexicana de *P. ixocarpa* (14.94 t/ha) (SIAP, 2014), la cual es la principal especie de tomate verde cultivado en México. López-López *et al.* (2008) reportaron un rendimiento (producción de fruto) de entre 60 y 80 t/ha para variedades cultivadas de *P. ixocarpa*, las cuales tienen un mayor nivel de domesticación que cualquier genotipo de *P. angulata*. Sin embargo, teniendo en cuenta que el valor comercial de *P. angulata* puede llegar a ser superior al de *P. ixocarpa*, debido a la preferencia de los consumidores por el sabor de los frutos de la primera de estas especies (Vargas-Ponce *et al.*, 2015), aún teniendo una producción de *P. angulata* menor a la de *P. ixocarpa*, sería rentable comercialmente para el agricultor cultivar *P. angulata*.

Las condiciones de invernadero mejoraron significativamente la altura de las plantas de *P. angulata* (Tabla 2), las cuales fueron 2.8 más altas que las silvestres. De acuerdo a los resultados del presente estudio, las plantas de esta especie crecidas en invernadero pueden ser más altas que las cultivadas en campo, las cuales pueden alcanzar tallas entre 60 y 75 cm (Vargas-Ponce *et al.* 2015). Pueden también alcanzar mayor talla que las plantas de la misma especie

cultivada bajo condiciones controladas de sustrato y luz en Brazil (menos de 60 cm) (Freitas *et al.* 2006). La altura registrada en el presente estudio para *P. angulata* cultivada en invernadero se pudo deber a una mayor disponibilidad de agua y a adecuadas condiciones de temperatura y concentración de CO<sub>2</sub> que pudieron haber favorecido el crecimiento vegetativo. Este incremento de biomasa, se puede aprovechar de diferentes maneras, ya sea para consumo animal o para obtener compuestos de interés nutracéutico o farmacológico, ya que a partir de diferentes tejidos de *P. angulata* se han obtenido diferentes compuestos con importantes actividades biológicas, entre ellos varios withanólidos y physalinas, los cuales tienen propiedades de pro-apoptosis (Hsu *et al.*, 2012; Reyes-Reyes *et al.*, 2013).

Mientras que los individuos de *P. angulata* se adaptaron de manera adecuada a las condiciones de cultivo en invernadero, los de *P. ixocarpa* mostraron un comportamiento altamente irregular entre si, y también el aborto de la primera floración. Probablemente, las altas temperaturas sufridas durante el periodo de esa floración pudieron provocar la desecación del tubo polínico, como ha reportado Rodríguez-Burgos (2010) que puede ocurrir en *P. ixocarpa*. De esta manera mientras que el número de frutos/planta, el peso y tamaño de los frutos, y la altura de la planta fueron homogéneos entre los individuos de *P. angulata*, esos parámetros fueron heterogéneos entre los individuos cultivados en invernadero de *P. ixocarpa*. Extremos de esa heterogeneidad son la presencia de un individuo sin frutos, un individuo con un fruto de más de 50 g, otro con más de 1400 frutos de tamaño muy pequeño (con peso menor de 2 g), y algunos individuos con alrededor de 50 frutos, cada uno entre 10 y 45 g. Así como la variedad en los frutos, también se encontraron muchas diferencias en el tamaño; la forma de vida, el 60% de individuos fueron rastreros y el 40% fueron erectos; y algunos alcanzaron más de dos metros de altura, mientras que algunos rastreros superaron los 4 metros. Es posible que las condiciones predominantes en el invernadero, favorecidas por la ubicación geográfica del mismo, provocaran esa respuesta en una variedad proveniente de otras condiciones climáticas, como las que existen en Oaxaca. Otro factor que pudo haber favorecido esa respuesta fue que no se realizó poda alguna. Debido a la gran heterogeneidad

en las características agromorfológicas evaluadas, no se estimaron los indicadores correspondientes para *P. ixocarpa*.

## **6.2 Comparación de las concentraciones de fenoles totales y propiedades antioxidantes de los frutos de *P. angulata* silvestre y cultivada en invernadero**

Los contenidos de fenoles totales y las estimaciones de las propiedades antioxidantes de los frutos de plantas silvestres y cultivadas en invernadero de *P. angulata* se presentan en la Tabla 8. Las condiciones de invernadero redujeron las propiedades antioxidantes de los frutos de plantas de *P. angulata*. La actividad anti-radical (el análisis de DPPH) fue 1.83 veces más alta en los frutos silvestres que en los obtenidos en invernadero. Sin embargo, cualquiera de esas actividades fue más alta que la reportada por Kalin *et al.* (2015) para los frutos del arándano rojo (*Vaccinium macrocarpon*) ( $EC_{50} = 86.63 \mu\text{g/mL}$ ).

Los valores de TAC de los frutos silvestres de *P. angulata* fueron 1.32 veces más altos que los correspondientes a los cultivados (Tabla 8). Sin embargo, ambos, los valores de TAC (de los frutos silvestres y de los cultivados en invernadero) fueron más altos que los de los estándares utilizados en el presente estudio, la quercetina y la epicatequina, los cuales han sido reportados como potentes antioxidantes (Jiménez-Aliaga *et al.* 2011; Meng *et al.* 2015).

El poder reductor de fierro fue significativamente diferente entre los frutos silvestres y cultivados de *P. angulata* (Tabla 8). El RP de los frutos silvestres fue 1.39 veces más alto que el de los cultivados en invernadero, pero cualquiera de los dos tuvieron poder reductor más alto que el estándar quercetina, evaluado en el presente estudio, y que la rutina ( $A_{700\text{nm}} = 0.500$ ), la cual también es considerada como un importante antioxidante (Lue *et al.* 2010).

Tabla 8. Fenoles totales, actividad bloqueadora de radicales libres ( $EC_{50}$ ), capacidad antioxidante total (TAC), y poder reductor de fierro (PR) de los frutos de plantas silvestres y cultivadas en invernadero de *P. angulata*.

<i>Physalis</i> <i>angulata</i> referencias	Fenoles totales (mg EGA/g PS)	EC <sub>50</sub> (µg/mL)	CAT (mg EAA/mL)	PR (A <sub>700nm</sub> )
Silvestre	17.02 ± 0.88 <sup>b</sup>	30.18±1.55 <sup>c</sup>	0.77±0.05 <sup>c</sup>	3.46±0.33 <sup>c</sup>
Cultivada en invernadero	8.61 ± 0.56 <sup>a</sup>	55.29±2.19 <sup>d</sup>	0.58±0.02 <sup>b</sup>	2.48±0.22 <sup>b</sup>
Quercetina	-	5.29±0.39 <sup>a</sup>	0.08±2.00E <sup>-3a</sup>	0.78±4.00E <sup>-3a</sup>
Epicatequina	-	14.33±0.29 <sup>b</sup>	0.11±5.00E <sup>-3a</sup>	No evaluado

Los valores representan la media y desviación estándar de tres muestras independientes.

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

EGA: equivalentes de ácido gálico, PS: peso de extracto seco, EAA: equivalentes de ácido ascórbico.

### 6.3 Efecto de la permanencia del cáliz en el contenido de compuestos fenólicos totales y las propiedades antioxidantes de los frutos de *P. angulata* cultivados en invernadero

Las propiedades antioxidantes de los frutos de *P. angulata* y *P. ixocarpa*, conservando o no el cáliz, en diferentes estados de su desarrollo se presentan en las Tablas 9 y 10. Debido a la heterogeneidad en los caracteres agromorfológicos comentada previamente, para *P. angulata* se analizaron los frutos maduros y posmaduros almacenados con y sin cáliz, y para *P. ixocarpa* se analizaron los frutos en tres etapas de desarrollo en función del tamaño del fruto y del tiempo de maduración.

Tabla 9. Efecto del cáliz sobre la concentración de fenoles totales, actividad bloqueadora de radicales libres (EC<sub>50</sub>), y capacidad antioxidante total de los frutos de *P. angulata* cultivada en invernadero, en diferentes etapas de maduración.

Condición del fruto	EC <sub>50</sub> (mg/mL)	CAT (µg EAA/mL)	Fenoles Totales (mg EGA/g PF)
Maduro sin cáliz	0.75 ± 0.06 <sup>d</sup>	123.2 ± 6.7 <sup>b</sup>	0.336 ± 0.06 <sup>d</sup>
Maduro con cáliz	0.59 ± 0.03 <sup>c</sup>	146.2 ± 8.6 <sup>a</sup>	1.440 ± 0.08 <sup>a</sup>

Posmaduro sin cáliz	0.82 ± 0.04 <sup>a</sup>	82.2 ± 8.7 <sup>c</sup>	0.583 ± 0.03 <sup>c</sup>
Posmaduro con cáliz	0.69 <sup>b</sup> ± 0.05	92.7 <sup>d</sup> ± 6.2	1.010 <sup>b</sup> ± 0.04

Los valores representan la media y desviación estándar de tres muestras independientes. Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). EGA: equivalentes de ácido gálico, PF: peso fresco, EAA: equivalentes de ácido ascórbico.

De los resultados de la Tabla 9 se observa que la conservación de los cáliz en los frutos de *P. angulata* tiene un efecto favorable en las propiedades antioxidantes de los mismos. Las propiedades antioxidantes más elevadas las presentaron los frutos maduros con cáliz, mientras que los posmaduro sin cáliz presentaron los niveles más bajos. La conservación del cáliz en los frutos de esta especie también provoca una acumulación más alta de fenoles totales, lo que puede estar determinando las más altas actividades antioxidantes en los mismos. Estos resultados corroboran los reportados previamente, que proponen que el cáliz es importante a la hora de conservar ciertas propiedades del tomatillo durante su almacenamiento (Balaguer-López *et al.*, 2014). Los resultados obtenidos en el presente estudio pueden ser relevantes para los consumidores y para apreciar al tomatillo como un alimento funcional. Adquirir en los mercados tomatillo con el cáliz adherido garantiza mayor contenido de antioxidantes fenólicos naturales.

#### **6.4 Variación del contenido de fenoles totales y de las propiedades antioxidantes durante el desarrollo del fruto de *P. ixocarpa* cultivado en invernadero**

El contenido de fenoles totales y las propiedades antioxidantes de los frutos con diferente estado de madurez de *P. ixocarpa* cultivados en invernadero se presentan en la Tabla 10. En esa Tabla se observa que existe una tendencia inversa (sin ser completamente clara la relación) entre la concentración de los fenoles totales, la cual tiende a disminuir conforme madura el fruto, y las propiedades antioxidantes de los mismos, las cuales aumentan conforme éstos maduran. Este comportamiento fue diferente al observado para *P. angulata* (Tabla 9). Los resultados de la Tabla 10 sugieren que en el fruto de *P. ixocarpa* la participación de otros metabolitos secundarios en determinar las propiedades antioxidantes podría incrementarse con la maduración. Entre otros antioxidantes

que pudieran encontrarse en los frutos de *P. ixocarpa* se encuentra la vitamina C (ácido ascórbico), la cual se ha reportado para *P. peruviana* (Ramadan, 2011). El comportamiento de la variación de las concentraciones de de compuestos fenólicos totales, asociada a la madurez, encontrados en el presente estudio para los frutos de *P. ixocarpa* fue parecido al reportado en los frutos del níspero (*Eriobotrya japonica* Lindl.) por Ding *et al.* (2001), para los que esos autores observaron una concentración fenólica elevada en frutos inmaduros, su posterior disminución con el progreso de la maduración, y un ligero repunte en la fase final de desarrollo.

Tabla 10. Concentración de fenoles totales, actividad bloqueadora de radicales libres (EC<sub>50</sub>), y capacidad antioxidante total de los frutos de *P. ixocarpa* cultivada en invernadero, en diferentes etapas de maduración.

Condición del fruto	EC <sub>50</sub> (mg/mL)	CAT (µg EAA/mL)	Fenoles totales (mg EGA/g PF)
Fruto pequeño (<20 días)	0.62 <sup>a</sup> ± 0.01	113.8 <sup>c</sup> ± 18.1	4.66 <sup>a</sup> ± 0.49
Fruto mediano (20 días-60 días)	0.49 <sup>b</sup> ± 0.03	147.4 <sup>b</sup> ± 10.5	2.119 <sup>b</sup> ± 0.49
Fruto maduro (>60 días)	0.39 <sup>c</sup> ± 0.02	179.1 <sup>a</sup> ± 9.3	2.933 <sup>b</sup> ± 0.16

Los valores representan la media y desviación estándar de tres muestras independientes.

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (p < 0.05).

EGA: equivalentes de ácido gálico, PF: peso fresco, EAA: equivalentes de ácido ascórbico.

## 6.5 Composición fenólica

### *Physalis ixocarpa*

Los perfiles fenólicos, obtenidos por HPLC-DAD, de las diferentes estructuras a diferentes estados de desarrollo de *Physalis ixocarpa* se muestran en las Figuras 6 a 12 y los de *P. angulata* se muestran de la Figuras 13 a 19. En las Tablas 1A y 2A (Anexo 1) se presentan los respectivos tiempos de retención y λ<sub>max</sub>. Un total de 85 compuestos fenólicos diferentes se encontró para *P. ixocarpa*. El total de compuestos fenólicos diferentes encontrado para *P. angulata* fue considerablemente menor, de 25. De las Tablas 1A y 2A del Anexo 1 se observa

que las diferentes estructuras de *P. ixocarpa* acumularon compuestos fenólicos que fueron únicos a cada una de ellas, mientras 8 compuestos (1 a 8) de *P. angulata* se acumularon en más de una estructura, por ejemplo el compuesto 6 estuvo presente en hoja, tallo, raíz, flor, y cáliz.

De los 85 diferentes compuestos fenólicos encontrados en *P. ixocarpa*, 4 se encontraron en raíz, 11 en intertallo, 17 en tallo, 21 en hoja, 20 en flor, 7 en fruto, y 5 en cáliz. Esto indica que la mayor diversidad fenólica de esta especie se encuentra en las hojas y las flores.

De los 85 diferentes compuestos fenólicos encontrados en *P. ixocarpa*, 43 fueron ácidos fenólicos. Éstos estuvieron distribuidos como sigue: 3 en raíz, 7 en intertallo, 9 en tallo, 8 en hoja, 10 en flor, 3 en fruto, y 3 en cáliz. Veinticuatro compuestos fueron quercetina-3-O-glicósidos, distribuidos como sigue: 1 en raíz, 2 en intertallo, 5 en tallo, 7 en hoja, 5 en flor, 2 en fruto, y 2 en cáliz. Derivados 3,7-di-O-glicósidos de quercetina se encontraron solo 4 en esta especie, estos derivados se distribuyeron en 2 en tallo, 1 en hoja, y 1 en flor. También cuatro fueron los canferol-3-O-glicósidos encontrados, 3 en hoja y 1 en flor. Solamente dos canferol-3,7-di-O-glicósidos fueron encontrados, los 2 en hoja. De dihidroflavonoides se encontraron ocho, 2 en intertallo, 1 en tallo, 3 en flor, y 2 en fruto. De los resultados anteriores se puede resaltar que el intertallo y las flores son las estructuras que acumulan más ácidos fenólicos; que las hojas, tallos y flores son las que acumulan más quercetina-3-O-glicósidos; y que esos son los principales compuestos fenólicos encontrados en *P. ixocarpa*.

Para *P. angulata* la distribución de los compuestos fenólicos fue diferente. La raíz acumuló 2 compuestos, el intertallo 1, el tallo 10, la hoja 12, la flor 5, el fruto 2, y el cáliz 6. En esta especie la mayor diversidad fenólica se encuentra en la hoja y el tallo.

Diecinueve de los 25 compuestos encontrados en *P. angulata* fueron ácidos fenólicos, distribuidos como sigue: 6 en hoja, 4 en tallo, 1 en raíz, 1 en intertallo, 2 en flor, 2 en fruto, y 3 en cáliz. Un solo derivado 3-O-glicósido de quercetina se encontró para esta especie y se acumuló en hoja, tallo, raíz, flor y cáliz. También un solo derivado 3,7-di-O-glicósido de quercetina fue encontrado, y fue acumulado en hoja y tallo. Dos canferol-3-O-glicósidos se encontraron, 7 y 8, y

se acumularon en hoja y tallo, y en hoja, tallo, flor, y cáliz, respectivamente. En *P. angulata* no se encontraron dihidroflavonoides (Tabla 2A).

La diferencia específica en composición fenólica entre *P. ixocarpa* y *P. angula* se puede apreciar claramente a partir de los presentes resultados (Tablas 1A y 2A del Anexo 1), los cuales apoyan la propuesta de la tendencia especie-específica de los perfiles fenólicos de las especies de plantas hecha por varios autores (Veit *et al.*, 1995; Medina-Medrano *et al.*, 2015).

A partir de las Tablas 1A y 2A (Anexo 1) y de las Figuras 6 a 19, también se pueden apreciar claras diferencias entre los diferentes tejidos a particulares etapas de desarrollo, por lo que se corrobora para las dos especies de *Physalis* analizadas las condiciones tejido-específica y desarrollo-dependiente, propuestas para otras especies de plantas, como el té verde (*Camellia sinensis* L.) reportadas por Jiang *et al.* (2013). Las diferencias entre las etapas de desarrollo de ambas especies se aprecian en mayor medida en términos cuantitativos, como lo indican las áreas bajo la curva de cada pico de los cromatogramas de las Figuras 6 a 19.

La raíz de *P. ixocarpa* fue el tejido que presentó el perfil de compuestos fenólicos más sencillo (Figura 6), además esta estructura tuvo bajas concentraciones de los compuestos presentes. En la etapa 1 se encontraron únicamente 2 compuestos (**1RI** y **3RI**), ambos derivados de ácidos fenólicos, mientras que en la etapa 2 se encontraron 4 compuestos (**1RI**, **2RI**, **3RI**, **4RI**), siendo **2RI** una quercetina-3-O-glicósido y **4RI** un ácido adicional, no presente en la etapa 1. Para las etapas 3 y 4 no se encontraron compuestos fenólicos en la raíz de esta especie, es posible que esto se debiera al transporte de esos compuestos a otras partes de la planta o una reducción de su síntesis asociada a su catabolismo. Su presencia en las primeras dos etapas de desarrollo pudiera deberse al papel que tiene algunos polifenoles en el desarrollo radicular (Taylor y Grotewold, 2005). Hasta donde fue posible investigar para la realización del presente estudio, no se han reportado funciones alelopáticas en *Physalis*, por lo que la presencia de diferentes ácidos fenólicos podrían tener actividad de defensa o comunicación química con diferentes organismos presentes en la rizosfera, ya que esas funciones han sido reportadas para esos compuestos (Blum, 1996). La raíz presentó algunos compuestos que con las herramientas

analíticas disponibles no se pudieron catalogar como compuestos fenólicos. Sin embargo algunos de estos compuestos fueron predominantes en el perfil fenólico (Figura 6).

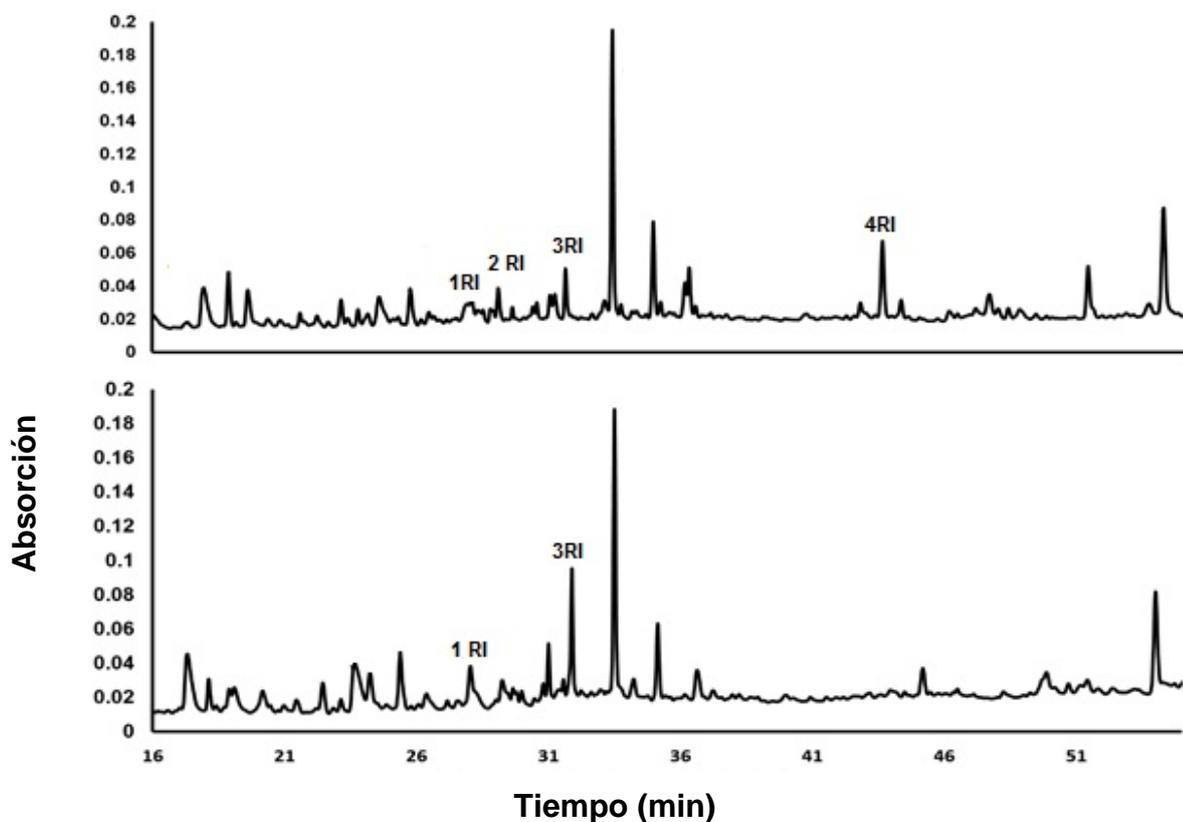


Figura 6. Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de la raíz de *P. ixocarpa* en las etapas de desarrollo 1 (abajo) y 2 (arriba). El número de los compuestos corresponde a los de la Tabla 1A.

El intertallo, al ser un tejido en transición ubicado entre la raíz y el tallo no del todo diferenciado, difirió del comportamiento de las estructuras que lo flanquean. Esta estructura presentó 6 compuestos en la etapa 1 (**1II**, **2II**, **4II**, **5II**, **6II** y **9II**), 2 en la etapa 2 (**7II** y **11II**), ninguno en la etapa 3, y 4 en la última etapa de desarrollo (**3II**, **8II**, **10II** y **11II**) (Figura 7). Al igual que en raíz, el intertallo presentó compuestos no identificados que fueron mayoritarios, sus concentraciones fueron mayores en este tejido que en raíz (Figura 6).

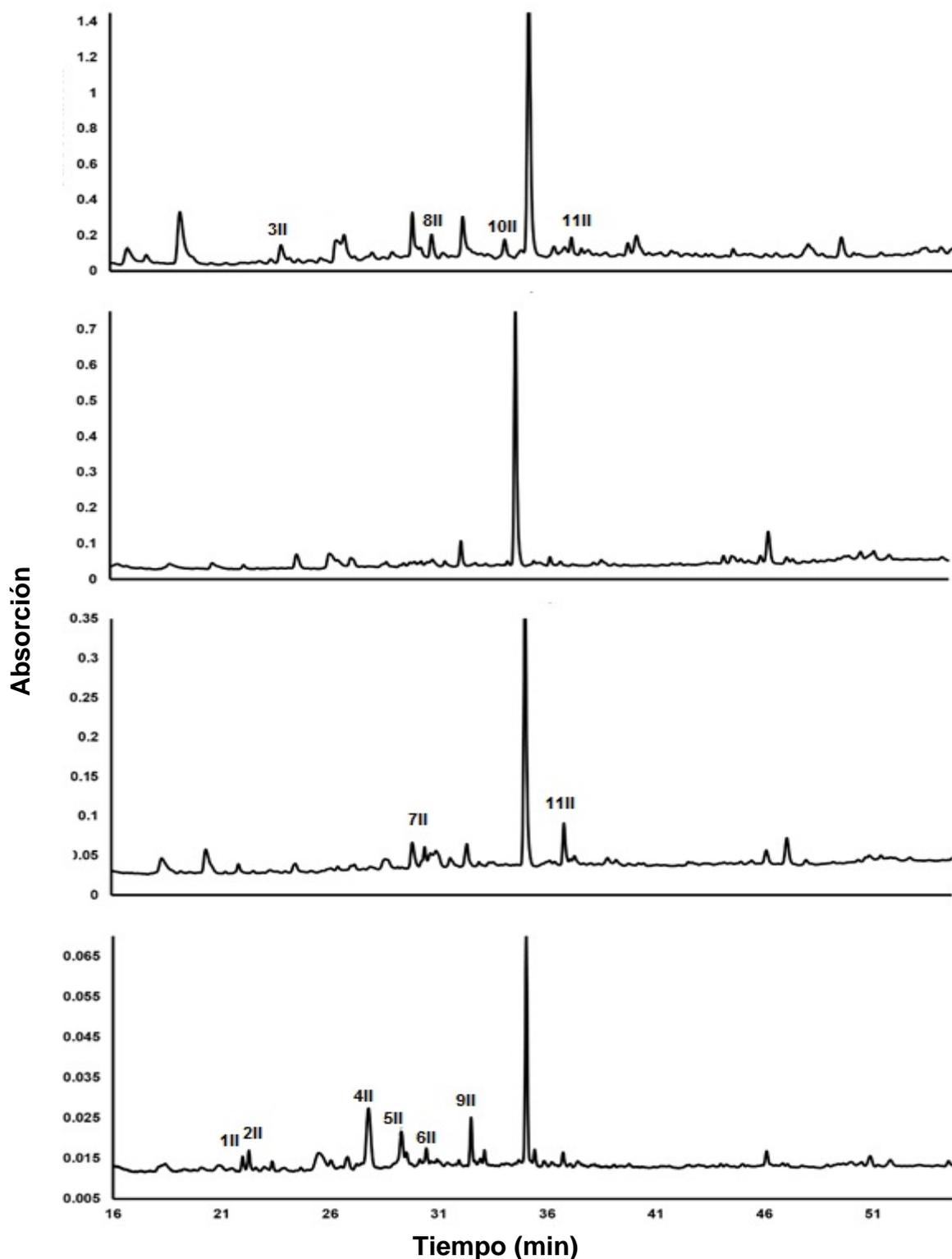


Figura 7. Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto del intertallo de *P. ixocarpa* en cuatro etapas de desarrollo: de abajo hacia arriba, etapa 1, etapa 2, etapa 3, y etapa 4. El número de los compuestos corresponde a los de la Tabla 1A.

En la flor de *P. ixocarpa* se encontró el segundo perfil fenólico más complejo, detectándose entre 10 y 20 compuestos fenólicos, dependiendo de la etapa de desarrollo (Tabla 1A). De los 20 compuestos presentes en las flores en la etapa 2, sólo 10 de ellos se encontraron en la etapa 3, cuando el polen ya se ha dispersado y comienza la fructificación (Figura 8). Al analizarse la flor completa, incluyendo el pedúnculo, cáliz y polen, el paso de etapa 2 a 3 puede verse afectado, entre otras cosas, porque el polen ya había sido dispersado en la etapa 3, y/o por una recuperación o movilización de los compuestos fenólicos a otras estructuras de la planta, como han sugerido algunos autores que ocurre en otras especies de plantas (Del baño *et al.*, 2003). El perfil fenólico de flor de *P. ixocarpa* fue más complejo que los reportados para las flores de *Cytisus multiflorus* (Barros *et al.*, 2012) y *Lycium barbarum* (Mocan *et al.*, 2015), en las que encontraron 10 compuestos fenólicos en cada una. Fue también más complejo que el reportado por Im *et al.* (2008) para la flor de la papa (*Solanum tuberosum*), la cual es otra especie de Solanaceae. El número de compuestos fenólicos de la flor de *P. ixocarpa* fue similar al encontrado por Barros *et al.* (2012) para *Crateagus monogyna*, especie utilizada en la medicina tradicional de Portugal. La amplia variedad de compuestos fenólicos encontrados en las flores de *P. ixocarpa* merecen estudios más profundos para obtener más información estructural e información sobre sus propiedades biológicas, ya que la gran cantidad de flores producidas (más de 450 por planta en algunos casos, aunque su tamaño es pequeño, mayor a 2 cm), permitiría contar con suficiente material para su aprovechamiento.

En las flores de *P. ixocarpa* el 50% estuvo representado por ácidos fenólicos. Seis compuestos fueron quercetina-3-O-glicósidos, tres fueron dihidroflavonoides, y uno fue quercetina-3,7-di-O-glicósido.

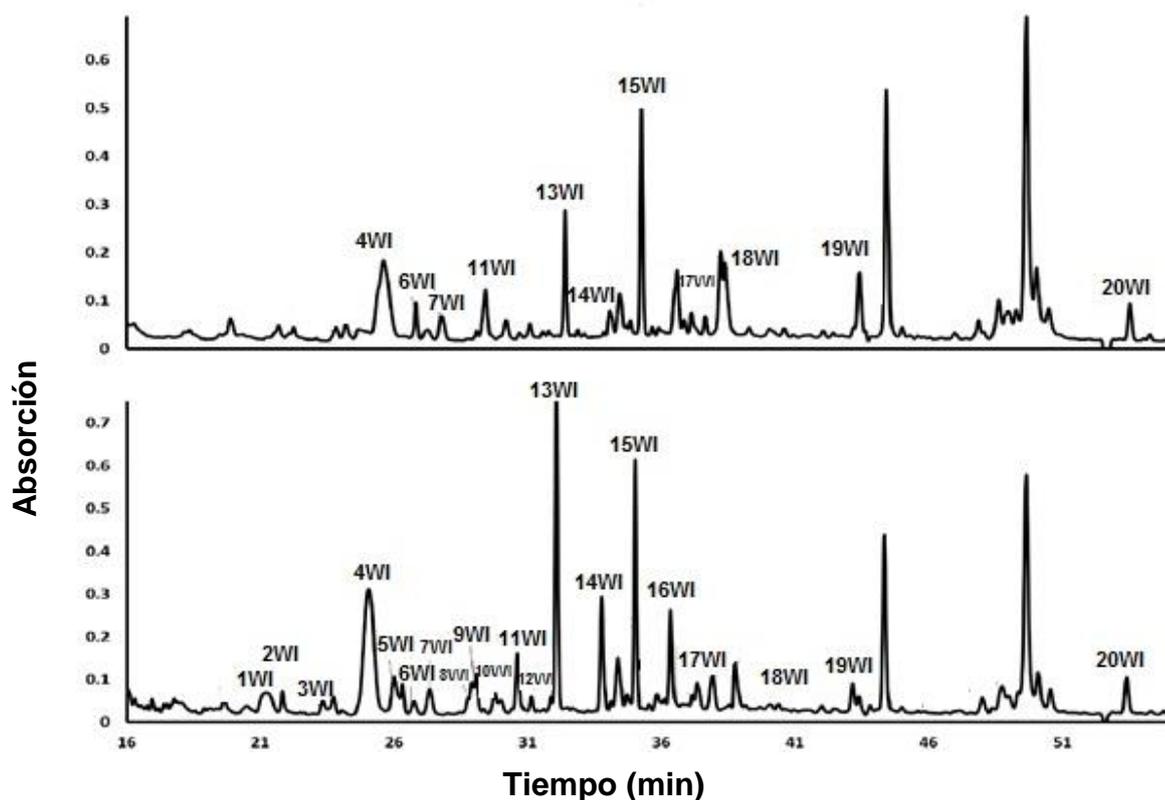


Figura 8. Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de flores de *P. ixocarpa* en dos etapas de desarrollo: etapa 2 (abajo) y etapa 3 (arriba). El número de los compuestos corresponde a los de la Tabla 1A.

El perfil del tejido foliar de *P. ixocarpa* presentó una alta diversidad de compuestos, variando entre 7 y 21 compuestos fenólicos de acuerdo a la etapa de desarrollo (Figura 9). Las hojas son un tejido que habitualmente acumula gran cantidad de compuestos fenólicos (Otlés y Yalcin, 2012), debido en parte a la capacidad de estos compuestos de amortiguar radicales libres derivados de la fotosíntesis. Para varias especies de gimnospermas y angiospermas, se ha reportado que los perfiles fenólicos de las hojas muestran una tendencia especie-específica (Almaraz-Abarca *et al.*, 2006; Almaraz-Abarca *et al.*, 2013). Para varias especies de *Physalis* esa tendencia también se ha reportado (Medina-Medrano *et al.*, 2015). La variación encontrada en el presente estudio en los perfiles fenólicos foliares de *P. ixocarpa* (y como se verá más adelante, en los de *P. angulata*), se debe a que cada patrón de expresión de esos compuestos está determinado por la etapa de desarrollo. Los perfiles fenólicos foliares de cada

una de las cuatro etapas de desarrollo analizadas de *P. ixocarpa*, fueron semejantes, salvo en la última etapa de desarrollo, cuando la planta estaba cercana a la senescencia, en la que el número de compuestos fenólicos disminuyó notablemente, sugiriendo una disminución de síntesis o transporte de los compuestos a otras estructuras de la planta (Figura 9). Los ácidos fenólicos (8 compuestos) y las quercetina-3-O-glicósidos (7 compuestos) fueron los dominantes en las hojas de *P. ixocarpa*.

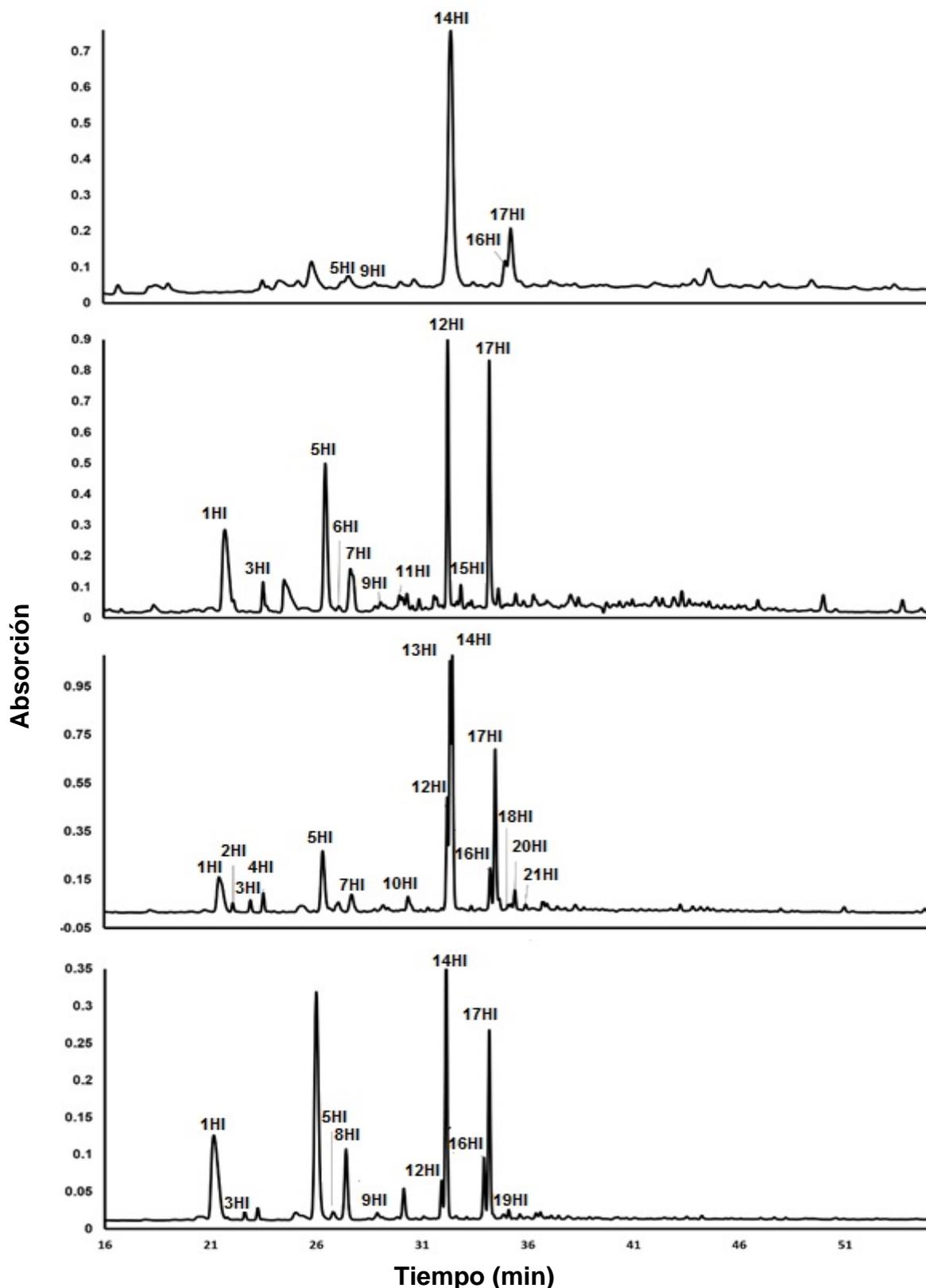


Figura 9. Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto foliar de *P. ixocarpa* en cuatro etapas de desarrollo: de abajo hacia arriba, etapa 1, etapa 2, etapa 3, y etapa 4. El número de los compuestos corresponde a los de la Tabla 1A.

En la Figura 10 se muestra el perfil fenólico del tallo de *P. ixocarpa*. Desde el punto de vista cualitativo, esta estructura fue la menos variable. En ella se encontraron hasta 17 diferentes compuestos fenólicos (Tabla 1A). Los ácidos fenólicos fueron los compuestos más numerosos (9), pero los derivados 3,7-di-O-glicósidos de quercetina (**12TI** y **13TI**) fueron los que se encontraron a las mayores concentraciones. Cabe destacar la alta variación cuantitativa de algunos de los compuestos descritos, como **12TI**, el cual disminuye su concentración en alrededor de un 50% de la etapa 2 a la 3. El tallo es un elemento de sostén y transporte, lo que puede explicar las variaciones en la composición fenólica sufridas en las diferentes etapas del desarrollo. La diferencia cualitativa más notable con el perfil fenólico de la hoja fue que en tallo no se encontraron derivados del canferol, mientras que en hoja se encontraron seis derivados de ese flavonol.

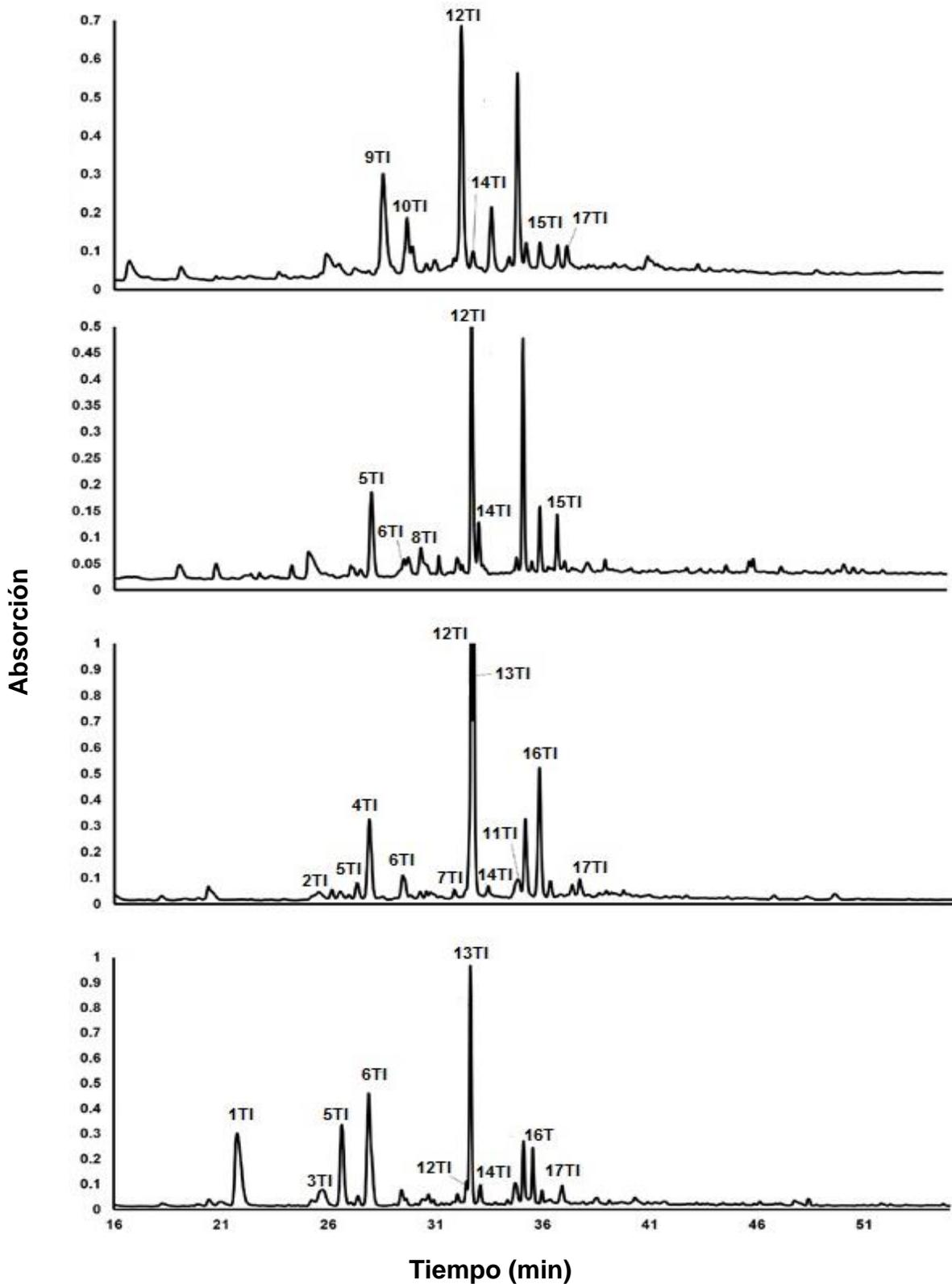


Figura 10. Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de tallo de *P. ixocarpa* en cuatro etapas de desarrollo: de abajo hacia arriba, etapa 1, etapa 2, etapa 3, y etapa 4. El número de los compuestos corresponde a los de la Tabla 1A.

En el fruto de *P. ixocarpa* se encontraron 3 compuestos fenólicos en el estado inmaduro (etapa 3) y 5 compuestos en los frutos maduros (etapa 4) (Figura 11). Tres fueron ácidos fenólicos, dos fueron dihidroflavonoides, y dos quercetina-3-O-glicósidos, estos dos últimos se encontraron en los frutos maduros. Solamente **4FI** fue común a ambas etapas de desarrollo. La baja concentración en la que esos compuestos están presentes en el fruto se puede apreciar en los cromatogramas de la Figura 11. Glicósidos de quercetina también fueron reportados por Drost-Karvowska *et al.* (1993) para el fruto maduro de *P. ixocarpa*. Medina-Medrano *et al.* (2015) encontró también derivados de ese flavonol en los frutos maduros de otras especies del *Physalis*.

En el presente trabajo se encontró un número bajo de compuestos fenólicos en el fruto de *P. ixocarpa* en comparación a lo reportado para otros frutos, como en fresa (*Fragaria x ananassa*), en la que se encontraron 35 compuestos fenólicos (Aaby *et al.*, 2007), pero se encontró un número similar (entre 4 y 7) a lo encontrado por Medina-Medrano *et al.* (2015) para los frutos de diferentes especies de *Physalis*.

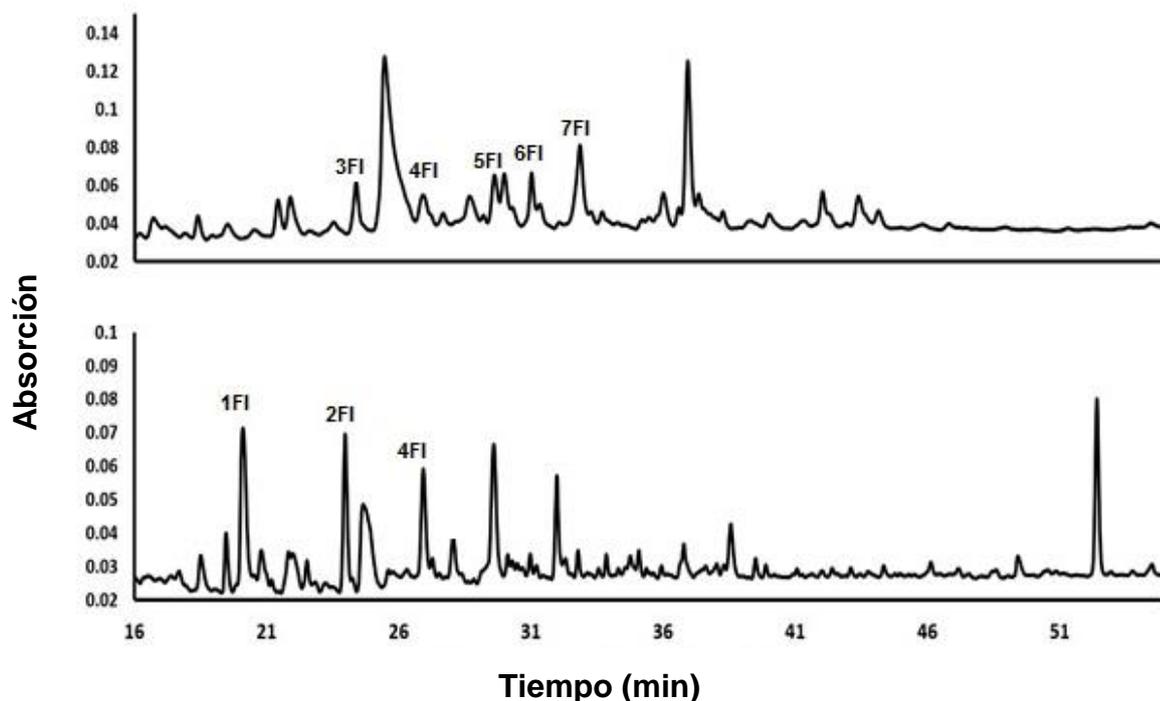


Figura 11. Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de frutos de *P. ixocarpa* en dos etapas de desarrollo: etapa 3 (abajo), etapa 2 (arriba). El número de los compuestos corresponde a los de la Tabla 1A.

En el cáliz de *P. ixocarpa* (Figura 12) los ácidos fenólicos son los únicos compuestos fenólicos encontrados en la etapa de inmadurez, siendo éstos prácticamente sustituidos por derivados 3-O-glicósidos de quercetina hacia la maduración del fruto, al cual permanece adherido. En las especies de *Physalis*, el cáliz crece para cubrir completamente el fruto, y protegerlo de frugívoros (Do Nascimento y Fett-Netto, 2010). Funciones de protección contra herbívoros se han reportado para los compuestos fenólicos (Santiago *et al.*, 2008). Medina-Medrano *et al.* (2015) reportaron entre dos y cuatro compuestos fenólicos para el cáliz maduro de diferentes especies de *Physalis* (*P. angulata*, *P. hederifolia* var. *hederifolia*, *P. solanacea*, *P. patula*, y *P. subulata*) números cercanos al encontrado en el presente estudio para el cáliz maduro (5 compuestos) de *P. ixocarpa*.

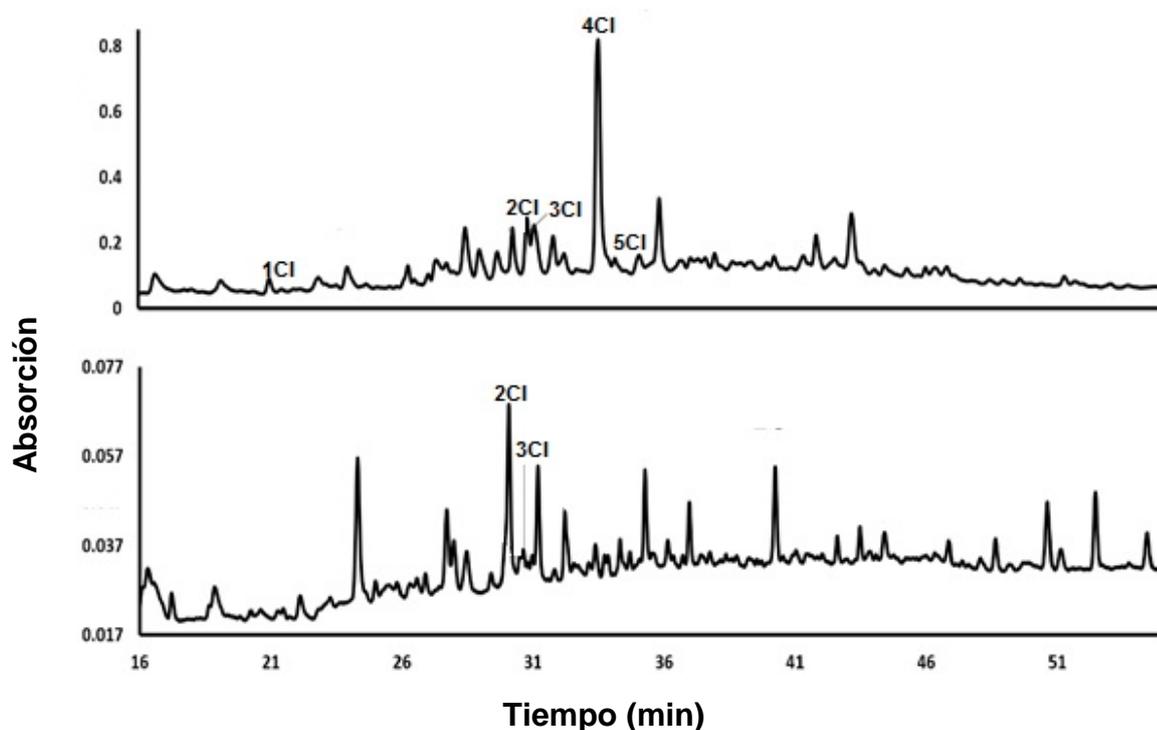


Figura 12. Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de cáliz de *P. ixocarpa* en dos etapas de desarrollo: etapa 3 (abajo), etapa 4 (arriba). El número de los compuestos corresponde a los de la Tabla 1A.

Las variaciones cualitativas encontradas en el presente estudio para *P. ixocarpa* fueron tejido dependientes, mientras que las variaciones cuantitativas fueron esencialmente dependientes del estado de desarrollo de la planta. Las

diferencias cualitativas pueden hacer referencia a una capacidad bien diferenciada de síntesis o acumulación de compuestos fenólicos en cada una de las partes estudiadas de la planta (Figuras 6-12). Se encontraron compuestos fenólicos expresados durante todo el ciclo de vida de la planta, como es el caso de **5HI** y **16HI** en hoja. Otros, como **1HI**, **3HI**, **9HI**, **12HI** y **16HI**, aparecen en tres de las cuatro etapas de desarrollo (Figura 9). Esta estabilidad de permanencia sugiere una importancia para esos compuestos fenólicos durante el desarrollo de *P. ixocarpa*. Su permanencia indica también que pueden tener utilidad como marcadores químicos de esa especie.

En tallo de *P. ixocarpa* se encontró algo similar, ya que los compuestos **6TI**, **13TI** y **14TI** aparecen a lo largo de todo el desarrollo y **5TI**, **6TI** y **7TI** se encontraron en las tres primeras etapas de desarrollo. Los perfiles fenólicos de tallo y hoja fueron más complejos en tres primeras etapas de desarrollo que en la cuarta, esto probablemente debido a que en la última etapa de desarrollo el fruto ya está maduro y la planta comienza a entrar en fase de senescencia y es posible que se dejen de sintetizar compuestos en la planta, con lo que el perfil fenólico se simplifica y bajan las concentraciones de estos compuestos.

Algunos compuestos fenólicos no encontrados en unas etapas, surgen visiblemente en otras o se reducen drásticamente, como son los compuestos **4CI**, **1FI**, **1TI**, **9TI**, **1HI**, **16HI**, **16WI** y **4RI**. Lo anterior, sucede en todos los tejidos y tanto para ácidos fenólicos como para flavonoides. Estos cambios pueden deberse a su metabolización para formar otro compuesto, a la disminución de su síntesis, o su transporte a otra estructura vegetal.

Algunos compuestos como **2RI**, **4RI**, **7II**, **2TI**, **11T**, **14T** y otros más, fueron encontrados solamente en la floración (etapa 2). Su presencia en esa etapa podría asociarse a funciones protectoras contra herbívoros y patógenos, para permitir el desarrollo posterior de las semillas que garanticen la perpetuidad de la población. En la floración, la hoja y la flor mostraron mayor variedad de compuestos fenólicos, el hecho de que la planta gaste energía para sintetizar estos compuestos en una etapa fundamental, indica que su participación en esta etapa es importante, no solo para la defensa sino también para la producción de polen viable y fértil (Yistra *et al.*, 1992).

Los compuestos que solo se encuentran en la etapa 1, como 6 de los 11 encontrados en el intertallo, 9 de los 17 presentes en el tallo, y 11 de los 21 presentes en la hoja (Tabla 1A) también podrían tener una función de defensa para las plántulas que inician su desarrollo vegetativo, cuando éstas se encuentra más vulnerables. Hay compuestos que únicamente se encuentra en la etapa 4, cuando el fruto logró su madurez y está listo para dispersar las semillas, por lo que está aparición repentina pudiera deberse a la capacidad de los compuestos fenólicos para atraer dispersores de semillas (Do Nascimento y Fett-Netto, 2010).

En el presente estudio se encontró un gran número de derivados glicósidos de quercetina. Estos compuestos, según Rugna *et al.* (2005), podrían ser considerados como marcadores quimiotaxonómicos en algunas especies, por lo que habría que analizar esta posibilidad para las especies de *Physalis*.

#### *Physalis angulata*

Los análisis de HPLC-DAD revelaron un total of 21 compuestos fenólicos en las diferentes estructuras de las plantas de *P. angulata*: 15 ácidos fenólicos, 2 quercetina-3-O-glicósidos, 2 canferol-3-O-glicósidos, y 2 canferol-3,7-di-O-glicósioes. La Tabla 2A muestra los tiempos de retención y datos espectrales de cada compuesto. El tiempo de retención y datos espectrales del compuesto **1** (RT: 27.948 min;  $\lambda_{\max}$ : 243sh, 296sh, 326), encontrado en hoja y cáliz, y del compuesto **1R** (RT: 37.565 min;  $\lambda_{\max}$ : 294sh, 308), encontrado en raíz, correspondieron a los de los compuestos de referencia ácido clorogénico (RT: 27.76 min;  $\lambda_{\max}$ : 243sh, 296sh, 326) y ácido *p*-cumárico (RT: 37.2 min;  $\lambda_{\max}$ : 294sh, 308), por lo que **1** y **1R** fueron reconocidos como ácido clorogénico y ácido *p*-cumárico, respectivamente.

En la Figura 13 se muestran los perfiles fenólicos del fruto de *P. angulata* en las etapas 3 y 4 de desarrollo. Sólo se encontraron dos ácidos fenólicos, estos resultados están de acuerdo con lo reportado (también dos ácidos fenólicos) por Medina-Medrano *et al.* (2015). En los cromatogramas de la Figura 13 se pueden apreciar compuestos (picos) que se encontraron a concentraciones importantes;

sin embargo, no se pudo obtener información estructural de los mismos. En comparación con *P. ixocarpa*, el perfil fenólico del fruto de *P. angulata* fue más simple, ya que en *P. ixocarpa* se encontraron 6 compuestos (Figura 11).

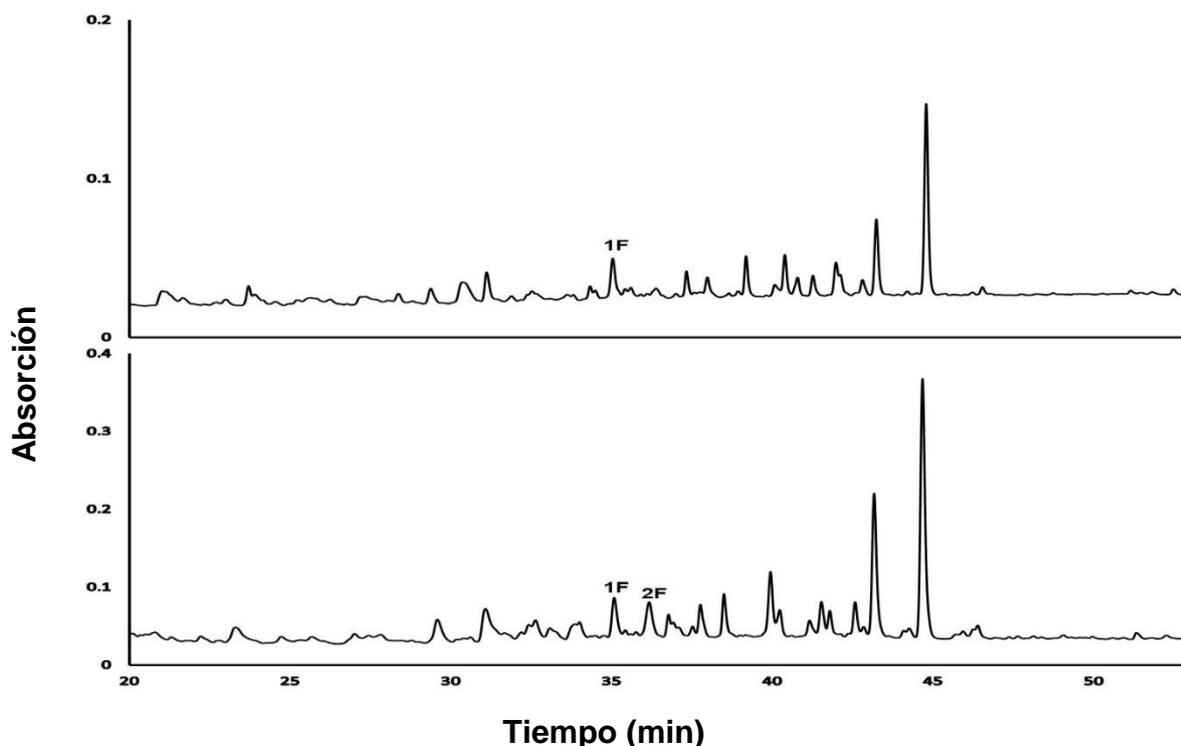


Figura 13. Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de fruto de *P. angulata* en dos etapas de desarrollo: etapa 3 (abajo), etapa 4 (arriba). El número de los compuestos corresponde a los de la Tabla 2A.

En la hoja se encontraron 12 compuestos, de ellos el 50% fueron ácidos fenólicos. Estuvieron presentes 1 quercetina-3,7-di-O-glicósido, 1 quercetina-3-O-glicósido, dos canferol-3,7-di-O-glicósidos, y 2 canferol-3-O-glicósidos. Los perfiles fenólicos de la hoja de *P. angulata* tuvieron pocas variaciones cualitativas durante el desarrollo, los compuestos predominantes se encontraron en prácticamente todas las etapas, como 4, un canferol-3,7-di-O-glicósido (Figura 14). A pesar de que el perfil foliar de *P. angulata* fue menos complejo que el de *P. ixocarpa* (Figura 9), se pudo observar una considerable diversidad de compuestos. Los 5 principales flavonoides (**4**, **5**, **6**, **7**, y **8**) que destacan por su concentración en los cromatogramas de la Figura 14, aparecieron en 3 etapas de desarrollo, solo **6** estuvo ausente en la etapa 3. Si bien hay compuestos que

aparecen de manera exclusiva en una sola etapa, las diferencias encontradas fueron primordialmente cuantitativas.

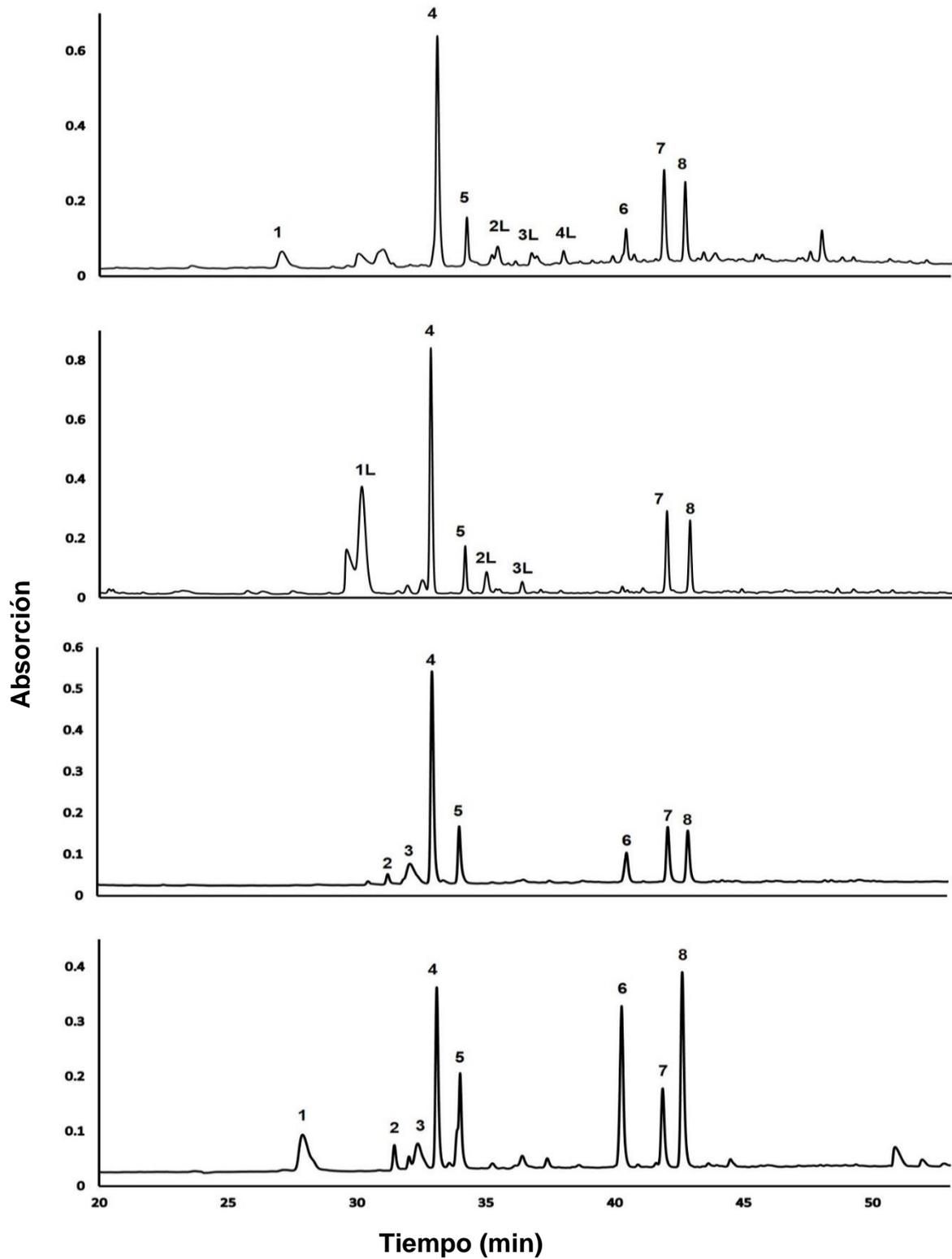


Figura 14. Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de las hojas de *P. angulata* en cuatro etapas de desarrollo: de abajo hacia arriba, etapa 1, etapa 2, etapa 3, y etapa 4. El número de los compuestos corresponde a los de la Tabla 2A.

En la Figura 15 se muestran los perfiles fenólicos del tallo de *P. angulata*. En esta estructura se encontraron 10 compuestos fenólicos, 4 de los cuales fueron ácidos fenólicos, 2 canferol-3,7-di-O-glicósido, 2 canferol-3-O-glicósido, 1 quercetina-3,7-O-di-glicósido, y 1 quercetin-3-O-glicósido. Algunos espectros se muestran en el Anexo 2. Las variaciones encontradas entre los perfiles de las diferentes etapas fueron principalmente cuantitativas. En la Figura 15 se observan algunos compuestos que estuvieron presentes a concentraciones importantes pero de los cuales no fue posible obtener información estructural. Las concentraciones de los compuestos fenólicos en las primeras etapas fueron más altas que en las últimas. Una tendencia similar se observó en el tallo de *P. ixocarpa* (Figura 10).

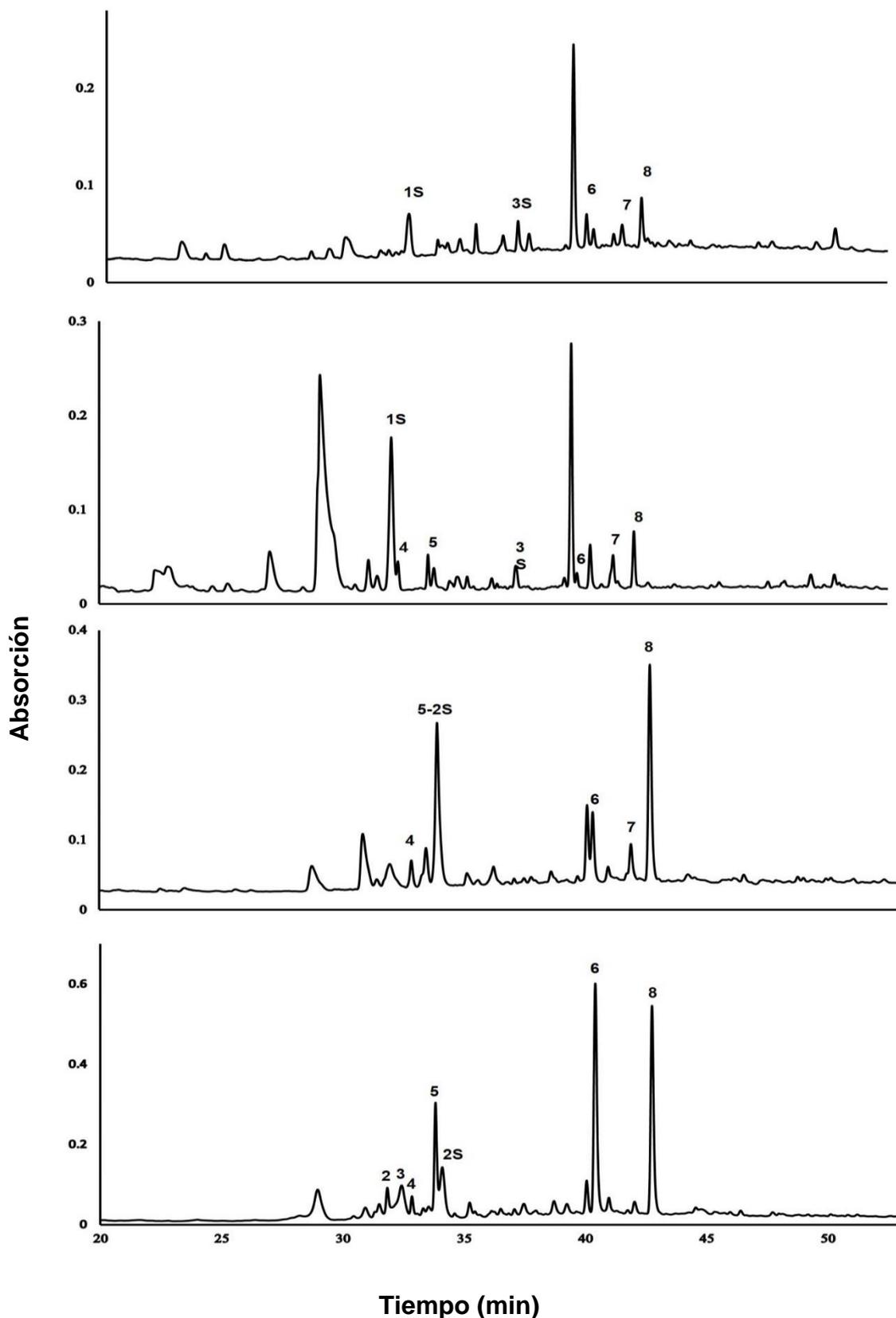


Figura 15. Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de tallo de *P. angulata* en cuatro etapas de desarrollo: de abajo hacia arriba, etapa 1, etapa 2, etapa 3, y etapa 4. El número de los compuestos corresponde a los de la Tabla 2A.

En el cáliz de *P. angulata* se encontraron 6 compuestos fenólicos en total. Cuatro fueron ácidos fenólicos, 1 fue un derivado 3-O-glicósido de quercetina, y 1 fue un derivado 3-O-glicósido de canferol. Fue característica la ausencia de derivados 3,7-di-O-glicósidos, al igual que en cáliz de *P. ixocarpa* (Tabla 1A). El cáliz de *Physalis angulata* crece de una manera rápida hasta alcanzar un tamaño ligeramente superior al del fruto; el fruto apenas está en contacto con el cáliz. En los cromatogramas de la Figura 16 se pueden apreciar las diferencias cualitativas y cuantitativas de la composición del cáliz de esta especie entre la etapa inmadura (etapa 3) y la madura (etapa 4). En la etapa 3 se encontraron 6 compuestos fenólicos diferentes, y en la etapa 4 solo un ácido fenólico. El cáliz maduro de *P. ixocarpa* tuvo un compuesto fenólico más que el de *P. angulata*. Aunque de manera similar, los dos tipos de cáliz tuvieron un perfil claramente diferenciado entre las dos etapas. El hecho de encontrarse un fenómeno similar en ambas especies sugiere un papel importante de los compuestos fenólicos durante el inicio de la fructificación. Medina-Medrano *et al.* (2015) identificaron cuatro compuestos fenólicos para el cáliz de *P. angulata*, dos menos que en el presente trabajo. Esta diferencia podría deberse a las condiciones de crecimiento, esos autores analizaron cálices de plantas crecidas en condiciones naturales y en el presente trabajo se analizaron cálices de plantas crecidas en invernadero. Sin embargo, Medina-Medrano *et al.* (2015) encontraron también una quercetina-3-O-glicósido (**6**) y un canferol-3-O-glicósido (**8**).

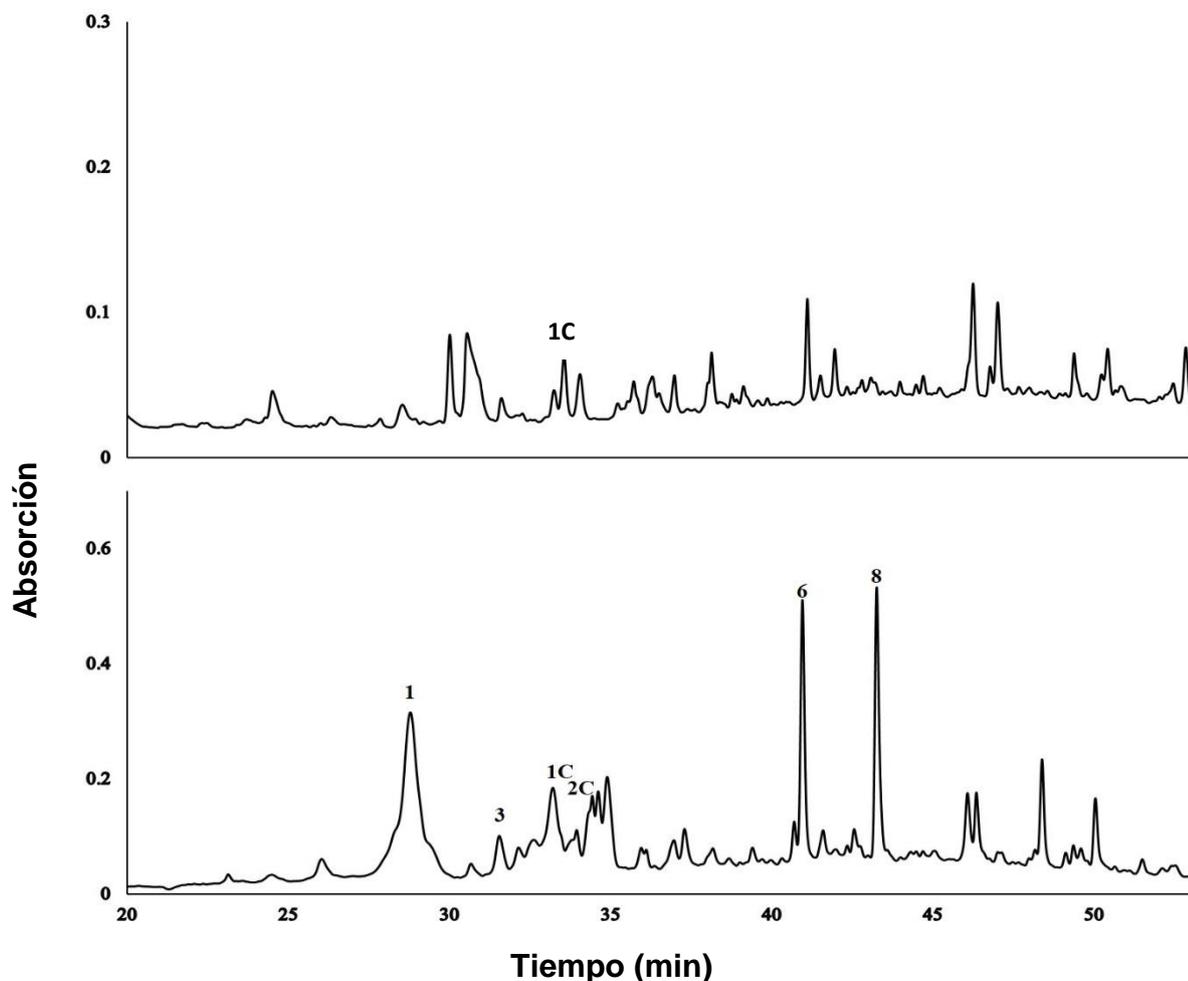


Figura 16. Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de cáliz de *P. angulata* en dos etapas de desarrollo: etapa 3 (abajo), etapa 4 (arriba). El número de los compuestos corresponde a los de la Tabla 2A.

Los perfiles fenólicos de la raíz y el intertallo de *P. angulata* fueron los más sencillos de todas las estructuras estudiadas, con dos (1 ácido fenólico y una quercetina-3-O-glicósido) y un compuestos (1 ácido fenólico) detectados, respectivamente (Figuras 17 y 18). También se encontraron compuestos en concentración importante, de los cuales no fue posible obtener información estructural. El intertallo mostró un perfil fenólico que fue diferente tanto al de la raíz como al del tallo. Situación también encontrada para el intertallo de *P. ixocarpa*.

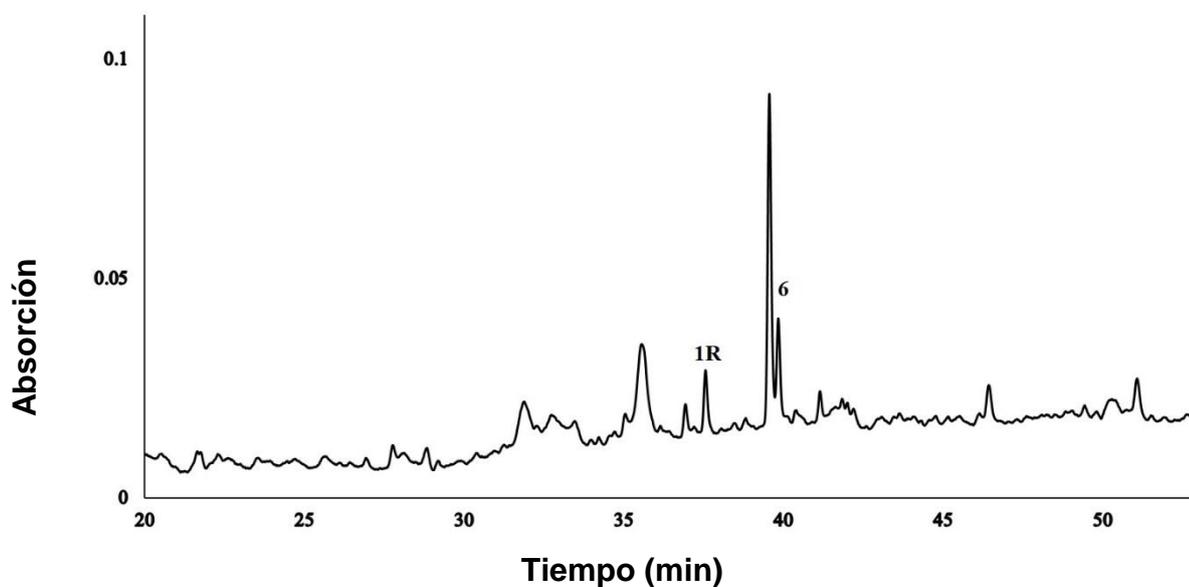


Figura 17. Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de raíz de *P. angulata* en la etapa 2 de desarrollo. El número de los compuestos corresponde a los de la Tabla 2A.

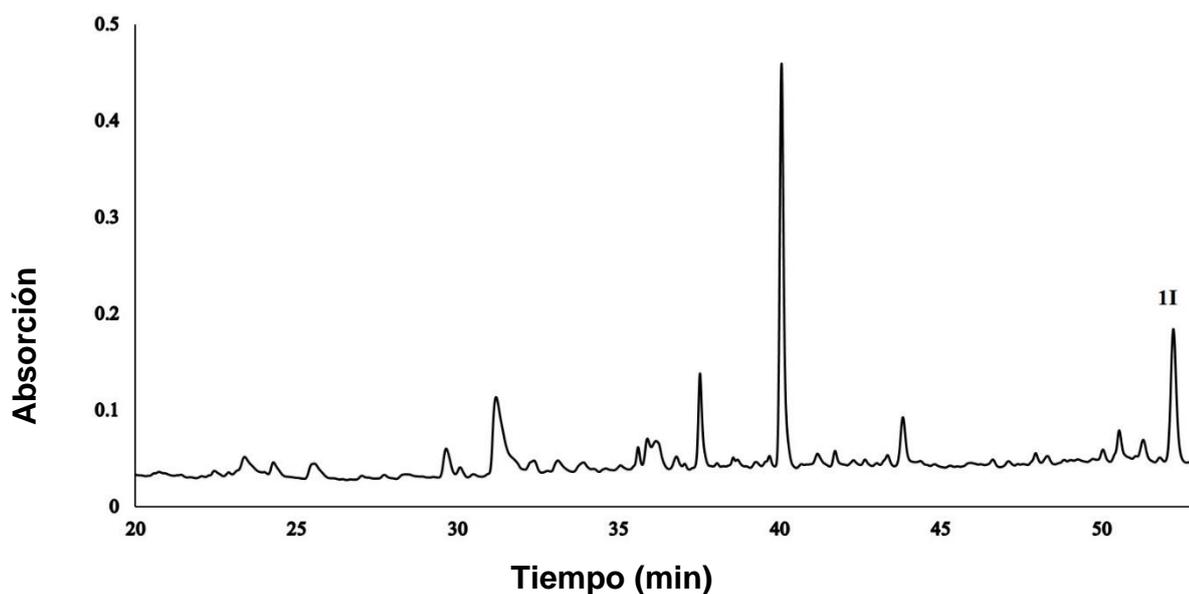


Figura 18. Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto del intertallo de *P. angulata* en la etapa 4 de desarrollo. El número de los compuestos corresponde a los de la Tabla 2A.

La flor de *P. angulata* es de un tamaño significativamente menor que en la de *P. ixocarpa*, y su perfil fenólico fue mucho menos complejo (Figura 19), formado solo por 5 compuestos (2 ácidos fenólicos, 1 quercetina-3-O-glicósido, 1

canferol-3-*O*-glicósido, y 1 canferol-3,7-di-*O*-glicósido). Cuando las flores son inmaduras (etapa 2) se encontraron 3 compuestos fenólicos, mientras que en las flores maduras (etapa 3) se encontraron 5 (Tabla 2A). La complejidad del perfil fenólico floral de *P. angulata* tuvo una tendencia a aumentar, este comportamiento fue inverso al encontrado para las flores de *P. ixocarpa*, para las cuales la complejidad de los perfiles disminuyó con la madurez de las flores (Tabla 1A). La composición fenólica de las flores de *P. angulata* también fue menos variada que la de las flores de otras especies de solanáceas (Im *et al.*, 2008).

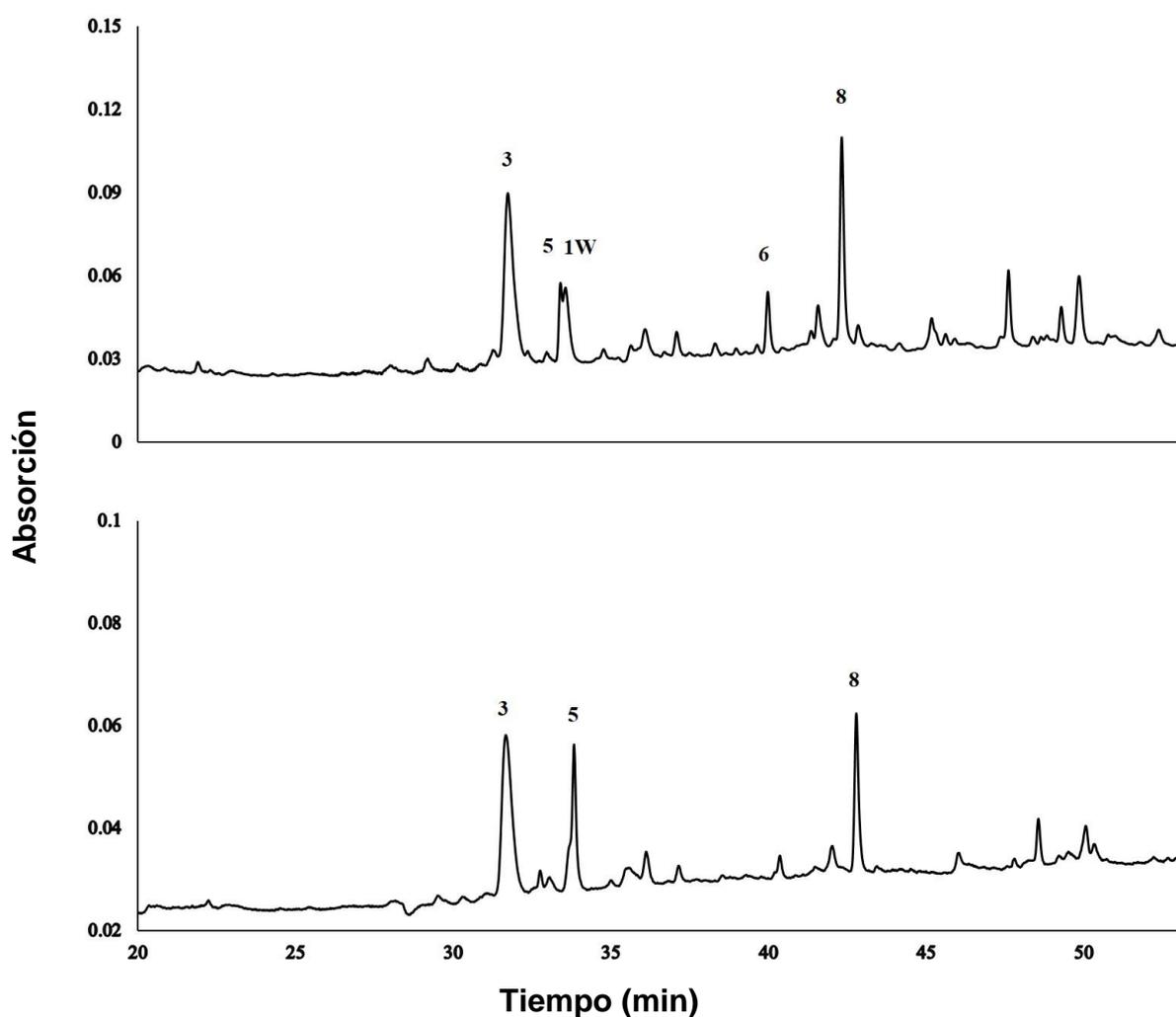


Figura 19. Cromatogramas obtenidos por HPLC del extracto de flores de *P. angulata* en las etapas 2 (abajo) y 3 (arriba) de desarrollo. El número de los compuestos corresponde a los de la Tabla 2A.

Para *P. angulata* también se encontraron variaciones tejido-dependientes y también asociadas a las etapas de desarrollo. Estas diferencias, sutiles en algunos casos, permitieron asociar un perfil fenólico específico a cada estructura vegetal en cada etapa de desarrollo.

También como para *P. ixocarpa*, para *P. angulata* las diferencias cuantitativas (en concentración) entre los diferentes perfiles fenólicos de una misma estructura a diferentes estados de desarrollo fueron las principales, como puede observarse por el área bajo la curva de los cromatogramas de las Figuras 6 a 19.

Ismail y Alam (2001) encontraron en el extracto metanólico del tejido foliar miricetina-3-O-neohesperidósido ( $\lambda_{\text{max}}$ : 266, 299sh, 356), ese compuesto no fue encontrado en las condiciones en las que se llevó a cabo el presente estudio, ya que no hubo coincidencia de los datos espectrales reportados por esos autores con los de ninguno de los compuestos encontrados en el presente estudio (Tabla 2A). Ese derivado de miricetina tampoco fue reportado en la hoja, cáliz o fruto de *P. angulata* por Medina-Medrano *et al.* (2015).

Al contrario del fruto de *P. peruviana* en el cual Licodiedoff *et al.* (2013) reportaron 10 diferentes ácidos fenólicos, además de flavonoles rutina y miricetina, en *P. angulata* sólo se encontraron 2 ácidos fenólicos (**1F** y **2F**) (Tabla 2A). Ese número de compuestos también fue menor al encontrado en el presente estudio para el fruto de *P. ixocarpa*, para el cual se encontraron 5 compuestos (Tabla 1A). Estas diferencias pueden deberse a la característica especie-específica de los perfiles fenólicos reportados por diferentes autores (Almaraz-Abarca *et al.*, 2006).

Las variaciones cuantitativas encontradas para una misma estructura de *P. angulata* a diferente etapa de desarrollo se pueden apreciar en los cromatogramas de las Figuras 13 a 19. En hoja, el compuesto **4**, un canferol-3,7-di-O-glicósido, fue el principal, alcanzando la mayor concentración en la etapa 3 (12.99 mg/g PF), pero, al igual que la mayoría de los otros compuestos, disminuyó en la etapa 4. El compuesto **8** un canferol-3-O-glicósido se encontró a una alta concentración al inicio del desarrollo (10.51 mg/g PF), en la etapa 1, para disminuir en las etapas siguientes. Para este tipo de compuestos, los derivados glicósidos de canferol, se han reportado importantes propiedades antiobesidad y antidiabética (Zang *et al.*, 2015). De acuerdo a los resultados

encontrados, las hojas de *P. angulata* podrían ser una fuente importante de esos compuestos.

En tallo de *P. angulata*, el compuesto **6**, una quercetina-3-O-glicósido, fue el compuesto fenólico encontrado a mayor concentración en la etapa 1, para luego reducir drásticamente su concentración conforme las plantas adquirieron madurez.

Los compuestos **3**, **5**, y **8** fueron los predominantes en la flor de *P. angulata*. Los compuestos **5** y **8** fueron derivados glicósidos de canferol. Se ha reportado que derivados de quercetina y canferol están involucrados en la germinación y el crecimiento del tubo polínico (Mo *et al.*, 1992; Ylstra *et al.*, 1992). No se ha estudiado si estos compuestos pueden tener la misma función en especies de *Physalis*.

Como ya se ha mencionado anteriormente, los cálices de las especies de *Physalis* rodean al fruto, sirviendo de protección frente a ataques de patógenos, depredadores y contra la fotorradiación y los radicales libres liberados por la acción de ésta (Nurmi *et al.*, 1996; Del Baño *et al.*, 2003). Los flavonoles **6** y **8** del cáliz de *P. angulata* se encontraron en altas concentraciones (6.98 y 7.35 mg/g PF); sin embargo, estos compuestos ya no fueron detectados en cálices maduros, cuando éstos rodean completamente al fruto, y tampoco se encontraron flavonoides en el fruto (Tabla 2A). Puede ser posible que debido a al papel protector del cáliz, el fruto no requiera de estos compuestos.

Como ya se mencionó, existen compuestos que se encontraron en varios tejidos de *Physalis angulata*, estos compuestos (**1**, **2**, **3**, **4**, **5**, **6**, **7** y **8**), además se encontraron también en varias fases de desarrollo, llegando a desaparecer en algunos momentos del desarrollo para luego volver a ser detectado, a la vez que disminuye en alguna estructura y aumenta su concentración en otra estructura (Figura 15 y 16). Estos resultados fueron consistentes con lo reportado por Del Baño *et al.* (2003), quienes mostraron una mayor síntesis de compuestos fenólicos en las diferentes estructuras vegetales en las primeras etapas de desarrollo, mientras que el transporte de estos compuestos se daba en las etapas tardías de la planta.

La especificidad cualitativa y cuantitativa de los perfiles fenólicos de diferentes partes de la planta en una etapa de crecimiento refleja patrones individuales de

expresión de genes implicados en la síntesis de los polifenoles (Jiang *et al.*, 2013), sugiriendo que la biosíntesis, degradación, metabolización y transporte de compuestos fenólicos son tejido-dependientes y están reguladas por la edad de la planta.

El análisis de agrupamiento realizado con base en los perfiles fenólicos de cada estructura vegetal a los diferentes estados de desarrollo analizados para *P. angulata* revela claramente las condiciones tejido-específica y edad-específica de los perfiles fenólicos (Figura 20). Esto significa que cada estructura de la planta expresa un perfil fenólico específico en cada etapa de crecimiento y sugiere que los perfiles fenólicos obtenidos mediante HPLC-DAD pueden valiosos marcadores químicos. Estas propiedades permitirían usar a estos compuestos en el control de calidad de alimentos derivados de esta especie de tomatillo, determinando el momento de maduración, no sólo para frutos sino para cualquier estructura de la planta que pudiera aprovecharse como complemento nutracéutico o alimento animal. El análisis de similitud de Jaccard indica una completa similitud en el valor de 1. En el análisis realizado (Figura 20), el máximo valor del índice de similitud de Jaccard fue de 0.87, entre los perfiles fenólicos de hoja en las dos primeras etapas de desarrollo.

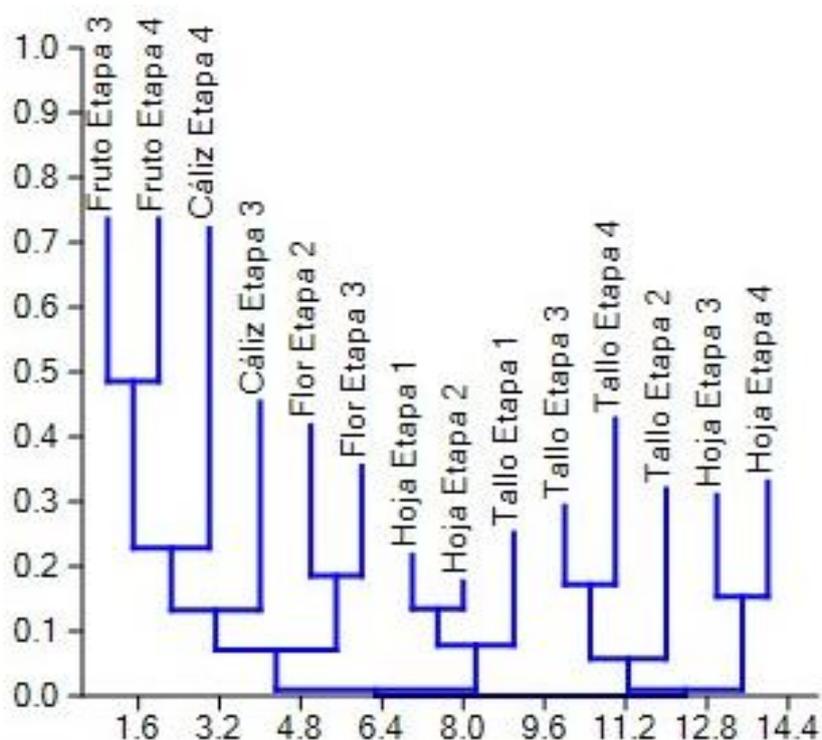


Figura 20. Análisis de agrupamiento de Jaccard de los perfiles fenólicos de cinco diferentes estructuras de *P. angulata* durante 4 etapas de desarrollo.

En el caso de análisis de agrupamiento de los perfiles fenólicos de *P. ixocarpa* el resultado es diferente al de *P. angulata* debido a que no se pudieron determinar compuestos comunes en diferentes tejidos. Lo anterior provoca que sólo se puedan apreciar diferencias entre las diferentes etapa de desarrollo del mismo tipo de estructura (Figura 21). En este caso, debido a la gran cantidad de ausencias que comparten al hacer la matriz de presencia ausencia todos las diferencias entre ellos se hace menor.

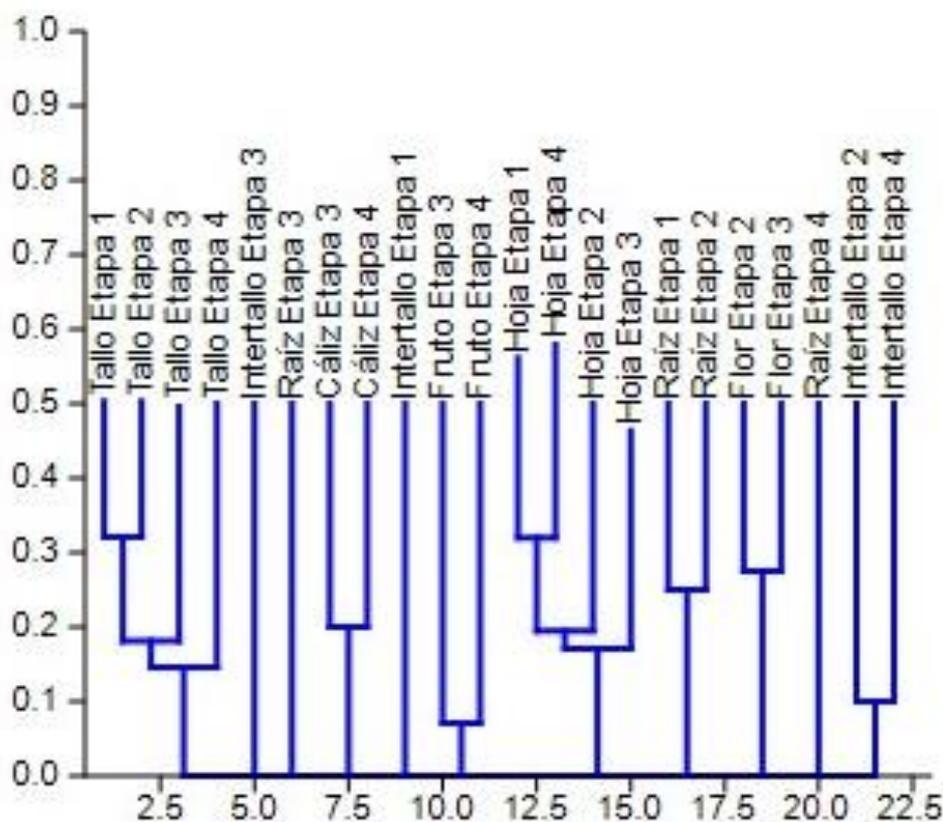


Figura 20. Análisis de agrupamiento de Jaccard de los perfiles fenólicos de siete diferentes estructuras de *P. ixocarpa* durante 4 etapas de desarrollo.

## 6.6 Contenido total de fenoles, flavonoides y ácidos fenólicos.

En las Tablas 11 y 12 se muestran los resultados de las estimaciones de los contenidos de fenoles totales, flavonoides y ácidos fenólicos de las diferentes partes de *P. angulata* y *P. ixocarpa* a diferentes estados de desarrollo. En ellas se observan diferencias significativas en los contenidos, las cuales fueron dependientes del tipo de estructura y de la edad de las plantas. Diferencias interespecíficas también se pueden observar. La mayor parte de los tejidos de *P. ixocarpa* tuvieron una mayor concentración de fenoles y flavonoides totales que los de *P. angulata*.

En la especie domesticada, las flores maduras (en la etapa 3) fueron las estructuras, de entre todas las analizadas, que acumularon la mayor cantidad de fenoles totales (8.87 mg EAG/g PF). Este valor fue significativamente más alto que en las mismas flores inmaduras (3.21 mg EAG/g PF), a pesar de haber tenido en la etapa 3 un perfil fenólico más simple. Una tendencia similar se encontró en *Rosa damascena* (Sood y Nagar, 2003). En la especie silvestre (*P. angulata*), la flor también fue el tejido que más concentración de fenoles totales presentó (6.5 mg EAG/g PF), y esta mayor acumulación también ocurrió en la etapa 3. Contenidos más altos de fenoles totales en flores maduras que en inmaduras también han sido reportados para granada (Elfalleh *et al.*, 2012) y para *Ferula gummosa* (Fazel Nabavi *et al.*, 2010) en este estudio se utilizó toda la parte floral incluyendo al polen, el cual contiene una cantidad importante de compuestos fenólicos (Almaraz-Abarca *et al.*, 2004, 2007). Para las flores de *P. angulata*, aunque en la etapa 2 se encontraron menos fenoles totales (5.25 mg EAG/g PF) que en la etapa 3, el análisis estadístico no reveló diferencias significativas. Lo anterior puede deberse a que las flores de *P. angulata* se polinizaron en menos de tres días, con el consiguiente inflamamiento del cáliz y rápida pérdida de la flor, mientras que en *P. ixocarpa*, las flores se mantienen por más tiempo, permitiendo concentrar más compuestos (observaciones hechas durante la realización del presente trabajo)

Las hojas de ambas especies de *Physalis* fueron las estructuras que, después de las flores, acumularon más cantidad de fenoles totales. *Physalis ixocarpa* mantuvo una concentración casi constante a lo largo de las cuatro etapas de desarrollo analizadas, de tal manera que entre la concentración de la etapa 1

(7.19 mg EAG/PF) y la de la 4 (6.89 mg EAG/g PF) (Tabla 12) no hubo diferencia significativa, y sólo en la etapa 3, cuando las plantas inician la fructificación, la concentración de fenoles totales descendió de manera significativa (4.44 mg EAG/g PF). Este comportamiento de concentraciones de fenoles totales fue similar al reportado por Ding *et al.* (2001) para el níspero y por Mohd-Esa *et al.* (2010) para la hoja de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), aunque con valores superiores a los reportados para esta última, que oscilaron alrededor de 2.20 mg EAG/g.

El comportamiento de la concentración de los fenoles totales en las hojas de *P. angulata* fue diferente al encontrado para las de *P. ixocarpa*. Para esta segunda especie, se encontró una correlación de Pearson de  $< -0.99$  entre la concentración de los fenoles totales con respecto a las etapas de desarrollo, siendo la primera etapa la que mostró la concentración más elevada (4.98 mg EAG/g PF) y la última etapa la que mostró la menor concentración (1.79 mg EAG/g PF), todas las diferencias siendo estadísticamente significativas (Tabla 11). Este comportamiento de concentraciones a lo largo del desarrollo de las plantas de *P. angulata* concuerdan con lo determinado para *Rosmarinus officinalis* (Del Baño *et al.*, 2003), *Barringtonia racemosa* Roxb. y *Barringtonia spicata* Blume (Dalila *et al.*, 2015). Esto puede convertir al contenido de fenoles totales foliares como un indicador del control de calidad y maduración del fruto de *P. angulata*, haciendo posible seguir la maduración del fruto, lo cual no es sencillo de apreciar morfológicamente, debido al cáliz envolvente y a su color verde. En ambas especies de *Physalis* analizadas, flor y hoja fueron los tejidos con mayores compuestos fenólicos, algo que también se ha reportado en otras especies (Dalila *et al.*, 2015).

El tallo mostró concentraciones intermedias, más alta que la parte subterránea de la planta pero menor que hoja, flor y cáliz, en ambas especies estudiadas, la concentración de fenoles totales disminuyó hasta alcanzar un mínimo en la etapa 3 y aumentar en la etapa 4, comportamiento similar a lo descrito por Gholivand y Piryaei (2012) para *Bryonia dioica*. Esta fluctuación de la concentración de fenoles totales sugiere que posiblemente ocurre un transporte de estos compuestos en el inicio de la fructificación. La máxima concentración de fenoles totales en tallo de *P. ixocarpa* y *P. angulata* fue de 2.24 y 1.59 mg EAG/g PF,

esto es ligeramente superior a lo reportado en el tallo de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), para la cual se reportó 1.31 mg EAG/g (Mohd-Esa *et al.*, 2010).

Raíz e intertallo fueron las estructuras que menores concentraciones de compuestos fenólicos mostraron, sobre todo en las primeras etapas de desarrollo, el aumento de la concentración de fenoles totales con el desarrollo de la planta dieron correlaciones de Spearman superiores a  $>0.8$  en raíz e intertallo detanto de *P. angulata* como de *P. ixocarpa*, indicando un patrón de acumulación de compuestos en la parte subterránea de la planta. El que la concentración de fenoles totales de las dos especies analizadas se comporten de una manera similar durante el desarrollo en tallo, intertallo y raíz puede deberse al papel que juegan algunos compuestos fenólicos durante el desarrollo y defensa de las plantas. Los valores máximos de fenoles totales para la raíz y el intertallo de *P. ixocarpa* se dieron en la última etapa (1.09 y 1.95 mg EAG/g PF, respectivamente) y también en la última etapa de desarrollo de *P. angulata* (0.81 y 1.80 mg EAG/g PF, respectivamente). Esas concentraciones fueron similares entre ambas especies analizadas. Concentraciones de fenoles totales de 7.62 mg EAG/g (peso seco) se han reportado en la raíz de Ortiga (*Urtica dioica*) (Otlés y Yalcin, 2012), y de 352.4  $\mu\text{g}$  EAG/mL para *Smallanthus sonchifolius* (Arnao *et al.*, 2011).

Cáliz y fruto mostraron valores menores que hoja y flor pero mayores que raíz y tallo (Tablas 11 y 12). El fruto de *P. ixocarpa* tuvo mayores valores de fenoles totales (3.39 mg EAG/g PF) que el fruto de *P. angulata* (1.22 mg EAG/g PF). Ambos valores fueron superiores al reportado por Cosmulescu *et al.* (2015) para ciruela (*Prunus domestica* L. var. Silvia), el cual fue de 76.5 mg EAG/100g PF. En cuanto al cáliz, el de *P. angulata* tuvo acumuló mayor cantidad de fenoles totales (4.87 mg EAG/g PF) que el de *P. ixocarpa* (1.16 mg EAG/g PF). Si el cáliz es una barrera de protección contra diferentes adversidades que tienen que enfrentar el fruto y semilla, el que la especie silvestre haya tenido mayores concentraciones de fenoles totales que la cultivada tendría sentido debido a la mayor necesidad de la silvetres de combatir un número mayor y más diverso de agentes exógenos que la cultivada. Medina-Medrano *et al.* (2015) reportaron valores de fenoles totales para cinco especies silvestres de *Physalis*, siendo el valor de *P. angulata* el menor de ellos, lo que implicaría que *P. ixocarpa* también

tendría valores inferiores a las otras especies silvestres; esto apoyaría la idea expresada anteriormente sobre la mayor relevancia de los fenoles del cáliz de la especie silvestres en la defensa del fruto.

Respecto a las concentraciones de flavonoides, no se encontraron valores importantes en las raíces de ambas especies (Tablas 11 y 12). Los flavonoides en raíz tienen diversas funciones, como regulador de auxina a la hora del crecimiento radicular (Taylor y Grotenwold, 2005; Rodríguez-Ramiro *et al.*, 2016) así como defensa contra patógenos y comunicación con individuos de la rizosfera (Rodríguez-Ramiro *et al.*, 2012), ayudar a fijar el nitrógeno (Hassan y Mathesius, 2012) o evitar el crecimiento de plantas competidoras mediante propiedades alelopáticas (Do Nascimento y Fett-Neto, 2010), aunque esta última no se ha reportado para el género *Physalis*. Las concentraciones en raíz e intertallo fueron muy bajas, encontrándose por debajo de los 0.05 mg EQ/g PF en muchas etapas o no fueron detectadas. Uno de los papeles principales de los flavonoides es la neutralización de radicales libres formados durante la fotosíntesis (Agati *et al.*, 2013), esto podría explicar la baja concentración de estos compuestos en raíz e intertallo, incluso en fruto que está protegido por el cáliz y que los flavonoides reportados fueron bajos en comparación con los flavonoides reportados para otras especies pero también protegen contra la excesiva radiación (Agati *et al.*, 2013), por lo que su abundancia no sería tan necesaria en la raíz.

La hoja fue, en ambas especies de *Physalis*, la estructura con mayor contenido en flavonoides totales y en ambos casos fue en la primera etapa de desarrollo donde se aprecia esta elevada concentración, así, en *P. ixocarpa* en la etapa 1 se determinó 41.74 mg EQ/g PF mientras que para *P. angulata* fue de 37.86 mg EQ/g PF. Ambos datos son superiores a lo reportado por Medina-Medrano *et al.*, (2015), para las 5 especies silvestres de *Physalis*. Durante el desarrollo de la planta los niveles de flavonoide foliares descienden hasta permanecer alrededor de entre 15-25 mg EQ/g PF para ambas especies, estos valores se asemejan a los reportados en el trabajo citado anteriormente, donde en hoja de *P. angulata* reportaron 23.036 mg EQ/g de peso seco. Con lo que los flavonoides de hoja

pueden servir de referencia para determinar el desarrollo o estado fenológico de la planta.

Las concentraciones de flavonoides totales del tallo son los que más se diferenciaron entre las dos especies de *Physalis*. Mientras que en *P. angulata* tiene su concentración más elevada en la etapa 1 (11.1 mg EQ/g PF) y con correlación negativa de Spearman de -0.87, en *P. ixocarpa* es en la última etapa donde se da el mayor dato (10.06 mg EQ/g PF) y con una correlación positiva (correlación de Spearman = 0.8492). *P. angulata* al ser silvestre y de vida más corta necesitaría una elevada síntesis de flavonoides similar y el transporte de flavonoides primaria en las últimas etapas de desarrollo, lo contrario a *P. ixocarpa* ya domesticada y con una vida mayor.

Sí coinciden el comportamiento de los flavonoides totales en flor y cáliz de ambas especies, en la etapa 2 la concentración de flavonoides totales es menor a la encontrada en la etapa 3. Mientras que los flavonoides de de cáliz de la etapa 3 son mayores a los hallados en la etapa 4, en la cual, en ninguna de las dos especies se encontraron flavonoides. Los flavonoides totales de *P. angulata* están más de 12 veces más concentrados que los determinados en *P. ixocarpa*, esas diferencias pueden deberse al papel protector del cáliz y flavonoides, siendo esta función más importante en especies silvestres. Medina-Medrano *et al.*, (2015) reportaron 8.829 mg EQ/g en cáliz de *P. angulata* y hasta 39.633 mg EQ/g en *P. subulata*, todas las determinaciones de flavonoides totales en ese trabajo fueron mayores a los 1.12 mg EQ/g PF de *P. ixocarpa*. La flor incrementó en más de 2 veces la concentración de flavonoides tanto en *P. ixocarpa* como en *P. angulata* de la etapa 2 a la etapa 3, misma tendencia reportada en *Rosa damascena* (Sood y Nagar, 2003).

Los flavonoides totales de ambas especies fueron muy bajos, no hallándose para el caso de *P. angulata*, los mismo reportaron Medina-Medrano *et al.* (2015) para el fruto de *P. angulata*, mientras que para otras especies silvestres como *P. subulata* o *P. solanácea* los valores estuvieron por encima de los 4 mg EQ/g. González-Mendoza *et al.* (2011) determinaron elevada concentración de

flavonoides debido a la presencia de antocianinas de un genotipo morado de *P. ixocarpa*.

Los ácidos fenólicos tuvieron concentraciones muy bajas, y mostraron una distribución mucho más irregular a lo largo del proceso de desarrollo de la planta. Se ha reportado que frente a patógenos se eleva la producción de ácido clorogénico, ferúlico y cafeíco, entre otros. Es posible que estas diferencias de concentración entre las distintas etapas se deban a estreses puntuales a los que las diferentes estructuras hacen frente.

### 6.7 Propiedades antioxidantes

Las estimaciones de las diferentes evaluaciones de las propiedades antioxidantes se muestran en las Tablas 11 y 12. Los valores más relevantes de CAT se encontraron para las flores maduras (en la etapa 3), tanto de *P. angulata* (416.1  $\mu\text{g/mL}$ ) como de *P. ixocarpa* (505.10  $\mu\text{g/mL}$ ). Esos valores fueron más altos que los correspondientes a la epicatequina y la quercetina, usadas en el presente estudio como referencias, y reportadas como antioxidantes potentes (Jiménez-Aliaga *et al.*, 2011; Meng *et al.*, 2015).

Como bloqueadores del radical libre DPPH, los cálices inmaduros (en la etapa 3), las hojas jóvenes (en la etapa 1), y las flores inmaduras (en la etapa 2) de *P. angulata* fueron las estructuras más relevantes (valores de  $\text{EC}_{50}$  de 0.12, 0.15, y 0.17  $\text{mg/mL}$ , respectivamente). Sin embargo, las hojas jóvenes (en las etapas 1 y 2) y las flores maduras (en la etapa 3) de *P. ixocarpa* (valores de  $\text{EC}_{50}$  de 0.09, 0.13 y 0.13  $\text{mg/mL}$ , respectivamente) fueron superiores. Cualquiera de esos valores mencionados indican más capacidad bloqueadora que la reportada para los frutos de *P. peruviana*, los cuales requirieron 300  $\mu\text{g}$  extracto/ $\text{mL}$  para bloquear el 52.72% de DPPH (Chang *et al.*, 2008).

El poder reductor fue sobresaliente para las hojas de *P. ixocarpa* a prácticamente cualquier etapa de desarrollo (máximo valor a la etapa 2 con  $A_{700\text{nm}} = 5.12$ ) y para las hojas jóvenes de *P. angulata* ( $A_{700\text{nm}} = 4.04$ ). El PR de cualquiera de esas muestras fue más alto que los encontrados para la rutina y algunos de sus derivados acilados ( $A_{700\text{nm}}$  between 0.02 and 0.5), los cuales se reportaron como importantes flavonoides antioxidantes (Lue *et al.*, 2010).

Las mayores actividades antioxidantes encontradas para *P. ixocarpa* podrían estar asociadas a su composición fenólica compleja (Tabla 1A). Las diferencias encontradas en las propiedades antioxidantes entre las diferentes estructuras a un mismo y a diferentes estados de desarrollo de ambas especies analizadas pueden ser la consecuencia de patrones particulares de expresión de los genes involucrados en la biosíntesis de compuestos fenólicos, ya que las concentraciones de fenoles totales estuvieron correlacionada de manera alta ( $p < 0.05$ ) con la CAT, con la capacidad bloqueadora de radicales libres, y con el PR ( $r = 0.885, 0.993, 0.746$ , respectivamente), mientras que las concentraciones de flavonoides lo estuvieron con el PR ( $r = 0.754$ ).

Los resultados del presente trabajo revelan la importancia de los niveles de compuestos fenólicos totales y de los flavonoides para definir las propiedades antioxidantes de *P. angulata* y *P. ixocarpa*.

En el presente estudio, también se encontraron correlaciones significativas entre la concentración de algunos compuestos individuales y las actividades antioxidantes. Para *P. angulata*, entre el compuesto **5** de las hojas y la actividad bloqueadora de radicales libres y el PR ( $r = 0.781$  y  $0.762$ , respectivamente), entre el compuesto **6** y la actividad bloqueadora de radicales libres ( $r = 0.858$ ) y el PR ( $r = 0.978$ ), entre el compuesto **8** de las hojas y la CAT ( $r = 0.671$ ), entre el compuesto **4** de tallo y la CAT ( $r = 0.766$ ), el entre el compuesto **6** de tallo y la CAT y con el PR ( $r = 0.958$  and  $0.811$ , respectivamente), y entre el compuesto **8** de tallo y la CAT y el PR ( $r = 0.944$  y  $0.748$ , respectivamente). Esas correlaciones sugieren una importante participación de los flavonoles **4**, **5**, **6** y **8** de *P. angulata* para determinar sus propiedades antioxidantes.

## VII. CONCLUSIONES

- A pesar de la condición silvestre de *Physalis angulata*, esta especie se adaptó de mejor manera a las condiciones de cultivo en invernadero que *P. ixocarpa*, por lo que su potencial de domesticación puede ser alto.
- Las condiciones de invernadero mejoraron atributos morfoagronómicos importantes en *P. angulata*, como la talla de las plantas, el número de frutos por planta, el peso de los frutos, y producción.
- Sin embargo, las condiciones de invernadero causaron una reducción en los contenidos fenólicos y en las propiedades antioxidantes de *P. angulata*.
- Los compuestos fenólicos acumulados en *P. angulata* y *P. ixocarpa* son ácidos fenólicos y flavonoles. Destaca la ausencia de flavonas en ambas especies. Los flavonoles presentes fueron derivados glicósidos de quercetina y de canferol. Dos tipos de sustituciones para los flavonoles fueron encontradas, el tipo 3-O-glicósido y el tipo 3,7-di-O-glicósidos. Dihidroflavonoides solo fueron encontrados en *P. ixocarpa*.
- Los perfiles fenólicos de *P. ixocarpa* fueron más complejos, en términos de números de compuestos, que los de *P. angulata*, y fueron especie-específicos, por lo que pueden ser quimiomarcadores relevantes.
- Los perfiles fenólicos fueron tejido-específicos para cada una de las dos especies de *Physalis* analizadas, y más aún, para cada tipo de tejido, fueron edad-específicos, por lo que su importancia como quimiomarcadores es más relevante. Esas características de los perfiles fenólicos pueden tener implicaciones valiosas en estudios taxonómicos y vuelven a esos perfiles importantes herramientas de control de calidad de alimentos derivados de estas especies.
- *Physalis ixocarpa* tuvo propiedades antioxidantes más altas que *P. angulata*. Sin embargo, en comparación con reportes de esas propiedades en otras especies de plantas, ambas especies de *Physalis* tienen potencial como fuentes de antioxidantes naturales.
- Los frutos, tanto de *P. ixocarpa* como de *P. angulata* demostraron una mayor capacidad antioxidante en etapas tempranas del desarrollo.
- Existe una polarización entre la parte aérea y la parte subterránea, existiendo una tendencia a acumular compuestos fenólicos y aumentar las capacidades

antioxidantes en raíz e intertallo, mientras que en la parte aérea se mantienen o disminuyen durante el desarrollo.

Tabla 11. Fenoles totales, flavonoides totales, ácidos fenólicos totales, actividad bloqueadora del radical libre (EC<sub>50</sub>), capacidad antioxidante total (CAT) y poder reductor de hierro (PR) de diferentes tejidos de *P. angulata* en las cuatro etapas de desarrollo.

<i>Physalis angulata</i> Tejido y Etapa	Fenoles Totales (mg EAG/g PF)	Flavonoides Totales (mg EQ/g PF)	Contenido de ácido fenólico (mg EAG/g PF)	CAT (µg EAA/mL)	EC <sub>50</sub> (mg/mL)	PR (A <sub>700nm</sub> )
<b>Raíz</b>						
ETAPA1	0.38 ± 0.01 a	NE	NE	43.44 ± 3.11 a	1.02 ± 0.09 a	0.05 ± 0.00 a
ETAPA2	0.68 ± 0.08 b	<0.05	<0.05	35.28 ± 1.08 b	1.22 ± 0.03 a	0.10 ± 0.00 b
ETAPA3	0.76 ± 0.01 bc	NE	NE	37.94 ± 1.65 ab	0.68 ± 0.04 b	0.18 ± 0.02 c
ETAPA4	0.81 ± 0.01 c	NE	NE	42.53 ± 2.17 a	0.55 ± 0.01 b	0.22 ± 0.01 c
<b>Intertallo</b>						
ETAPA1	0.25 ± 0.03 a	NE	NE	99.90 ± 5.73 b	0.93 ± 0.04 b	0.04 ± 0.00 a
ETAPA2	0.41 ± 0.03 b	NE	NE	34.48 ± 6.38 a	1.18 ± 0.01 a	0.06 ± 0.00 a
ETAPA3	0.66 ± 0.01 c	NE	NE	76.14 ± 1.74 b	0.97 ± 0.01 b	0.26 ± 0.07 b
ETAPA4	1.80 ± 0.02 d	NE	<0.05	141.1 ± 23.47 c	0.49 ± 0.01 c	0.57 ± 0.01 c
<b>Tallo</b>						
ETAPA1	1.59 ± 0.01 a	11.10 ± 1.55 a	0.20 ± 0.00	107.5 ± 4.11 a	0.55 ± 0.01 a	0.68 ± 0.03 a
ETAPA2	1.18 ± 0.00 b	3.53 ± 0.24 b	<0.05	75.75 ± 3.98 b	1.02 ± 0.02 b	0.35 ± 0.02 b
ETAPA3	0.50 ± 0.04 d	0.89 ± 0.08 b	0.09 ± 0.02	23.69 ± 2.96 d	1.08 ± 0.09 b	0.13 ± 0.03 c
ETAPA4	0.89 ± 0.02 c	0.92 ± 0.08 b	<0.05	48.35 ± 5.53 c	0.49 ± 0.03 a	0.37 ± 0.02 b
<b>Hoja</b>						
ETAPA1	4.98 ± 0.23 a	37.86 ± 2.90 a	1.12 ± 0.17 a	222.3 ± 26.12 a	0.15 ± 0.00 a	4.04 ± 0.36 a
ETAPA2	3.92 ± 0.10 b	21.25 ± 3.35 b	0.20 ± 0.03 b	132.1 ± 5.87 b	0.24 ± 0.00 b	1.30 ± 0.41 b
ETAPA3	2.85 ± 0.06 c	23.17 ± 1.28 ab	0.99 ± 0.03 a	151.8 ± 2.96 b	0.29 ± 0.01 c	0.45 ± 0.01 b
ETAPA4	1.79 ± 0.28 d	15.42 ± 5.31 b	0.31 ± 0.10 b	178.8 ± 14.94 ab	0.25 ± 0.01 bc	1.35 ± 0.37 b
<b>Flor</b>						
ETAPA2	5.25 ± 0.26 a	4.11 ± 0.44 a	0.19 ± 0.00 a	306.1 ± 13.57 a	0.17 ± 0.06 a	0.43 ± 0.01 a
ETAPA3	6.50 ± 1.26 a	9.44 ± 1.16 b	0.59 ± 0.07 b	416.1 ± 23.78 a	0.19 ± 0.02 a	1.25 ± 0.31 b
<b>Cáliz</b>						
ETAPA3	4.87 ± 0.09 a	14.33 ± 1.48	1.28 ± 0.05 b	217.8 ± 32.01 a	0.12 ± 0.01 a	2.57 ± 0.14 a
ETAPA4	2.42 ± 0.31 b	NE	0.05 ± 0.01 a	177.2 ± 17.11 a	0.62 ± 0.06 b	0.47 ± 0.03 b
<b>Fruto</b>						
ETAPA3	1.22 ± 0.01 a	NE	0.06 ± 0.01	83.03 ± 7.25 a	0.56 ± 0.02 a	0.67 ± 0.03 a
ETAPA4	1.10 ± 0.17 a	NE	<0.05	106.81 ± 17.84 a	0.63 ± 0.05 b	0.32 ± 0.07 b
<b>Quercetina</b>				80.00 ± 2.00	5.29E <sup>-3</sup> ± 0.39E <sup>-3</sup>	
<b>Epicatequina</b>				110.00 ± 5.00	14.33E <sup>-3</sup> ± 0.29E <sup>-3</sup>	

EAG: Equivalentes de ácido gálico. EQ: Equivalentes de Quercetina. EAA: Equivalentes de ácido ascórbico. PF: Peso fresco. Los valores se presentan como media y desviación estándar de tres análisis independientes. Letras diferentes en la misma columna para cada tejido y etapa indican diferencias estadísticas (p<0.05).

Tabla 12. Fenoles totales, flavonoides totales, ácidos fenólicos totales, actividad bloqueadora del radical libre (EC<sub>50</sub>), capacidad antioxidante total (CAT) y poder reductor de hierro (PR) de diferentes tejidos de *P. ixocarpa* en las cuatro etapas de desarrollo.

<i>Physalis ixocarp</i> Tejido y Etapa	Fenoles Totales (mg EAG/g PF)	Flavonoides Totales (mg EQ/g PF)	Contenido de ácido fenólico (mg EAG/g PF)	CAT (µg EAA/mL)	EC <sub>50</sub> (mg/mL)	PR (A <sub>700nm</sub> )
Raíz						
ETAPA1	0.54 <sup>c</sup> ± 0.05	NE	<0.05	55.12 ± 3.11 a	1.15 ± 0.09 a	0.09 ± 0.00 a
ETAPA2	0.54 <sup>c</sup> ± 0.03	<0.05	<0.05	49.24 ± 1.08 b	1.11 ± 0.03 a	0.24 ± 0.00 b
ETAPA3	0.65 <sup>b</sup> ± 0.03	NE	NE	41.19 ± 1.65 ab	0.88 ± 0.04 b	0.33 ± 0.02 c
ETAPA4	1.09 <sup>a</sup> ± 0.07	NE	NE	88.28 ± 2.17 a	0.66 ± 0.01 b	0.49 ± 0.01 c
Intertallo						
ETAPA1	0.71 <sup>d</sup> ± 0.05	<0.05	<0.05	43.47 ± 5.73 b	0.99 ± 0.04 b	0.08 ± 0.00 a
ETAPA2	0.89 <sup>c</sup> ± 0.09	<0.05	<0.05	48.58 ± 6.38 a	0.91 ± 0.01 a	0.20 ± 0.00 a
ETAPA3	1.19 <sup>b</sup> ± 0.08	NE	NE	91.29 ± 1.74 b	0.74 ± 0.01 b	0.45 ± 0.07 b
ETAPA4	1.95 <sup>a</sup> ± 0.11	<0.05	<0.05	159.15 ± 23.47 c	0.41 ± 0.01 c	1.11 ± 0.01 c
Tallo						
ETAPA1	1.58 <sup>c</sup> ± 0.10	6.12 ± 1.66	0.11 ± 0.02	59.93 ± 4.11 a	0.90 ± 0.01 a	0.59 ± 0.03 a
ETAPA2	1.86 <sup>b</sup> ± 0.02	7.27 ± 0.64	0.19 ± 0.01	109.47 ± 3.98 b	0.60 ± 0.02 b	0.88 ± 0.02 b
ETAPA3	1.41 <sup>c</sup> ± 0.01	7.14 ± 1.74	0.08 ± 0.01	80.02 ± 2.96 d	0.85 ± 0.09 b	0.72 ± 0.03 c
ETAPA4	2.24 <sup>a</sup> ± 0.05	10.06 <sup>c</sup> ± 0.76	0.29 ± 0.04	152.14 ± 5.53 c	0.45 ± 0.03 a	1.24 ± 0.02 b
Hoja						
ETAPA1	7.19 <sup>a</sup> ± 0.49	41.74 <sup>a</sup> ± 15.55	1.17 ± 0.21	443.50 ± 26.12 a	0.09 ± 0.00 a	4.89 ± 0.36 a
ETAPA2	6.92 <sup>a</sup> ± 0.65	32.15 <sup>b</sup> ± 26.07	0.88 ± 0.13	391.31 ± 5.87 b	0.13 ± 0.00 b	5.12 ± 0.41 a
ETAPA3	4.44 <sup>b</sup> ± 0.28	15.29 <sup>c</sup> ± 3.91	0.49 ± 0.06	202.83 ± 2.96 b	0.25 ± 0.01 c	2.01 ± 0.01 b
ETAPA4	6.89 <sup>a</sup> ± 0.62	16.12 <sup>c</sup> ± 16.23	0.62 ± 0.04	256.44 ± 14.94 ab	0.20 ± 0.01 bc	4.98 ± 0.37 a
Flor						
ETAPA2	3.21 <sup>b</sup> ± 0.37	5.18 <sup>a</sup> ± 1.41	0.91 ± 0.09	325.45 ± 13.57 a	0.19 ± 0.06 a	1.13 ± 0.01 a
ETAPA3	8.87 <sup>a</sup> ± 0.89	11.13 <sup>b</sup> ± 3.24	1.43 ± 0.17	505.10 ± 23.78 a	0.13 ± 0.02 a	2.27 ± 0.31 b
Cáliz						
ETAPA3	1.16 <sup>a</sup> ± 0.10	1.12 <sup>a</sup> ± 0.38	<0.05	96.14 ± 32.01 a	1.01 ± 0.01 a	0.95 ± 0.14 a
ETAPA4	0.81 <sup>b</sup> ± 0.12	NE	<0.05	88.07 ± 17.11 a	1.24 ± 0.06 b	0.33 ± 0.03 b
Fruto						
ETAPA3	1.92 <sup>b</sup> ± 0.19	<0.05	<0.05	111.80 ± 7.25 a	0.52 ± 0.02 a	1.45 ± 0.03 a
ETAPA4	3.39 <sup>a</sup> ± 0.25	<0.05	<0.05	197.65 ± 17.84 a	0.33 ± 0.05 b	2.84 ± 0.07 b
Quercetina				80.00 ± 2.00	5.29E <sup>-3</sup> ± 0.39E <sup>-3</sup>	
Epicatequina				110.00 ± 5.00	14.33E <sup>-3</sup> ± 0.29E <sup>-3</sup>	

EAG: Equivalentes de ácido gálico. EQ: Equivalentes de Quercetina. EAA: Equivalentes de ácido ascórbico. PF: Peso fresco. Los valores se presentan como media y desviación estándar de tres análisis independientes. Letras diferentes en la misma columna para cada tejido y etapa indican diferencias estadísticas (p<0.05).



## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aaby, K., Ekeberg, D., Skrede, G. 2007. Characterization of phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruits by different HPLC detectors and contribution of individual compounds to total antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 4395-4406.

Abdel-Haliem, E., Abdullah, H., Al-Huqail, H.H. 2013. Oxidative damage and mutagenic potency of fast neutron and UV-B radiation in pollen mother cells and seed yield of *Vicia faba* L. *BioMed Research International* 2013: Article ID 824656, doi.org/10.1155/2013/824656.

Agati, G., Brunetti, C., Di Fernando, M., Ferrini, F., Pollastri, S., Tattini, M. 2013. Functional roles of flavonoids in photoprotection: New evidence, lessons from the past. *Plant Physiology and Biochemistry* 72: 35-45.

Álavez-Gómez V, Jardón-Barbolla L.O., Wegier-Briuolo A.L., Piñero D., Martínez M. 2009. Recopilación de información acerca de la evolución del Género *Physalis* en México y del origen y diversidad de *Physalis philadelphica* Lam. (tomate verde). Dentro del Proyecto "Generación y recopilación de información de las Especies de las que México es centro de origen y diversidad genética" Primer Informe Parcial.

Almaraz-Abarca, N., Campos, M.G., Ávila-Reyes, J. A., Naranjo-Jiménez, N., Herrera-Corral, J., González-Valdez, L.S. 2004. Variability of antioxidant activity among honeybee-collected pollen of different botanical origin. *Interciencia* 29: 574-578.

Almaraz-Abarca, N., Campos, M.G., Ávila-Reyes, J.A., Naranjo-Jiménez, N., Herrera-Corral, J., González-Valdez, L.S. 2007. Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, Leguminosae). *Journal of Food Composition and Analysis* 20: 119-124.

Almaraz-Abarca, N., Delgado-Alvarado, E.A., Ávila-Reyes, J.A., Uribe-Soto, J.N., González-Valdez, L.S. 2013. The phenols of the genus *Agave* (Agavaceae). *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology* 4: 9-16.

Almaraz-Abarca, N., González-Elizondo, M.S., Tena-Flores, J.A., Ávila-Reyes, J.A., Naranjo-Jiménez, N., Herrera-Corral, J. 2006. Foliar flavonoids

distinguish *Pinus leiophylla* and *Pinus chihuahuana* (Coniferales: Pinaceae). Proceedings of the Biological Society of Washington 119: 426-436.

Andersen, J.R., Zein, I., Wenzel, G., Krützfeldt, B., Eder, J., Ouzunova, M., Lübberstedt, T. 2007. High levels of linkage disequilibrium and associations with forage quality at a phenylalanine ammonia-lyase locus in European maize (*Zea mays* L.) inbreds. Theoretical and Applied Genetics 114: 307-319.

Arnau, I., Seminario, J., Cisneros, R., Trabucco, J. 2011. Potencial antioxidante de 10 accesiones de yacón, *Smallanthus sonchifolius* (Poep. & Endl) H. Robinson, procedentes de Cajamarca – Perú. Anales de la Facultad de Medicina 72: 239-243.

Balaguer-López, H.E., Martínez, C.A.C., Herrera-Arévalo, A. 2014. Papel del cáliz en el comportamiento poscosecha de frutos de uchuva (*Physalis peruviana* L.) ecotipo Colombia. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas 8: 181-191.

Barboza, G.E., Hunziker, A.T., Bernardello, G., Cocucci, A.A., Moscone, A.E.G, Carrizo, C., Fuentes, V., Dillon, M.O., Bittrich, V., Cosa, M.T., Subils, R., Romanutti, A., Arroyo, S., Anton, A. 2016. Solanaceae. Flowering Plants, Eudicots, The Families and Genera of Vascular Plants 14: 295-356.

Barros, L., Dueñas, M., Carvalho, A.M., Ferreira, I.C., Santos-Buelga, C. 2012. Characterization of phenolic compounds in flowers of wild medicinal plants from Northeastern Portugal. Food and Chemical Toxicology 50:1576-1582.

Bellomo, G. 1991. Cell damage by oxygen cell radicals. Cytotechnology 5: 71-73.

Blum, U. 1996. Allelopathic interactions involving phenolic acids. Journal of Nematology 28: 259.

Boligon, A.A., Machado, M.M, Athayde, M.L. 2014. Technical evaluation of antioxidant activity. Medicinal Chemistry 4: 517-522.

Bonilla-Cortés M.H., Arias, P.A., Landínez-Gómez, L.M., Moreno-Martínez, J.M., Cardozo-Puentes, F., Suárez-Rivera, M.S. 2009. Agenda prospectiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva de la uchuva en fresco para exportación en Colombia-Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Proyecto Transición de la Agricultura. Universidad Nacional de

Colombia CCDIAC. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Bogotá D.C., Colombia.

Boulogne, I., Petit, F., Ozier-Lafontaine, H., Desfontaines, L., Loranger-Merciris, G. 2012. Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: A review. *Environmental Chemical Letters* 10: 325-347.

Brown, D., Rashotte, A.M., Murphy, A.S., Normanly, J., Tague, B.W., Peer, W.A., Taiz, L., Muday, G.K. 2001. Flavonoids act as negative regulators of auxin transport in vivo in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 126: 524-535.

Cáceres, A., Álvarez, A.V., Ovando, A.E., Samayoa, B.E. 1991. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases. 1. Screening of 68 plants against gram-positive bacteria. *Journal of Ethnopharmacology* 31: 193–208.

Cáceres, A., Torres, M.F., Ortiz, S., Cano, F., Jauregui, E. 1993. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. IV. Vibriocidal activity of five American plants used to treat infections. *Journal of Ethnopharmacology* 39: 73–75.

Campos, M.D.G., Markham, K.R. 2007. Structure information from HPLC and on-line measured absorption spectra: flavones, flavonols and phenolic acids. Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal.

Campos-Florián, J., Bobadilla-Villa, M., Huamán-Bermeo, M., Bazán-Vásquez, M. 2011. Efecto del extracto del fruto de *Physalis peruviana* "tomatillo" en *Mus musculus* var. swis con hiperlipidemia inducida. *Scientia Agropecuaria* 2: 83-89.

Cantwell M, Flores-Minutti J, Trejo-González A. 1992. Developmental changes and postharvest physiology of tomatillo fruits (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Scientia Horticulturae* 50: 59-70.

Carstensen, B.K. 2014. Caracterización molecular y criopreservación de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. ex. Horm.). Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma Chapingo, Estado de México, México, p105.

Castillo-Rodríguez, O. 2011. Nutrición y *Bacillus subtilis* en el control de marchitamiento por *Fusarium spp.* en tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) en Sinaloa. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Investigación para el

Desarrollo Integral Regional unidad Sinaloa, Instituto Politécnico Nacional. México, p 89.

Castro-Brindis, R., Sánchez-García, P., Pena-Lomelia, A., Alcantar-González, G., Baca-Castillo, G., López-Romero, R.M. 2000. Niveles críticos de suficiencia y toxicidad de N-NO<sub>3</sub> en el extracto celular de peciolo de tomate de cáscara. *Revista Terra* 18: 141-146.

Chang, J. C., Lin, C.C., Wu, S.J., Lin, D.L., Wang, S.S., Miaw, C.L., Ng, L.T. 2008. Antioxidative and hepatoprotective effects of *Physalis peruviana* extract against acetaminophen-induced liver injury in rats. *Pharmaceutical Biology* 46:724-731.

Cicco, N., Lanorte, M.T., Paraggio, M., Viggiano, M., Lattanzio, V. 2009. A reproducible, rapid and inexpensive Folin–Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts. *Microchemical Journal* 91: 107-110.

Cobaleta-Velasco, M., Reyes-Martínez, A., Barriada-Bernal, G., Medina-Medrano, J.R., Torres-Ricario, R., Delgado-Alvarado, E.A., Alanis-Bañuelos, R.E., Almaraz-Abarca, N. 2013. Una mirada general al tomate de cáscara (*Physalis*). *Vidsupra* 5: 90-99.

Cosmulescu, S., Trandafir, I., Nour, V., Botu, M. 2015. Total phenolic, flavonoid distribution and antioxidant capacity in skin, pulp and fruit extracts of plum cultivars. *Journal of Food Biochemistry* 39: 64-69.

D'Arcy, W. G. 1991. The Solanaceae since 1976, with a review of its biogeography. In: *Solanaceae III: Taxonomy, Chemistry, Evolution* (Eds. Hawkes, J.G., R. N. Lester, M. Nee, N. Estrada). Royal Botanic Gardens, Kew. United Kingdom, pp 75-138.

Dalila, Z.D., Hafsah, J., Manaf, A.A. 2015. Antioxidant properties and total phenolic content in different development stages of *Barringtonia racemosa* and *Barringtonia spicata* leaves. *Walailak Journal of Science and Technology* 12: 449-458.

Del Baño, M.J., Lorente, J., Castillo, J., Benavente-García, O., Del Río, J.A., Ortuño, A., Quirin, K-W., Gerard, D. 2003. Phenolic diterpenes, flavones, and rosmarinic acid distribution during the development of leaves, flowers, stems,

and roots of *Rosmarinus officinalis*. Antioxidant activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 4247-4253.

Ding, C., Chachin, K., Ueda, Y., Imahori, Y., Wang, C.Y. 2001. Metabolism of phenolic compounds during loquat fruit development. Journal Agricultural and Food Chemistry 49: 2883-2888.

Dimayuga, R.E., Virgen, M., Ochoa, N. 1998. Antimicrobial activity of medicinal plants from Baja California Sur (México). Pharmaceutical Biology 36: 33-43.

Dizdaroglu, M., Jaruga, P., Birincioglu, M., Rodríguez, H. 2002. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. Free Radical Biological & Medicine 32: 1102-1115.

Do Nascimento, N.C., Fett-Neto, A.G. 2010. Plant secondary metabolism and challenges in modifying its operation: An overview. In: Fett-Neto, A.G. editor. Plant Secondary Metabolism Engineering. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Springer. 1-13.

Drost-Karbowska K., Ellnain-Wojtaszek M., Gawron-Gzella A., Kowalewski Z., Jankiewickz L.S., Matlawaska I., Sikorska M., Szaupafer Hajdrych M., Walkowiak A. 1993. Phytochemical investigation of the tomatillo fruit (*Physalis ixocarpa* Brot., Solanaceae). Acta Societatis Botanicorum Poloniae 62: 155-59.

Elfalleh, W., Hannachi, H., Tlili, N., Yahia, Y., Nasri, N., Ferchichi, A. 2012. Total phenolic contents and antioxidant activities of pomegranate peel, seed, leaf and flower. Journal of Medicinal Plants Research 6: 4724-4730.

Fazel Nabavi, S., Ebrahimzadeh, M.A., Mohammad-Nabavi, S., Eslami, B. 2010. Antioxidant activity of flower, stem and leaf extracts of *Ferula gummosa* Boiss. Grasas y Aceites 61: 244-250.

Fischer G, Lüdders P. 1997. Developmental changes of carbohydrates in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) fruits in relation to the calyx and the leaves. Agronomía Colombiana 14: 95-107.

Fischer, G., Ebert, G., Lüdders, P. 2000. Provitamin A carotenoids, organic acids and ascorbic acid content of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) ecotypes grown at two tropical altitudes. Acta Horticulturae 531: 263- 268.

Freitas, T.A., Rodrigues, A.C.C., Osuna, J.T.A. 2006. Cultivation of *Physalis angulata* L. and *Anadenanthera colubrina* [(Vell.) Brenan] species of the Brazilian semi-arid. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s 8: 201-204.

Garzón-Martínez, G.A., Zhu, Z.I., Landsman, D., Barrero, L.S., Mariño-Ramírez, L. 2012. The *Physalis peruviana* leaf transcriptome: assembly, annotation and gene model prediction. *BMC Genomics* 13: 151-162.

Ghasemzadeh, A., Ghasemzadeh, N. 2011. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research* 5: 6697-6703.

Gholivand, M.B., Piryaeei, M. 2012. The antioxidant activity, total phenolics and total flavonoids content of *Bryonia dioica* Jacq. *Biologija* 58: 99-105.

Glotter, E. 1991. Withanolids and related ergostane-type steroids. *Natural Product Reports* 8: 415-440.

Goldstein, D.B., Schlötterer, C. 1999. *Microsatellites, Evolution and Applications*. Oxford University Press, New York, USA, p 352.

González-Elizondo, M., González-Elizondo, S., Herrera-Arrieta, Y. 1991. Listados florísticos de México IX. Flora de Durango. Instituto de Biología-Universidad Nacional Autónoma de México. México.

González-Elizondo, M.S., González-Elizondo, M., Márquez-Linares, M.A. 2007. *Vegetación y Ecorregiones de Durango*. Plaza y Valdés-CIIDIR IPN. México.

González-Mendoza, D., Grimaldo-Juárez, O., Soto-Ortiz, R., Escoboza-García, F., Santiaguillo J.F.H. 2010. Evaluation of total phenolics, anthocyanins and antioxidant capacity in purple tomatillo (*Physalis ixocarpa*) genotypes. *African Journal of Biotechnology* 9: 5173-5176.

González-Mendoza, D., Martínez-Ascencio, D., Hau-Poox, A., Mendez-Trujillo, V., Grimaldo-Juárez, O., Santiaguillo-Hernández, J., Cervantes-Díaz, L., Avilés-Marin, S. 2011. Phenolic compounds and physiochemical analysis of *Physalis ixocarpa* genotypes. *Scientific Research and Essays* 6: 3808-3814.

Harborne, J.B. 1989. General procedures and measurement of total phenolics. In: Dey, P.M., Harborne, J.B. *Methods in Plant Biochemistry, Plant Phenolics*. Academic Press, London, UK, 1-28.

Harborne, J.B., Simmons, N.W. 1964. Biochemistry of Phenolic Compounds. Academic Press. London, UK, p101.

Hassan, S., Mathesius, U. 2012. The role of flavonoids in root–rhizosphere signalling: opportunities and challenges for improving plant–microbe interactions. *Journal of Experimental Botany* 63: 3429-3444.

Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. 2002. Flavonoids antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 10: 572-584.

Hendrych, R. 1989. *Physalis alkekengi*, in Europa und in der Tschechoslowakei besonders. *Acta Universitatis Carolinae, Biologica* 33: 1-42.

Hernández-Bermejo, J.E., León-Arguedas, J. 1998. Cultivos marginados: otra perspectiva de 1492. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Roma, Italia, p 341.

Hernández, I., Alegre, L., Breusegem, F.V., Munné-Bosch, S. 2009. How relevant are flavonoids as antioxidants in plants? *Trends in Plant Science* 14: 125-32.

Hernández, F. 1649. *Rerum medicarum Novae Hispaniae thesaurus sev plantarum animalium mineralium Mexicanorum*. Roma. p 203.

Hernández, F. 1790. *Medici atque historici Philippi II.Hisp. et. Indiar. Regis, et totis novi orbis archiastri, Opera, cum edita, tum inedita, ad autographi fidem et integritatem expressa*. Madrid. 2: 4.

Hsu, C.C., Wu, Y.C., F, L., Du, Y.C., Tseng, Y.C., Wu, C.C, Wu., Chang, F.R. 2012. Physalin B from *Physalis angulata* triggers the NOXA-related apoptosis pathway of human melanoma A375 cells. *Food and Chemical Toxicology* 50: 619-624.

Ibave-González, J. L., Ochoa, M. 2007. Cuantificación de los diferentes folatos presentes en tomatillo (*Physalis ixocarpa*) por cromatografía de líquidos de alta resolución. *Tecnociencia* 1: 9-16.

Im, H.W., Suh, B., Lee, S., Kozukue, N., Ohnisi-Kameyama, M., Levin, C.E., Friedman, M. 2008. Analysis of phenolic compounds by high-performance liquid chromatography and liquid chromatography/mass spectrometry in potato

plant flowers, leaves, stems, and tubers and in home-processed potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 3341-3349.

Ionita, P. 2005. Is DPPH stable free radical a good scavenger for oxygen active species? *Chemical Papers* 50: 11-16.

Islas-Blancas, A.A. 2006. Efecto de la fertilización y riego con aguas negras en la calidad poscosecha de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) var. Titán. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Hidalgo, México, p 99.

Ismail, N., Alam, M. 2001. A novel cytotoxic flavonoid glycoside from *Physalis angulata*. *Fitoterapia* 72: 676-679.

Jiang, X., Liu, Y., Li, W., Zhao, L., Meng, F., Wang, Y., Tan, H., Yang, H., Wei, C., Wan, X. 2013 Tissue-specific, development-dependent phenolic compounds accumulation profile and gene expression pattern in tea plant [*Camellia sinensis*]. *Plos One* 8: e62315.

Jiménez-Aliaga, K., Bermejo-Bescós, P., Benedí, J., Martín-Aragón, S. 2011. Quercetin and rutin exhibit antiamyloidogenic and fibril-disaggregation effect in vitro and potent antioxidant activity in APP<sub>swe</sub> cells. *Life Sciences* 89: 939-945.

Kalin, P., Gülçin, I., Gören, A.C. 2015. Antioxidant activity and polyphenol content of cranberries (*Vaccinium macrocarpon*). *Records of Natural Products* 9: 496-502.

Kanteh, S.M., Norman, J.E. 2015. Diversity of plants with pesticidal and medicinal properties in southern Sierra Leone. *Biological Agriculture and Horticulture* 31: 18-27.

Lee, M.R. 2006. The Solanaceae: Foods and poisons. *The Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh* 36: 162-169.

Licodiedoff, S.; Koslowski, L.A.D.; Ribani, R.H. 2013. Flavonols and antioxidant activity of *Physalis peruviana* L. fruits at two maturity stages. *Acta Scientiarum Technology* 35: 393-399.

López-López, R., Arteaga-Ramírez, R., Vázquez-Peña, M.A., López-Cruz, I.L., Sánchez-Cohen, I. 2009. Producción de tomate de cáscara (*Physalis*

*ixocarpa* Brot.) basado en láminas de riego y acolchado plástico. Revista Chapingo Serie Horticultura 15: 83-89.

Lu, X., Wang, J., Al-Qadiri, H.M., Ross, C.F., Powers, J.R., Tang, J., Rasco, B.A. 2011. Determination of total phenolics content and antioxidant capacity of onion (*Allium cepa*) and shallot (*Allium oschaninii*) using infrared spectroscopy. Food Chemistry. 129: 637-644.

Lu, Y. 2002. Molecular evolution at the self-incompability Locus of *Physalis longifolia* (Solanaceae). Journal of Molecular Evolution 54: 784-793.

Lue, B.M., Nielse, N.S., Jacobsen, C., Hellgren, L., Guo, Z., Xu, X. 2010. Antioxidant properties of modified rutin esters by DPPH, reducing power, iron quelation and human low density lipoprotein assays. Food Chemistry 123: 221-230.

Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas, M.B. 1970. The Systematic Identification of Flavonoids. Springer-Verlag, New York, USA.

Makino, B., Kawai, M., Kito, K., Yamamura, H., Butsugan, Y. 1995. New physalins possessing an additional carbon-carbon bond from *Physalis alkekengi* var. *francheti*. Tetrahedron 51: 12529-12538.

Maldonado E., Pérez-Castorena A.L., Garcés C., Martínez M. 2011. Philadelphicalactones C and D and other cytotoxic compounds from *Physalis philadelphica*. Steroids 76: 724-28.

Martínez, A.Y., Yero, O.M., López, J.C., Navarro, M.V., Espinosa, M.E. 2011. Fitoesteroles y escualeno como hipocolesterolémicos en cinco variedades de semillas de *Cucurbita máxima* y *Cucurbita mostacha* (calabaza). Revista Cubana de Plantas Medicinales 16: 72-81.

Martínez, M. 1994. Identidad de *Physalis coztomatl* Moc. & Sesse ex Dunal como el coztomatl de Francisco Hernández. Acta Botánica Mexicana 29: 49-54.

Martínez, M. 1999. Infrageneric taxonomy of *Physalis*. In: Solanaceae IV: advances in biology and utilization (Eds: Nee, M., D. E. Symon, R. N. Lester, J. P. Jessop). Kew Royal Botanic Gardens. United Kingdom, pp. 275-283.

Martínez, M., Rodríguez, A., Vargas, O., Chiang F. 2011 Catálogo nomenclatural de las Solanaceae de México. Universidad Autónoma de Querétaro. Informe Final SNIB-CONABIO. Proyecto HS004. México, D.F.

M a y e r , C . 2 0 0 6 - 2 0 1 0 . P h o b o s 3 . 3 . 1 1 , <[http://www.rub.de/spezzoo/cm/cm\\_phobos.htm](http://www.rub.de/spezzoo/cm/cm_phobos.htm)>.

Medina-Medrano, J.R., Almaraz-Abarca, N., González-Elizondo, M.S., Uribe-Soto, J.N., González-Valdez, L.S., Herrera-Arrieta, Y. 2015. Phenolic constituents and antioxidant properties of five wild species of *Physalis* (Solanaceae). *Botanical Studies* 56: 1-13.

Meng, H.C., Gao, J., Zheng, H.C., Darmirin, A., Ma, C.M. 2015. Diacetylated and acetone-conjugated flavan-3-ols as potent antioxidants with cell penetration ability. *Journal of Functional Foods* 12: 256-261.

Menzel, M.Y. 1951. The cytotaxonomy and genetics of *Physalis*. *Proceedings of the American Philosophical Society* 95: 132-83.

Mo, Y., Ángel, C., Taylor, L.P. 1992. Biochemical complementation of chalcone synthase mutants defines a role for flavonols in functional pollen. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89: 7213-7217.

Mocan, A., Vlase, L., Vodna, D.C., Gheldiu, A., Oprean, R., Crisan, G. 2015. Antioxidant, antimicrobial effects and phenolic profile of *Lycium barbarum* L. Flowers. *Molecules* 20: 15060-15071.

Mohd-Esa, N., Hern, F.S., Ismail, A., Yee, C.L. 2010. Antioxidant activity in different parts of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts and potential exploitation of the seeds. *Food Chemistry* 122: 1055-1060.

Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 26: 211-219.

Montes H.S., 1994. Etnobotánica del tomate de cáscara (*Physalis philadelphica* Lam.). *Revista Geografía Agrícola* 20: 163-172.

Morillo-Paz, A.T., Villota-Cerón, D.E., Lagos-Burbano, T.C., Ordóñez-Jurado, H.R. 2011. Caracterización morfológica y molecular de 18 introducciones de uchuva *Physalis peruviana* L. de la colección de la Universidad de Nariño. *Revista Facultad Nacional de Agronomía de Medellín* 64: 6043-6053.

Morton, J.F., Russell, O.S. 1954. The cape gooseberry and the Mexican husk tomato. Florida State Horticultural Society 67: 261–266.

Mulato-Brito, J., Peña-Lomelí, A., López-Reynoso, J.J. 2007. Self-compatibility inheritance in tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.). Vegetable Crops Bulletin 67: 17.

Nathiya, M., Dorcus, D. 2012. Preliminary phytochemical and anti-bacterial studies on *Physalis minima* Linn. International Journal of Current Science 24-30.

Ng, J.L.P., Hassan, S., Truong, T.T., Hocart, C.H., Laffont, C., Frugier, F., Mathesius, U. 2015. Flavonoids and auxin transport inhibitors rescue symbiotic nodulation in the *Medicago truncatula* cytokinin perception mutant *cre1*. The Plant Cell 25: 2210-2226.

Novoa R.H., Bojacá, M., Galvis, J.A., Fischer, G. 2006. La madurez del fruto y el secado del cáliz influyen en el comportamiento poscosecha de la uchuva, almacenada a 12 °C (*Physalis peruviana* L.). Agronomía Colombiana 24: 77-86.

Nurmi, K., Ossipov, V., Haukipia, E., Pihlaja, K. 1996. Variation of total phenolic content and low-molecular-weight phenolics in foliage of the mountain birch trees (*Betula pubescens* ssp. *tortuosa*). Journal of Chemical Ecology 22: 2033-2050.

NRC (National Research Council). 1989. Goldenberry (Cape Gooseberry). Lost crops of the Incas: Little-known plants of the Andes with promise for worldwide cultivation. National Academy Press. Washington D.C., USA.

Olivares, A.B., Bernal, M.J., Ros, G., Martínez, C., Periago, M.J. 2006. Calidad de los datos del contenido en ácido fólico en vegetales recogidos en varias tablas de composición de alimentos españoles, y nuevos datos sobre su contenido en folatos. Nutrición Hospitalaria 21: 97-198.

Olmstead, R.G., Sweere, J.A., Spangler, R.E., Bohs, L., Palmer, J.D. 1999. Phylogeny and provisional classification of the Solanaceae based on chloroplast data. In: Solanaceae IV: advances in biology and utilization (Eds: Nee, M. D. E. Symon, R. N. Lester, J. P. Jessop). Kew Royal Botanic Gardens. United Kingdom, pp. 111-137.

Osorio, D., Roldan, J. 2003. Volvamos al campo: manual de la uchuva. Grupo Latino LTDA. Bogotá, Colombia.

Otles, S., Yalcin, B. 2012. Phenolic compounds analysis of root, stalk, and leaves of nettle. *The Scientific World Journal* 2012: 1-12.

Peña, L.A. 2001. Situación actual y perspectivas de la producción y mejoramiento genético de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en México. Primer Simposio Nacional: Técnicas Modernas de Producción de Tomate, Papa y otras Solanáceas. Universidad Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, p 10.

Pérez-Pérez I. 2006. Evaluación de la dosis óptima de un fertilizante foliar contra aplicaciones al suelo en relación al rendimiento en el cultivo de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa*, Brot) variedad Divino. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Coahuila, México, p 53.

Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry* 269: 337-341.

Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 4290-4302.

Ramadan, M.F. 2012. *Physalis peruviana* pomace suppresses high cholesterol diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Grasas y Aceites* 63: 411-422.

Ramadan, M., Morsel, J. 2003. Oil goldenberry (*Physalis peruviana* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 969-974.

Ramadan, M.F. 2011. Bioactive phytochemicals, nutritional value, and functional properties of cape gooseberry (*Physalis peruviana*): An overview. *Food Research International* 44: 1830-1836.

Ramírez, F., Fischer, G., Davenport, T., Pinzón, J., Ulrichs, C. 2013. Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) phenology according to the BBCH phenological scale. *Scientia Horticulturae* 162: 39-42.

Reyes-Reyes, E.M., Jin, Z., Vaisberg, A.J., Hammond, G.B., Bates, P.J. 2013. Physangulidine A, a Withanolide from *Physalis angulata*, Perturbs the Cell Cycle and Induces Cell Death by Apoptosis in Prostate Cancer Cells. *Journal of Natural Products* 76: 2-7.

Rockenbach, I.I., Rodrigues, E., Cataneo, C., Gonzaga, L.V., Lima, A., Mancini-Filho, J., Fett, R. 2008. Ácidos fenólicos e atividade antioxidante em fruto de *Physalis peruviana* L. *Alimentos e Nutrição* 19: 271-276.

Rodríguez, N.C., Bueno, M.L. 2006. Estudio de la diversidad citogenética de *Physalis peruviana* L. (Solanaceae). *Acta Biológica Colombiana* 11: 75-85.

Rodríguez-Burgos, A. 2010. Desarrollo de fruto y calidad de semilla de cinco variedades de *Physalis ixocarpa* Brot. en el valle del fuerte, Sinaloa. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo, Estado de México, México.

Rodríguez-Ramiro, I., Ramos, S., Bravo, L., Goya, L., Marín, M.A. 2012. Procyanidin B2 induces Nrf2 translocation and glutathione S-transferase P1 expression via ERKs and p38-MAPK pathways and protect human colonic cells against oxidative stress. *European Journal of Nutrition* 51: 881-892.

Rodríguez-Ramiro, I., Vauzour, D., Minihane, A.M. 2016. Polyphenols and non-alcoholic fatty liver disease: Impact and mechanisms. *Proceedings of the Nutrition Society* 75: 47-60.

Rugna, A.Z., Gurni, A.A., Wagner, M.L. 2005. Fitoquímica comparativa de flavonoides en los diferentes órganos de *Smilax campestris* Griseb.-Smilacaceae. *Dominguezia* 21: 17-23.

Santiago, R., De Armas, R., Legaz, M.E., Vicente, C. 2008. Separation from *Ustilago scitaminea* of different elicitors which modify the pattern of phenolic accumulation in sugarcane leaves. *Journal of Plant Pathology* 90:87-96.

Santiaguillo J.F.H., Blas, S.Y. 2009. Aprovechamiento tradicional de las especies de *Physalis* en México. *Revista de Geografía Agrícola* 43: 81-86.

Schmidt, D.D., Voelckel, C., Hartl, M., Schmidt, S., Baldwin, I.T. 2005. Specificity in ecological interaction. Attack from the same lepidopteran herbivore results in species-specific transcriptional responses in two solanaceous host plants. *Plant Physiology* 138: 1763-1773.

SIAP. 2014. Sistema de Información Agropecuario y Pesquero. México. [www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx). Consultado el 04-2016.

Sobrino-Vesperinas, E., Sanz-Elorza, M. 2007. Sobre el status de *Physalis ixocarpa* Brot. Ex Hormen. Acta Botánica Malacitana 32: 232-233.

Sood, S., Nagar, P.K. 2003. Changes in abscisic acid and phenols during flower development in two diverse species of rose. Acta Physiologiae Plantarum 25: 411-416.

Sullivan, J.R. 1985. Systematics of the *Physalis viscosa* Complex (Solanaceae). Systematic Botany 10: 426-444.

Taiz L., Zeiger, E. 1991. Plant Physiology. The Benjamin/Cummings Publishing California, USA

Taylor, L.P., Grotewold, E. 2005. Flavonoids as developmental regulators. Plant Biology 8: 317-23.

The Tomato Genome Consortium. 2012. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. Nature 485: 635-641.

Valdivia-Mares. L.E., Rodríguez, F.A.Z., Sánchez, J.J.G., Vargas-Ponce, O. 2016. Phenology, agronomic and nutritional potential of three wild husk tomato species (*Physalis*, Solanaceae) from Mexico. Scientia Horticulturae-Amsterdam. 200: 83-94.

Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J., Telser, J. 2004. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. Mollecular and Cellular Biochemistry 266: 37-56.

Vallejo, F.A., Osorio, E.R., Sierra, T.A. 2010. Caracterización y evaluación de recursos genéticos del género *Lycopersicon*. Acta Agronómica 44: 25–36.

Vargas-Ponce, O., Martínez, M., Dávila-Aranda, P. 2003. La familia Solanaceae en Jalisco –El género *Physalis*-. Colección Flora de Jalisco. Instituto de Botánica, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México.

Vargas-Ponce, O., Pérez-Álvarez, L.F., Zamora-Tavares, P., Rodríguez, A. 2011. Assesing genetic diversity in Mexican Husk Tomato Species. Plant Molecular Biology Reporter 29: 733-738.

Vargas-Ponce O., Sánchez J.M., Zamora M.P.T., Valdivia L.E.M. 2015. Traditional management of a small-scale crop of *Physalis angulata* in Western Mexico. Genetic Resources and Crop Evolution. DOI: 10.1007/s10722-015-0326-3.

Vasina O., Maslennikova V., Abubakirov N. 1986. *Physalis* withasteroids. Chemistry of Natural Compounds 22: 243-55.

Veit, M., C. Beckert, C. Höhne, K. Bauer & H. Geiger. 1995. Interspecific and intraspecific variation of phenolics in the genus *Equisetum* subgenus *Equisetum*. Phytochemistry 38: 881-891.

Vermerris, W., Nicholson, R. 2008. Phenolic Compound Biochemistry. Springer, Florida, USA, p 284.

Verhaar, M.C., Stroes, E., Rabelink, T.J. 2002. Folates and cardiovascular disease. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology 22: 6-13.

Yang, J., Guo, J., Yuan, J. 2008. In vitro antioxidant properties of rutin. LWT-Food Science and Technology 41:1060-1066.

Ylstra, B., Touraev, A., Moreno, R.M.B., Stöger, E., Van Tunen, A.J., Vicente, O., Mol, J.N., Heberle-Bors, E. 1992. Flavonols stimulate development, germination, and tube growth of tobacco pollen. Plant Physiology 100: 902-907.

Wang, L., Li, Z., He, C. 2012. Transcriptome-wide mining of the differentially expressed transcripts for natural variation of floral organ size in *Physalis philadelphica*. Journal of Experimental Botany 63: 6457-6465.

Waterfall U.T. 1967. *Physalis* in Mexico, Central America and The West Indies. Rhodora 69: 203-39.

Webber, J.L., May, P.E. 1989. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. American Journal of Human Genetics 44: 388-396.

Wei, J., Hu, X., Yang, J., Yang, W. 2012. Identification of single-copy orthologous genes between *Physalis* and *Solanum lycopersicum* and analysis of genetic diversity in *Physalis* using molecular markers. Plos One 7: e50164. Doi: 10.1371/journal.pone.0050164.

Whitson, M., Manos, P.S. 2005. Untangling *Physalis* (Solanaceae) from the physaloids: A two-gene phylogeny of the Physalinae. *Systematic Botany* 30: 216-230.

Whitson, M. 2011. Proposal to conserve the name *Physalis* (Solanaceae) with a conserved type. *Taxon* 60: 608-609.

Zein, I., Wenzel, G., Andersen, J.R., Lübberstedt, T. 2007. Low level of linkage disequilibrium at the COMT (caffeic acid O-methyl transferase) locus in European maize (*Zea mays* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution* 54: 139-148.

Zang, Y., Zhang, L., Igarashi, K., Yu, C. 2015. The anti-obesity and anti-diabetic effects of kaempferol glycosides from unripe soybean leaves in high-fat-diet mice. *Food and Function* 6: 834-841.

Zhang, Q., Cui, H. 2005. Simultaneous determination of quercetin, kaempferol, and isorhamnetin in phytopharmaceuticals of *Hippophae rhamnoides* L. by high-performance liquid chromatography with chemiluminescence detection. *Journal of Separation Science* 28: 1171-1178.

## **IX. RECOMENDACIONES**

Los compuestos fenólicos demostraron ser tejido y etapa específicos, el uso de técnicas suplementarias de identificación como HPLC-MS o resonancia magnética nuclear, permitirían una identificación más precisa de los compuestos permitiendo obtener más conclusiones.

Es importante obtener el material vegetal libre de virus y utilizar las condiciones de cultivo idóneas para su crecimiento, además recoger el material en un intervalo corto de tiempo es importante para evitar sesgos.

Usar una gama más amplia de estándares químicos para poder estimar con mayor precisión la concentración de flavonoides totales, ácidos fenólicos totales así como los compuestos individuales.

## X. SUGERENCIAS

El uso de más especies del género *Physalis* para poder establecer mejores diferencias y establecer más etapas de desarrollo ayudaría a determinar de manera más precisa el comportamiento fenólico entre las estructuras.

Debido a la gran literatura existente sobre witanólidos y fisalinas, sería interesante aprovechar la riqueza de México en especies endémicas de *Physalis* para encontrar nuevos elementos que pudieran tener cierta actividad farmacológica.

Establecer relaciones de los compuestos fenólicos con otras moléculas de la planta.

Usando los resultados de este estudio se podrían agregar compuestos fenólicos existentes en la planta y en los tejidos, ya sea mediante riego en suelo o foliar para determinar alguna función específica a estos compuestos.

Sería interesante explotar el potencial de *Physalis angulata* bajo las condiciones de invernadero descritas como un recurso agronómico para los agricultores del Estado de Durango, considerando los diferentes genotipos regionales.

## XI. AGRADECIMIENTOS

A mis Padres y Hermanos por haberme apoyado estando tan lejos y tanto tiempo separados.

A Ruth, por el apoyo, paciencia, dedicación, trabajo en equipo y ayuda prestada durante estos cuatro años.

A Norma, por enseñarme cómo quiero ser cuando sea mayor, por tenerme una paciencia infinita, mostrarme la capacidad de sacrificio que son necesarios para poder realizar esta profesión. He aprendido mucho, muchas gracias.

A Toño, por hacerme ver que siempre hay una solución para los problemas, gracias por defender a los alumnos y a la institución, también por la paciencia y consejos.

Al Dr. Marlon, por su sencillez y ayuda, así como colaboración y conocimientos, una excelente y capaz persona.

A la Dra. Laura Silvia, por recibirme siempre con una sonrisa y por las facilidades, apoyos y consejos brindados.

A Sara, me ha enseñado a ver cómo el tiempo y el dinero se pueden estirar y aprovechar al máximo.

A mis compañeros, por crear un buen ambiente de trabajo y el intercambio de conocimientos.

A Amanda y Ana, por la ayuda, consejos y sus regañadas en el laboratorio, me han enseñado a ser más cuidadoso, que es algo que todavía debo mejorar.

A Mayra y Ame, por atenderme con una sonrisa aún llegando en el último minuto del último día.

Al Dr. Nati Uribe por sus consejos y ayuda en cuestiones agronómicas.

A Manlio por enseñarme a cómo trabajar con las plantas en invernadero.

Al Dr. Nati Gurrola por su apoyo y consejos durante los cuatro años del Doctorado.

Al resto de maestros que han compartido su conocimiento y habilidades conmigo.

Al Instituto Politécnico Nacional, por ser una Institución generosa y dedicada a los alumnos y a México.

A toda la comunidad Ciidirita por la ayuda brindada siempre que ha sido necesaria.

## XII. ANEXOS

### ANEXO 1

Tabla 1A. Tiempo de retención,  $\lambda_{\text{máx}}$  y tipo de compuesto fenólico encontrado en los diferentes tejidos de *Physalis ixocarpa* en diferentes etapas de desarrollo.

RAÍZ				
Código	Tiempo de retención (min)	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Etapas	Tipo de compuesto
1 RI	28.57 ± 0.42	247sh, 297sh, 330	1,2	Ácido fenólico
2 RI	32.41 ± 0.08	260, 269sh, 290sh, 355	2	Quercetina-3-O-glicósido
3 RI	32.42 ± 0.42	297sh, 307	1,2	Ácido fenólico
4 RI	46.06 ± 0.05	294sh, 318	2	Ácido fenólico
INTERTALLO				
Código	Tiempo de retención (min)	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Etapas	Tipo de compuesto
1 II	21.99 ± 0.16	303sh, 324	1	Ácido fenólico
2 II	22.28 ± 0.21	256,268sh, 294sh, 353	1	Quercetina-3-O-glicósido
3 II	25.37 ± 0.00	272, 334sh	4	Dihidroflavonoide
4 II	27.80 ± 0.24	300sh, 323	1	Ácido fenólico
5 II	29.30 ± 0.20	306sh, 329	1	Ácido fenólico
6 II	29.95 ± 0.00	300sh, 326	1	Ácido fenólico
7 II	29.95 ± 0.00	302sh, 327	2	Ácido fenólico
8 II	31.47 ± 0.00	248sh, 294sh, 331	4	Ácido fenólico
9 II	32.52 ± 0.20	256, 269sh, 296sh, 353	1	Quercetina-3-O-glicósido
10 II	34.40 ± 0.00	296sh, 326	4	Ácido fenólico
11 II	36.94 ± 0.00	284, 334sh	2, 4	Dihidroflavonoide
TALLO				
Código	Tiempo de retención (min)	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Etapas	Tipo de compuesto
1 TI	22.27 ± 0.57	296sh, 324	1	Ácido fenólico
2 TI	25.74 ± 0.00	255, 265sh, 296sh, 355	2	Quercetina-3-O-glicósido
3 TI	26.17 ± 0.49	309	1	Ácido fenólico
4 TI	26.20 ± 0.00	257, 267sh, 296sh, 342	2	Quercetina-3-O-glicósido
5 TI	26.95 ± 0.28	240sh, 305sh, 326	1, 2, 3	Ácido fenólico
6 TI	28.00 ± 0.14	234	1, 2, 3,	Ácido fenólico
7 TI	28.60 ± 0.28	290sh, 329	2	Ácido fenólico
8 TI	29.73 ± 0.05	295sh, 327	3	Ácido fenólico
9 TI	30.23 ± 0.19	298sh, 338	4	Ácido fenólico
10 TI	31.45 ± 0.13	290sh, 301sh, 327	4	Ácido fenólico
11 TI	31.54 ± 0.56	260, 268sh, 298sh, 357	2	Quercetina-3-O-glicósido
12 TI	32.42 ± 0.28	255, 264sh, 352	1, 2	Quercetina-3-O-glicósido

<b>13 TI</b>	32.50 ± 0.21	257, 264sh, 253	1, 2, 3,	Quercetina-3-O-glicósido
<b>14 TI</b>	33.08 ± 0.15	234 sh298, 324	1, 2, 3,	Ácido fenólico
<b>15 TI</b>	34.49 ± 0.05	274, 334sh	3, 4	Dihidroflavonoide
<b>16 TI</b>	35.39 ± 0.28	259, 266sh, 296sh, 357	1, 2	Quercetina-3-O-glicósido
<b>17 TI</b>	36.27 ± 0.00	257, 266sh, 296sh, 352	1, 2, 4	Quercetina-3-O-glicósido

**HOJA**

<b>Código</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>	<b><math>\lambda_{\text{máx}}</math> (nm)</b>	<b>Etapas</b>	<b>Tipo de compuesto</b>
<b>1 HI</b>	21.27 ± 0.25	240sh, 301sh, 323	1, 2, 3	Ácido fenólico
<b>2 HI</b>	21.19 ± 0.17	253, 268, 295sh, 354	2	Quercetina-3-O-glicosido
<b>3 HI</b>	22.17 ± 0.74	244sh, 266, 342sh	1, 2	Canferol-3,7-di-O-glicósido
<b>4 HI</b>	23.50 ± 0.00	244sh, 267, 346	1, 2, 3	Canferol-3,7-di-O-glicósido
<b>5 HI</b>	25.74 ± 0.74	303sh, 324, 240sh	1, 2, 3,	Ácido fenólico
<b>6 HI</b>	26.65 ± 0.00	245sh, 266, 348	3	Canferol-3-O-glicósido
<b>7 HI</b>	26.86 ± 0.22	233sh, 301sh, 324	2	Ácido fenólico
<b>8 HI</b>	27.09 ± 0.78	240sh, 304sh, 326sh	1, 4	Ácido fenólico
<b>9 HI</b>	28.19 ± 0.77	237sh, 303sh, 337sh	1, 3, 4	Ácido fenólico
<b>10 HI</b>	28.25 ± 0.00	234, 298sh, 328	2	Ácido fenólico
<b>11 HI</b>	29.36 ± 0.05	246sh, 303sh, 328	3	Ácido fenólico
<b>12 HI</b>	31.48 ± 0.92	257, 266sh, 305sh, 355	1, 2, 3	Quercetina-3-O-glicosido
<b>13 HI</b>	31.50 ± 0.15	255, 265sh, 296sh, 355	2	Quercetina-3-O-glicosido
<b>14 HI</b>	31.68 ± 0.90	256sh, 266sh 357	1, 2, 4	Quercetina-3-O-glicosido
<b>15 HI</b>	32.93 ± 0.00	243sh, 300sh, 323	3	Ácido fenólico
<b>16 HI</b>	33.39 ± 1.05	246sh, 267, 347	1, 2, 3,	Canferol-3-O-glicósido
<b>17 HI</b>	33.59 ± 0.49	253, 265sh, 299sh, 350	2	Quercetina-3-O-glicosido
<b>18 HI</b>	33.62 ± 1.07	245sh, 265, 347	1, 2, 4	Canferol-3-O-glicósido
<b>19 HI</b>	32.97 ± 0.00	256, 266, 297sh, 356	1, 2	Quercetina-3-O-glicosido
<b>20 HI</b>	34.07 ± 1.05	254, 264, 299sh, 351	2	Quercetina-3-O-glicosido
<b>21 HI</b>	34.40 ± 0.08	257, 266sh, 335	2	Quercetina-3-O-glicosido

**FLOR**

<b>Código</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>	<b><math>\lambda_{\text{máx}}</math> (nm)</b>	<b>Etapas</b>	<b>Tipo de compuesto</b>
<b>1 WI</b>	21.42 ± 0.14	242sh, 300sh, 323	2	Ácido fenólico
<b>2 WI</b>	21.92 ± 0.08	257, 267sh, 296sh, 352	2	Quercetina-3-O-glicósido
<b>3 WI</b>	22.08 ± 0.00	243sh, 292sh, 324	2	Ácido fenólico
<b>4 WI</b>	25.25 ± 0.15	312	2, 3	Ácido fenólico
<b>5 WI</b>	26.21 ± 0.18	242sh, 301sh, 325	2	Ácido fenólico
<b>6 WI</b>	26.48 ± 0.14	258, 267sh, 350	2, 3	Quercetina-3-O-glicósido
<b>7 WI</b>	27.51 ± 0.14	236sh, 300sh, 326	2, 3	Ácido fenólico
<b>8 WI</b>	28.90 ± 0.12	246sh, 270, 339	2	Canferol-3-O-glicósido
<b>9 WI</b>	29.10 ± 0.14	288, 329sh	2	Dihidroflavonoide
<b>10 WI</b>	30.80 ± 0.14	295sh, 314	2	Ácido fenólico
<b>11 WI</b>	31.32 ± 0.13	296sh, 314	2	Ácido fenólico
<b>12 WI</b>	32.02 ± 0.12	258, 268sh, 296sh, 352	2	Quercetina-3-O-glicósido
<b>13 WI</b>	32.24 ± 0.12	257, 268sh, 290sh, 357	2, 3	Quercetina-3-O-glicósido
<b>14 WI</b>	33.93 ± 0.11	306	2, 3	Ácido fenólico
<b>15 WI</b>	35.16 ± 0.10	258, 268sh, 296sh, 353	2, 3	Quercetina-3-O-glicósido

<b>16 WI</b>	36.50 ± 0.11	256, 267sh, 307sh, 354	2	Quercetina-3-O-glicósido
<b>17 WI</b>	38.06 ± 0.00	299sh, 314	2, 3	Ácido fenólico
<b>18 WI</b>	38.82 ± 0.05	297sh, 316	2, 3	Ácido fenólico
<b>19 WI</b>	43.27 ± 0.15	293, 340sh	2, 3	Dihidroflavonoide
<b>20 WI</b>	53.52 ± 0.06	290, 335sh		Dihidroflavonoide

**FRUTO**

<b>Código</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>	<b><math>\lambda_{\text{máx}}</math> (nm)</b>	<b>Etapas</b>	<b>Tipo de compuesto</b>
<b>1FI</b>	20.10 ± 0.03	238, 295sh, 324	3	Ácido fenólico
<b>2FI</b>	23.96 ± 0.02	270, 336sh	3	Dihidroflavonoide
<b>4FI</b>	26.92 ± 0.03	243sh, 302sh, 331	3, 4	Ácido fenólico
<b>3FI</b>	23.97 ± 0.01	256, 269sh, 293sh, 340	4	Quercetina-3-O-glicósido
<b>5FI</b>	28.00 ± 0.06	245, 300sh, 332	4	Ácido fenólico
<b>6FI</b>	28.70 ± 0.01	280, 339sh	4	Dihidroflavonoide
<b>7FI</b>	29.99 ± 0.00	260sh, 268, 288sh, 350	4	Quercetina-3-O-glicósido

**CÁLIZ**

<b>Código</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>	<b><math>\lambda_{\text{máx}}</math> (nm)</b>	<b>Etapas</b>	<b>Tipo de compuesto</b>
<b>1 CI</b>	21.01 ± 0.15	257, 269sh, 301sh, 347	4	Quercetina-3-O-glicósido
<b>2 CI</b>	29.54 ± 1.00	236sh, 303sh, 327	3	Ácido fenólico
<b>3 CI</b>	29.85 ± 0.00	247sh, 306sh, 336	3	Ácido fenólico
<b>4 CI</b>	31.24 ± 0.11	258, 270sh, 301sh, 359	4	Quercetina-3-O-glicósido
<b>5 CI</b>	32.92 ± 0.35	238sh, 297sh, 326	4	Ácido fenólico

Los valores de los tiempos de retención representan la media y desviación estándar de un número variable de cromatogramas.

Tabla 2A. Tiempo de retención,  $\lambda_{\text{máx}}$  y tipo de compuesto fenólico encontrado en los diferentes tejidos de *Physalis angulata* en diferentes etapas de desarrollo.

<b>HOJA</b>				
<b>Código</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>	<b><math>\lambda_{\text{máx}}</math> (nm)</b>	<b>Etapas</b>	<b>Tipo de compuesto</b>
1	27.948 ± 0.647	243, 296sh, 326	1,4	Ácido fenólico
2	31.329 ± 0.219	256, 266sh, 357	1,2,	Quercetina-3-O-glicósido
3	32.255 ± 0.659	227, 302sh, 314	1,2,	Ácido fenólico
1L	32.455 ± 0.489	299sh, 311	3	Ácido fenólico
4	32.990 ± 0.388	227sh, 248sh, 268, 351	1,2,3,4	Canferol-3,7-di-O-glicósido
5	33.961 ± 0.374	229sh, 248sh, 269, 348	1,2,3,4	Canferol-3,7-di-O-glicósido
2L	35.503 ± 0.111	309	3,4	Ácido fenólico
3L	35.867 ± 0.111	230, 303sh, 315	3,4	Ácido fenólico
4L	38.220 ± 0.019	237, 301sh, 329	4	Ácido fenólico
6	40.343 ± 0.353	255, 264sh, 294sh, 355	1,2,4	Quercetina-3-O-glicósido
7	41.903 ± 0.298	267, 302sh, 351	1,2,3,4	Canferol-3-O-glicósido
8	42.841 ± 0.271	267, 301sh, 352	1,2,3,4	Canferol-3-O-glicósido
<b>TALLO</b>				
<b>Código</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>	<b><math>\lambda_{\text{máx}}</math> (nm)</b>	<b>Etapas</b>	<b>Tipo de compuesto</b>
2	31.830 ± 0.359	256, 266sh, 357	1	Quercetina-3-O-glicósido
3	32.255 ± 0.659	227, 302sh, 314	1	Ácido fenólico
1S	32.669 ± 0.422	235, 297sh, 323	3,4	Ácido fenólico
4	32.990 ± 0.388	227sh, 248sh, 268, 351	1,2,3	Canferol-3,7-di-O-glicósido
5	33.961 ± 0.374	229sh, 248sh, 269, 348	1,2,3	Canferol-3,7-di-O-glicósido
2S	33.981 ± 0.308	238, 300sh, 325	1,2	Ácido fenólico
3S	38.675 ± 0.159	238, 300sh, 325	3,4	Ácido fenólico
6	40.343 ± 0.353	255, 264sh, 294sh, 355	1,2,3,4	Quercetina-3-O-glicósido
7	41.903 ± 0.298	267, 302sh, 351	2,3,4	Canferol-3-O-glicósido
8	42.841 ± 0.271	267, 301sh, 352	1,2,3,4	Canferol-3-O-glicósido
<b>RAÍZ</b>				
<b>Código</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>	<b><math>\lambda_{\text{máx}}</math> (nm)</b>	<b>Etapas</b>	<b>Tipo de compuesto</b>
1R	37.565 ± 0.000	294sh, 308	2	Ácido fenólico
6	40.343 ± 0.353	255, 264sh, 294sh, 355	2	Quercetina-3-O-glicósido
<b>INTERTALLO</b>				
<b>Código</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>	<b><math>\lambda_{\text{máx}}</math> (nm)</b>	<b>Etapas</b>	<b>Tipo de compuesto</b>
1I	52.217 ± 0.000	292, 319	4	Ácido fenólico
<b>FLOR</b>				
<b>Código</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>	<b><math>\lambda_{\text{máx}}</math> (nm)</b>	<b>Etapas</b>	<b>Tipo de compuesto</b>
3	32.255 ± 0.659	227, 302sh, 314	2,3	Ácido fenólico
5	33.961 ± 0.374	229sh, 248sh, 269, 348	2,3	Canferol-3,7-di-O-glicósido
1W	34.493 ± 0.037	305sh, 327	3	Ácido fenólico

<b>6</b>	40.343 ± 0.353	255, 264sh, 294sh, 355	3	Quercetina-3-O-glicósido
<b>8</b>	42.841 ± 0.271	267, 301sh, 352	2,3	Canferol-3-O-glicósido

**FRUTO**

<b>Código</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>	<b><math>\lambda_{\text{máx}}</math> (nm)</b>	<b>Etapas</b>	<b>Tipo de compuesto</b>
<b>1F</b>	34.947 ± 0.094	311sh, 332	3,4	Ácido fenólico
<b>2F</b>	35.980 ± 0.112	300sh, 329	4	Ácido fenólico

**CÁLIZ**

<b>Código</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>	<b><math>\lambda_{\text{máx}}</math> (nm)</b>	<b>Etapas</b>	<b>Tipo de compuesto</b>
<b>1</b>	27.948 ± 0.647	242, 302sh, 327	3	Ácido fenólico
<b>3</b>	32.255 ± 0.659	227, 302sh, 314	3	Ácido fenólico
<b>1C</b>	33.346 ± 0.621	219, 242sh, 305sh, 326	3,4	Ácido fenólico
<b>2C</b>	33.659 ± 0.655	235sh, 302sh, 324	3	Ácido fenólico
<b>6</b>	40.343 ± 0.353	255, 264sh, 294sh, 355	3	Quercetina-3-O-glicósido
<b>8</b>	42.841 ± 0.271	267, 301sh, 352	3	Canferol-3-O-glicósido

Los valores de los tiempos de retención representan la media y desviación estándar de un número variable de cromatogramas.

**ANEXO 2**

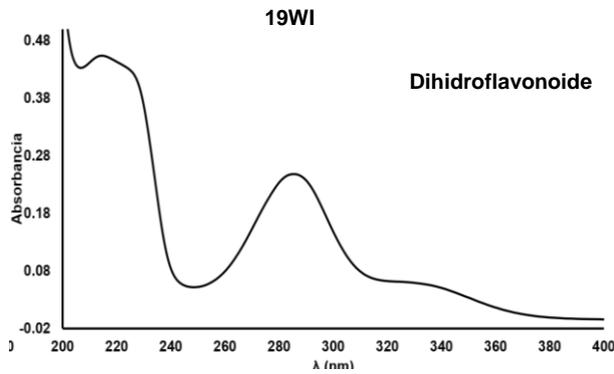


Figura 1A. Espectro DAD del dihidroflavonoide **19WI** de flor de *Physalis ixocarpa*

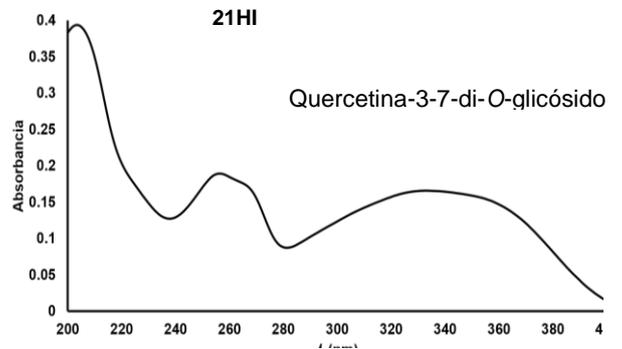


Figura 2A. Espectro DAD del Quercetina-3-7-di-O-glicósido **21H** de Hoja de *Physalis ixocarpa*.

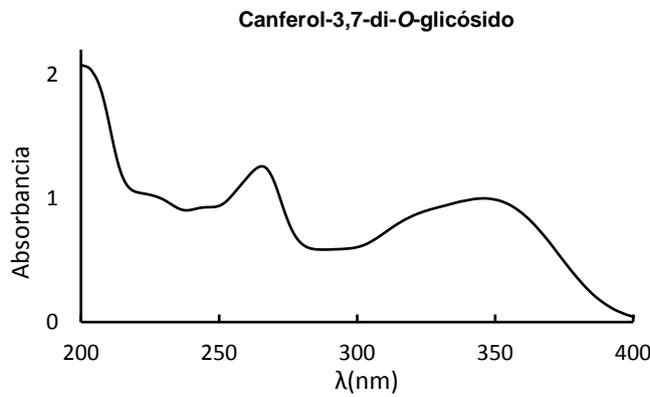


Figura 3A. Espectro DAD del Canferol-3,7-di-O-glicósido **5** de hoja de *Physalis angulata*

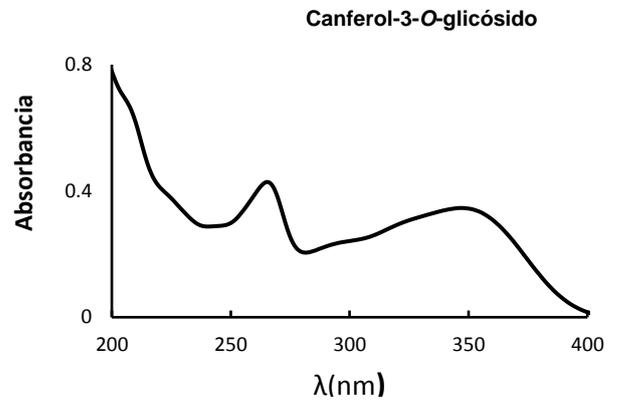


Figura 4A. Espectro DAD del Canferol-3-O-glicósido **7** de hoja de *Physalis angulata*

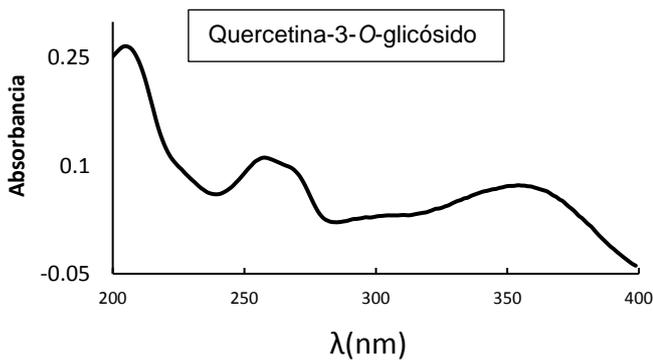


Figura 5A. Espectro DAD del Quercetina-3-O-glicósido **6** de Hoja de *Physalis angulata*.

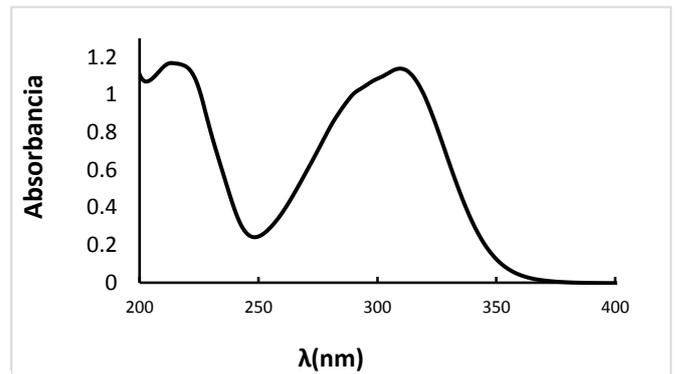


Figura 6A. Espectro DAD del Ácido fenólico **1L** de Hoja de *Physalis angulata*.