



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**Diferenciación tentativa por
metabolómica no dirigida y
caracterización fisicoquímica de tres
genotipos de uchuva (*Physalis
peruviana* L.) en tres localidades**

Diana Marcela Monroy Cárdenas

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Bogotá, Colombia

2020

Diferenciación tentativa por metabolómica no dirigida y caracterización fisicoquímica de tres genotipos de uchuva (*Physalis peruviana* L.) en tres localidades

Diana Marcela Monroy Cárdenas

Tesis o trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Director:

Ph.D. Fabrice Vaillant

Codirector:

Ph.D. Anibal Orlando Herrera

Línea de Investigación:

Calidad de los alimentos

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Bogotá, Colombia

2020

A mi hijo Juan José, quien llegó a complementar este trabajo.

Agradecimientos

Agradezco a Dios, a mi familia y a todas las personas que me brindaron su apoyo para la realización de este trabajo.

A mi director de tesis, Doctor Fabrice Vaillant, por su gran ayuda, guía y enseñanza en el área de la metabolómica no dirigida.

A mi codirector de tesis, Profesor Anibal Herrera, por su vasto conocimiento y valiosos aportes en el área de calidad de alimentos, que permitieron enriquecer el presente trabajo de investigación.

A la fundación Juan Pablo Gutiérrez Cáceres, por la beca que me otorgaron y que hizo posible realizar mis estudios de posgrado. Gracias infinitas a todos los miembros de esta fundación, de la cual espero, sigan apoyando a los profesionales colombianos.

A la Universidad Nacional de Colombia.

A la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia) por su apoyo técnico.

A los Ms. Ronnal Ortiz y William Cardona por su valiosa asesoría estadística.

A las empresas exportadoras: Ocati S. A., C. I. Caribbean Exotics S. A. y C. I. Frutireyes S. A. S., por abrirnos las puertas de sus fincas, y su apoyo operativo en las labores necesarias para llevar a cabo este estudio.

Y a todos los que directa o indirectamente, participaron en la realización de esta investigación.

Resumen

Colombia es el mayor exportador mundial de uchuva (*Physalis peruviana* L.), destacándose en el mercado internacional por sus frutos con características deseables como sabor dulce, aroma y color brillante. De las primeras variedades de uchuva registradas en Colombia, Corpoica Dorada y Corpoica Andina, aún se desconoce el comportamiento poscosecha y las diferencias metabólicas frente al ecotipo convencional y a nivel de localidad. El objetivo de esta investigación fue realizar la caracterización fisicoquímica, la detección y asignación tentativa de principales biomarcadores discriminantes en frutos de uchuva de las var. Corpoica Dorada, Corpoica Andina y ecotipo Colombia cosechados en cultivos comerciales de exportación ubicados en cuatro municipios productores: Ramiriquí (Boyacá), Granada (Cundinamarca), Gama (Cundinamarca) y San Vicente Ferrer (Antioquia). Se cosecharon frutos en madurez 4 para determinar los parámetros fisicoquímicos asociados al comportamiento poscosecha de cada unidad de medición, y posteriormente, se utilizó cromatografía líquida de ultra rendimiento acoplada a un ionizador electrospray con detectores cuadrupolo y tiempo de vuelo (UPLC-ESI (+)-QTOF/MS) para detectar los principales biomarcadores discriminantes entre genotipos y localidades. Los resultados indicaron que el ecotipo Colombia y la var. Corpoica Dorada presentaron los valores más altos para los parámetros fisicoquímicos relacionados con peso, diámetro, firmeza, índice de color y contenido de azúcares reductores. Los análisis de componentes principales (PCA) y análisis discriminatorio por regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) no pudieron discriminar grupos de biomarcadores entre genotipos, pero sí entre localidades, discriminación que se explicó sobre la base de variaciones en la temperatura, precipitación y radiación de las localidades muestreadas. Mediante el modelo de efecto principal aditivo y la interacción multiplicativa (AMMI) se determinó la estabilidad de los genotipos en los ambientes evaluados. Así para el ecotipo Colombia y la var. Corpoica Dorada, que fueron los materiales con mejor respuesta en la caracterización fisicoquímica, se encontró que, su siembra en las localidades de Granada y Ramiriquí permitió que estos materiales genéticos expresaran todo su potencial fisicoquímico, indicando interacción genotipo por ambiente.

Palabras clave: Biomarcadores discriminantes, cromatografía líquida de ultra rendimiento, uchuva (*Physalis peruviana*), metabolómica no dirigida.

Abstract

Colombia is the world's largest exporter of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.), standing out in the international market for its fruit desirable characteristics such as sweet flavor, aroma and bright color. Of the first varieties of cape gooseberry registered in Colombia, Corpoica Dorada and Corpoica Andina, post-harvest behavior and metabolic differences compared to the conventional ecotype and locality level are still unknown. The objective of this investigation was to carry out the physicochemical characterization, detection and tentative allocation of the main discriminating biomarkers in cape gooseberry fruits of the var Corpoica Dorada, Corpoica Andina and ecotype Colombia harvested in commercial export crops in four producing municipalities: Ramiriquí (Boyacá), Granada (Cundinamarca), Gama (Cundinamarca) and San Vicente Ferrer (Antioquia). Fruits were harvested at maturity 4 to determine the physicochemical parameters associated with the post-harvest behavior of each measurement unit, and subsequently, ultra-performance liquid chromatography coupled to an electrospray ionizer with quadrupole and time-of-flight detectors (UPLC-ESI (+)-QTOF / MS) were used to detect the main discriminating biomarkers between genotypes and localities. The results indicated that the Colombia ecotype and the var. Corpoica Dorada indicates the highest values for physicochemical parameters related to weight, diameter, firmness, color index and content of reducing sugars. Principal component analysis (PCA) and partial least squares regression discriminatory analysis (PLS-DA) could not discriminate groups of biomarkers between genotypes, but between localities, discrimination that was specified based on variations in temperature, concentration and radiation of the sampled localities. The tentatively assigned compounds that were the most discriminating. Through the additive main-effects and multiplicative interaction model (AMMI) the stability of the genotypes in the evaluated environments were determined. Thus, for Colombia ecotype and the var. Corpoica Dorada, which reported the best response in physicochemical characterization, when planted in the localities of Granada and Ramiriquí, allow to express their full physicochemical potential, suggesting gene–environment interaction.

Keywords: Discriminant biomarkers, ultra-performance liquid chromatography, cape gooseberry (*Physalis peruviana*), non-directed metabolomics.

Contenido

Introducción.....	19
Marco Teórico.....	24
1.1 Generalidades de la uchuva.....	24
1.1.1 Cultivo y exportación de uchuva (<i>Physalis peruviana</i> L.)	24
1.1.2 Variedades y ecotipos en Colombia	27
1.2 Composición fisicoquímica y nutricional de la uchuva.....	29
1.2.1 Valor nutricional del fruto de uchuva	32
1.2.2 Contenido de minerales en el fruto de uchuva	34
1.2.3 Compuestos biofuncionales en el fruto de uchuva según su propiedad.....	35
1.3 Técnicas analíticas para la determinación de biomarcadores discriminantes en productos de origen vegetal.....	43
1.3.1 Flujo de trabajo en el análisis por metabolómica no dirigida.....	45
1.4.1.1. Recolección y preparación de muestras.....	46
1.4.1.2. Separación de metabolitos	46
1.4.1.3. Detección de metabolitos.....	50
1.4.1.4. Data mining y extracción.....	52
1.4.1.5. Análisis de datos e interpretación	52
1.4 Influencia de factores abióticos sobre las características fisicoquímicas y la producción de metabolitos secundarios en frutos	53
2. Materiales y Métodos	59
2.1. Material Vegetal.....	59

2.2.	Localización	59
2.3.	Procedimiento general	60
2.4.	Determinación de variables físicas y químicas de frutos de uchuva.....	61
2.5.	Obtención de biomarcadores discriminantes	64
2.5.1.	Obtención de extractos	64
2.5.2.	Análisis instrumental.....	65
2.5.3.	Procesamiento y análisis de datos.....	66
2.5.4.	Discriminación y tentativa identificación de principales biomarcadores por ESI (+)-QTOF/MS	68
2.6.	Determinación del efecto de interacción genotipo x ambiente sobre las variables físicoquímicas y biomarcadores discriminantes	68
3.	Resultados y discusión	71
3.1.	Determinación de las características físicoquímicas de frutos de uchuva var. Corpoica Dorada, Corpoica Andina y ecotipo Colombia en las localidades cosechadas.....	71
3.1.1.	Peso y diámetro del fruto.....	72
3.1.2.	Firmeza	74
3.1.3.	Pigmentación y cambio de color	76
3.1.4.	Variables físicoquímicas (pH, SST, acidez total titulable e índice de madurez.....	79
3.2.	Detección de los principales biomarcadores discriminantes de uchuvas variedad Corpoica Dorada, Corpoica Andina y ecotipo Colombia en las localidades cosechadas	85
3.2.1.	Análisis de componentes principales.....	85
3.2.2.	Análisis PLS-DA.....	86
3.3.	Determinación del efecto del genotipo y el ambiente sobre las características físicoquímicas y los principales biomarcadores discriminantes de frutos de uchuva	

de las var. Corpoica Dorada, Corpoica Andina y ecotipo Colombia en las localidades cosechadas	93
4. Conclusiones generales	101
Recomendaciones.....	103
Literatura citada	104

Lista de figuras

Figura 1. Comparación de A) Análisis HPLC-MS y B) UPLC-MS en muestras de orina dispuestos en un mapa 3D para observar las diferencias en la información generada mediante las dos técnicas (Tomado de García, 2013).....	49
Figura 2. Tabla de color de la uchuva	61
Figura 3. Análisis de componentes principales (PCA) de los análisis por UPLC-ESI (+)-QTOF-MS de extractos de tres genotipos de uchuva cultivadas en tres departamentos productores de Colombia.	86
Figura 4. “Score scatter plot” de 11 unidades muestreadas (más repeticiones) por regresión PLS-DA de iones de metabolitos “X” tomando como respuesta (“Y”) las localidades muestreadas ($R^2X_{cum}= 0,424$, $R^2Y_{cum}= 0,768$ y $Q^2_{cum}= 0,47$, CV-Anova=0,059).....	87
Figura 5. “Loading plot” de iones de metabolitos detectados por UPLC – ESI (+)QTOF/MS “X” por regresión PLS-DA tomando como respuesta (“Y”) las localidades muestreadas ($R^2X_{cum}= 0,424$, $R^2Y_{cum}= 0,768$ y $Q^2_{cum}= 0,47$, CV-Anova=0,059). Puntos rojos indican principales iones de metabolitos discriminantes.	88
Figura 6. Representación gráfica biplot de la asociación de los genotipos con las localidades particulares respecto a los dos primeros ejes de componentes principales del análisis AMMI para las variables físicas evaluadas en los frutos.....	95
Figura 7. Representación gráfica biplot de la asociación de los genotipos con las localidades particulares respecto a los dos primeros ejes de componentes principales del análisis AMMI para las variables físicoquímicas evaluadas en los frutos.	98
Figura 8. Representación gráfica biplot de la asociación de los genotipos con las localidades particulares respecto a los dos primeros ejes de componentes principales del análisis AMMI para los iones de metabolitos discriminantes con mayor VIP encontrados.	99

Lista de tablas

Tabla 1. Área y producción departamental de la uchuva en Colombia 2018.....	26
Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos de frutos frescos de uchuva (<i>Physalis peruviana</i> L.).	30
Tabla 3. Composición nutricional del fruto de uchuva (<i>Physalis peruviana</i> L.) por cada 100 g de muestra.....	33
Tabla 4. Fitoquímicos antioxidantes presentes en el jugo de uchuva.....	38
Tabla 5. Clasificación y definición de enfoque en metabolómica dirigida y no dirigida	44
Tabla 7. Localización geográfica y descripción de las principales características climáticas y edáficas de las localidades muestreadas.	60
Tabla 8. Medias corregidas por mínimos cuadrados, error estándar medio y valor-P de variables físicas de frutos de uchuva de tres genotipos en tres localidades.	71
Tabla 9. Anova para el peso de frutos de uchuva de tres genotipos en tres localidades diferentes.....	72
Tabla 10. Efecto del genotipo y ambiente sobre el peso del fruto de uchuva.....	72
Tabla 11. Efecto del genotipo y ambiente sobre el diámetro ecuatorial del fruto de uchuva.....	73
Tabla 12. Anova para la firmeza (N) de frutos de uchuva de tres genotipos en tres localidades diferentes.....	74
Tabla 13. Efecto del genotipo y ambiente sobre la firmeza (N) del fruto de uchuva...	75
Tabla 14. Coordenadas colorimétricas de los frutos de tres genotipos de uchuva en EM 4.....	77
Tabla 15. Color de la epidermis de frutos de uchuva de las variedades Corpoica Andina, Corpoica Dorada y ecotipo Colombia cosechadas en tres localidades.....	78

Tabla 16. Medias corregidas por mínimos cuadrados, error estándar medio y valor-P de variables físicoquímicas de frutos de uchuva de tres genotipos en tres localidades.	79
Tabla 17. Efecto del genotipo y ambiente sobre el pH de frutos de uchuva.....	80
Tabla 18. Anova para la variable SST de frutos de uchuva de tres genotipos cultivados en tres localidades.....	80
Tabla 19. Efecto del genotipo y ambiente sobre los sólidos solubles totales de frutos de uchuva.....	80
Tabla 20. Anova para la variable ATT de frutos de uchuva de tres genotipos cultivados en tres localidades.....	83
Tabla 21. Efecto del genotipo y ambiente sobre la acidez total titulable de frutos de uchuva.....	83
Tabla 22. Efecto del genotipo y ambiente sobre el índice de madurez de frutos de uchuva.....	84
Tabla 23. Variables de influencia en la proyección (VIP) discriminantes de mayor capacidad discriminante en el modelo PLS-DA y asignación tentativa de iones de metabolitos mediante bibliotecas espectrales.....	89
Tabla 24. Anova para biomarcadores discriminantes de frutos de uchuva de tres genotipos en tres localidades diferentes	100

Lista de Símbolos y abreviaturas

Símbolos

Símbolo	Término
g	Gramo
t	Tonelada
ha	Hectárea
mg	Miligramos
SST	Sólidos solubles totales
Kg	Kilogramo
RT	Tiempo de retención

Abreviaturas

Símbolo	Término
AMMI	Modelo de efecto principal aditivo y la interacción multiplicativa
ESI	Ionización por electroaspersión
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
LC	Cromatografía líquida
MS	Espectrometría de masas
PCA	Análisis de componentes principales

XVI Diferenciación tentativa por metabolómica no dirigida y caracterización fisicoquímica de tres genotipos de uchuva (*Physalis peruviana* L.) en tres localidades

PLS-DA análisis discriminador por regresión de mínimos cuadrados
parciales

QTOF Cuadrupolo tiempo de vuelo

ROS Especies reactivas de oxígeno

RAE Equivalente de actividad de retinol

UPLC Cromatografía líquida de ultra rendimiento

VIP Variables de importancia para la proyección

EM Estado de madurez

Introducción

La producción frutícola en Colombia tiene un alto impacto económico y social ya que se constituye como una actividad realizada, en su mayoría, por pequeños productores lo que representa un apoyo nutricional básico en la dieta de la población nacional; en las últimas décadas, el cultivo de uchuva (*Physalis peruviana L.*) se convirtió en la alternativa de producción agrícola con mejor perspectiva e interés en el mercado internacional, derivado de las características nutricionales y propiedades medicinales que posee este fruto (Olivares et al., 2016).

Actualmente, Colombia es el mayor exportador mundial de uchuva debido al apetecido sabor dulce, aroma y color brillante que caracteriza los frutos producidos en las condiciones agroecológicas de la zona ecuatorial (Fischer et al., 2014). Su producción creció a una tasa del 42,6% entre 1993 y 2008 y para el 2016 reportó 15.111 t en 1.023 ha con las mayores contribuciones en producción y área sembrada provenientes de los departamentos de Boyacá (5.736 t), Cundinamarca (1.770 t) y Antioquia (2.427 t) (Agronet, 2019).

Aunque la producción nacional es provista principalmente por el ecotipo Colombia (García et al., 2008; Fischer et al., 2011), las primeras variedades de uchuva Corpoica Dorada y Corpoica Andina recientemente registradas, mostraron características sobresalientes de rendimiento, grados brix y tamaño de fruto durante las pruebas de evaluación agronómica (PEA) realizadas en el altiplano cundiboyacense, Antioquia y Nariño, haciendo de estas una excelente alternativa para aumentar la producción y comercialización de uchuva colombiana (Corpoica, 2016a; Corpoica, 2016b).

Debido aún al desconocimiento en el comportamiento de las propiedades físicas y químicas de cada genotipo como antecedente para la obtención de productos de alto valor agregado, es importante realizar su caracterización fisicoquímica, y con ello, cualquier aporte que se realice a este sistema de producción tendrá gran impacto en la economía de productores, comercializadores y consumidores.

En la actualidad la demanda de los consumidores se dirige a la búsqueda de alimentos que proporcionen, además de un valor nutritivo, un beneficio fisiológico adicional para mejorar la calidad de vida y reducir el riesgo de presentar enfermedades crónicas y degenerativas (Kim et al., 2016). Se ha demostrado que el consumo de alimentos de origen vegetal con alto contenido de compuestos bioactivos con potencial antioxidante, como vitaminas, carotenoides, flavonoides y otros compuestos fenólicos, tienen efectos protectores contra enfermedades neurodegenerativas, disfunciones cardiovasculares, diabetes e incluso el cáncer (Bishayee y Sethi, 2016; Wang et al., 2012; Xiao et al., 2014).

De acuerdo con lo señalado, las frutas han sido catalogadas como la principal fuente de sustancias biológicamente activas; así las cosas, la uchuva cuya composición química ha mostrado alto contenido de vitaminas A, C, D, E y del complejo B y antioxidantes (carotenoides, fitoesteroles, fisalinas, witanólidos y polifenoles), entre otros, ha manifestado potencial actividad antioxidante, antidiabética, antihepatóxica, antihepatoma, antiinflamatoria y anticancerígena (Nawirska-Olszańska et al., 2017; Sathyadevi y Subramanian, 2015; Sathyadevi et al., 2014; Ramadan, 2011).

Estudios previos demuestran que la síntesis y acumulación de compuestos fitoquímicos en las plantas depende críticamente de factores físicos y condiciones ambientales a las que estén sometidas (Gobbo-Neto y Lopes, 2007; Ganzera et al., 2008; Ramakrishna y Ravishankar, 2011; Gouvea et al., 2012; Lin-Wang et al., 2011; Huan et al., 2012; Verma y Shukla, 2015; Griesser et al., 2015). Dentro de la amplia variedad de factores precosecha que regulan la biogénesis de metabolitos secundarios en las plantas, la

selección de cultivares, las etapas de desarrollo del cultivo, el pH y fertilidad del suelo y la época de cosecha, tienen gran influencia sobre la concentración de compuestos volátiles y derivados fenólicos.

De otro lado, los factores climáticos a los que esté expuesta la planta, incluyendo la temperatura, radiación UV-Vis, disponibilidad hídrica y la duración, intensidad y cantidad de radiación, pueden generar reacciones de estrés en la planta, que generalmente, aumentan la concentración de un metabolito secundario (Björkman et al., 2011; Gouvea et al., 2012). En Colombia es amplia la oferta climática que se adapta a los requerimientos fisiológicos del cultivo de la uchuva y nuevas variedades comerciales que podrían presentar diferencias en su composición metabólica, aún en la misma etapa de maduración.

Son pocas las metodologías analíticas que permiten evaluar la contribución de los factores genéticos y/o ambientales a la modificación del metabolismo de un órgano o tejido en un momento de desarrollo concreto. En este sentido, la metabolómica no dirigida como disciplina de reciente desarrollo, permite abordar el estudio no sesgado del conjunto de moléculas que constituyen los metabolitos presentes en un sistema biológico mediante la identificación de patrones de biomarcadores y vincularlo con su calidad final (Vallverdu-Queralt y Lamuela-Raventos, 2016; Oliver et al., 1998).

La combinación de la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas proporciona la separación, identificación y cuantificación de componentes de bajos pesos moleculares, que, sumado a un proceso bioinformático, permite la clasificación de los individuos en relación con su análisis de su composición metabólica particular (Dixon et al., 2006). Su aplicación ha estado enfocada en la autenticación de alimentos, la identificación de propiedades organolépticas y metabolitos indicadores y el desarrollo de alimentos funcionales, entre otros, razón por lo que la industria alimentaria ha ganado un creciente interés en esta metodología (Cubero-Leon, De Rudder y Maquet, 2018; González Torrivilla et al., 2017).

Sobre la base de las ideas expuestas, la presente investigación tuvo como objetivo determinar las características fisicoquímicas y principales biomarcadores discriminantes de frutos de uchuva de las variedades Corpoica Dorada, Corpoica Andina y ecotipo Colombia, producidas en los departamentos de Boyacá, Cundinamarca y Antioquia, lo cual contribuirá positivamente en el conocimiento de la composición química propia de las variedades comerciales de uchuva sembradas en las regiones de mayor producción en Colombia.

Objetivo general

Detectar los principales biomarcadores discriminantes por metabolómica no dirigida y determinar las características fisicoquímicas de frutos de uchuva de las var. Corpoica Dorada, Corpoica Andina y ecotipo Colombia, producidas en los departamentos de Boyacá, Cundinamarca y Antioquia.

Objetivos específicos

1. Determinar las características fisicoquímicas de los frutos de uchuva de las var. Corpoica Dorada, Corpoica Andina y ecotipo Colombia, producidas en los departamentos de Boyacá, Cundinamarca y Antioquia.
2. Detectar y asignar tentativamente los principales biomarcadores discriminantes de uchuvas de las var. Corpoica Dorada, Corpoica Andina y ecotipo Colombia, producidas en los departamentos de Boyacá, Cundinamarca y Antioquia.
3. Determinar el efecto del genotipo y el ambiente sobre las características fisicoquímicas y los principales biomarcadores discriminantes de frutos de uchuva de las var. Corpoica Dorada, Corpoica Andina y ecotipo Colombia, producidas en los departamentos de Boyacá, Cundinamarca y Antioquia.

1. Marco Teórico

1.1 Generalidades de la uchuva

1.1.1 Cultivo y exportación de uchuva (*Physalis peruviana* L.)

La uchuva es una planta silvestre perteneciente a la familia Solanaceae, que se encuentra distribuida en las zonas altas de Suramérica, su centro de origen se ubica en las zonas andinas peruanas donde se expandió a otras del trópico y subtropico (Legge, 1974; Ramirez et al., 2008). La planta posee varias denominaciones entre ellas capulí, uvilla, aguaymanto, “goldenberry”, “cape gooseberry” y rasbhari (Fischer et al., 2011) y generalmente se consume en fresco o en preparaciones tales como jugos, salsas y conservas debido a su sabor único y dulce (Osorio et al., 2016).

Este frutal se adapta fácilmente a una amplia gama de condiciones agroecológicas; en Colombia, crece entre los 1.500 y los 3.000 msnm, pero los mejores cultivos se ubican a una altura entre los 1.800 y los 2.800 msnm, con una temperatura promedio que oscile entre los 13 y 18 °C y una pluviosidad entre 1.000 y 2.000 mm anuales bien distribuidos. Además, requiere de una humedad relativa promedio de 70 a 80% y de suelos bien drenados con un pH entre 5,5 y 7,0 y ricos en materia orgánica (Fischer y Miranda, 2012). Su hábito de crecimiento es indeterminado, por lo cual, el desarrollo de nuevas ramas, hojas y flores ocurre simultáneamente (Fischer et al., 2011). Desde la germinación de la planta hasta la primera cosecha transcurren aproximadamente nueve meses, dependiendo de la altitud, en zonas más altas este período es más largo.

Una vez empieza la cosecha, esta es continua, permitiendo realizar una recolección semanal y en ocasiones dos, dependiendo de los grados de madurez y los requerimientos del mercado. El fruto de uchuva es una baya jugosa, color amarillo-anaranjado, casi redonda, de 1,25 a 2,5 cm de diámetro y peso entre 4 y 10 g, protegida por un cáliz o capacho, formado por cinco sépalos que encierra el fruto totalmente hasta su madurez, que hace una barrera contra insectos, pájaros, patógenos y condiciones climáticas extremas (Fischer et al., 1997).

Según las condiciones agroecológicas en las que se establezca la planta, el desarrollo del fruto necesitará entre 60 y 80 días para alcanzar su madurez fisiológica (Fischer y Miranda, 2012), siendo más tardío el pico de producción a bajas temperaturas. Durante su maduración, el fruto presenta varios cambios físicos y metabólicos reflejados en la ganancia constante de peso hasta el día 60 de su desarrollo, crecimiento transversal y cambio de color verde a naranja debido a la degradación de clorofilas y acumulación de carotenoides, principalmente β -caroteno (Balaguera, 2015). Al mismo tiempo se presenta disminución de la firmeza del fruto al incrementar la producción de etileno y la tasa respiratoria por lo que se considera un fruto climatérico (Trincherro et al., 1999; Gutiérrez et al., 2008). La vida útil del fruto con cáliz es de aproximadamente un mes, mientras que sin cáliz es de 4 a 5 días aproximadamente (Cedeño y Montenegro, 2004).

En Colombia la producción de uchuva aumentó considerablemente durante el periodo 2012-2016 pasando de 11.305 t en el 2012 a 15.111 t producidas y un área cultivada de 757,83 a 1.023 ha, representando un incremento de 33,66 y 35%, respectivamente (Analdex, 2018). Se cultiva en los departamentos de Antioquia, Boyacá, Cundinamarca, Huila, Magdalena, Norte de Santander y Tolima (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.), situación que ha mantenido la producción de este cultivo como oligopolio debido a la desarrollada adaptación de este cultivo a altitudes entre los 1.500 y 3.000 msnm. Los departamentos de mayor producción son Boyacá, Cundinamarca y Antioquia con una participación de las tres regiones del 86% en las toneladas producidas y 78% de los cultivos destinados a la uchuva.

Tabla 1. Área y producción departamental de la uchuva en Colombia 2018

Fuente: (Analdex, 2018)

Departamento	Área cosechada (ha)	Producción (t)	Rendimiento (t ha⁻¹)
Antioquia	143,6	3442,9	24,0
Boyacá	357,3	6115,4	17,1
Cauca	43	344	8,0
Cundinamarca	307,2	3457,7	11,3
Nariño	61	509	8,3
Norte de Santander	54	526	9,7
Santander	47	636,8	13,5
Tolima	10	80	13,5
TOTAL	1023,1	15111,8	-

Para el año 2018, la exportación de uchuva tuvo un valor de USD FOB 32.4 millones y un volumen de 7.271 t netas con principal destino a Países Bajos, Alemania, Estados Unidos, Reino Unido, Canadá y Bélgica (Analdex, 2019). Su creciente interés atribuido a sus potenciales propiedades medicinales y características nutricionales implica que el cultivo de uchuva represente una alternativa económica muy importante para muchos países productores tropicales y subtropicales (Corrales et al., 2015). Incluso fue incluido en la lista de “Superfrutos” por su alto contenido de vitaminas, minerales y fibra (Superfruit, 2011).

1.1.2 Variedades y ecotipos en Colombia

El cultivo de uchuva dispone de pocas variedades y muchos genotipos adaptados a las condiciones edafoclimáticas de regiones productoras específicas, conocidos como ecotipos. En Colombia a finales de la década de los ochenta se introdujeron al departamento de Boyacá dos ecotipos africanos, procedentes de Kenia y Sudáfrica; estudios realizados por Menzel (1951), probaron que el número de cromosomas de la especie *P. peruviana* es $2n = 48$, sin embargo, Rodríguez y Bueno (2006), demostraron que la uchuva presenta un polimorfismo en el número de cromosomas dependiendo del ecotipo, encontrando para genotipos silvestres un número de $2n = 24$, para el ecotipo Colombia $2n = 32$ y para el ecotipo Kenia $2n = 48$.

El Banco Nacional de Germoplasma de Colombia, administrado por la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia), posee una colección de 57 accesiones de uchuva, de las cuales 48 son nativas de Colombia, principalmente de los Departamentos de Antioquia, Boyacá, Caldas, Cundinamarca y Nariño, y nueve son de otros países (Valencia et al., 2010). Así mismo, la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, posee una colección de 54 accesiones obtenidas de campos cultivados y de plantas de crecimiento espontáneo (silvestres) en Cundinamarca, Boyacá, Santander y Norte de Santander.

Estudios realizados en accesiones provenientes de Antioquia, Cundinamarca, Boyacá, Santander y Norte de Santander mostraron que las accesiones cultivadas son superiores en términos de rendimiento y peso del fruto, mientras que las accesiones silvestres son superiores en términos de número de frutos por planta, ausencia de rajado del fruto y alta concentración de sólidos solubles totales (Herrera et al., 2012). Además, se concluyó que, de las accesiones analizadas, la estructura genética se organiza en dos grupos principales, silvestre y cultivado, y no respecto al origen geográfico (Garzón-Martínez et al., 2015).

A la fecha el material de siembra de las plantaciones comerciales de uchuva en el país consiste en selecciones de plantas que los productores realizan en sus propias fincas o

de viveristas. Estos materiales de siembra provienen de plantas derivadas de posibles mezclas de los tres ecotipos predominantes, Colombia, Kenia y Sudáfrica, debido a su naturaleza prevalentemente alógama, por lo que no existían materiales genéticos comerciales de referencia o variedades o híbridos.

Teniendo en cuenta lo anterior, la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia) en 2016, registró las primeras variedades de uchuva para Colombia denominadas Corpoica Dorada y Corpoica Andina, seleccionadas de acuerdo con las características intrínsecas de cada material respecto al rendimiento, sólidos solubles totales y peso de fruto. Estas son las primeras variedades generadas en laboratorio, en el Centro de Investigación Tibaitatá (Mosquera, Cundinamarca), a través de la técnica de cultivo in vitro de anteras, utilizando plantas de cultivos comerciales, los cuales posteriormente se caracterizaron en invernadero y se evaluaron en parcelas de campo para luego someterla a las pruebas de evaluación agronómica (PEA) (Corpoica, 2016a; Corpoica, 2016b).

Las pruebas realizadas en Antioquia, Boyacá, Cundinamarca y Nariño, utilizando tres localidades en cada departamento, arrojaron como conclusión que estas variedades presentan rendimientos de categoría de exportación superiores respecto al genotipo testigo sembrado convencionalmente (ecotipo Colombia). Puntualmente, estas variedades registraron rendimientos nacionales promedio de 306,38 kg/ha para Boyacá-Cundinamarca y de 219,93 kg/ha para Antioquia frente a 216,57 kg/ha para Boyacá-Cundinamarca y 213,81 kg/ha para Antioquia del ecotipo Colombia (Corpoica, 2016a; Corpoica, 2016b). Sin embargo, aún no se han determinado sus características físicoquímicas ni sus diferencias metabólicas frente al ecotipo convencional y su respuesta en diferentes condiciones climáticas.

1.2 Composición fisicoquímica y nutricional de la uchuva

Debido a su condición climatérica, la uchuva presenta varios cambios metabólicos durante su madurez y/o poscosecha. La producción autocatalítica de etileno junto con el incremento en la tasa respiratoria regulan la mayoría de los procesos físicos, bioquímicos y fisiológicos (Balaguera, 2015). Sumado a esto, los atributos ligados a los cambios fisicoquímicos del fruto pueden verse influenciados por factores precosecha, en su mayoría ambientales.

Diversas caracterizaciones de variedades comerciales de uchuva se han realizado en los países exportadores, debido a su importancia para el manejo industrial y poscosecha (Ersoy y Bagci, 2011). Oliveira et al. (2016) determinaron las características biométricas (peso y tamaño) y físicas (color y textura) de uchucas cultivadas convencionalmente en Portugal y reportaron un diámetro promedio de $1,67 \pm 0,14$ cm que se encuentra dentro de los rangos obtenidos por Fischer et al. (2011), Lucchese et al. (2015) y Puente et al. (2011) quienes encontraron variaciones de diámetros de fruto entre 1,25 y 2,50 cm.

Respecto al peso unitario, Oliveira et al. (2016) reportaron un promedio de $2,77 \pm 0,67$ g, siendo bajos para los reportados por Fischer et al. (2011), Lucchese et al. (2015) y Puente et al. (2011) quienes estimaron un intervalo de peso de 4 a 10 g por fruto. Variaciones que pueden ser influenciadas por condiciones climáticas y edáficas específicas de la región donde se cultive la uchuva y por el estado de madurez en que se coseche el fruto.

Para Colombia, se ha reportado la caracterización fisicoquímica de frutos de uchuva ecotipo Colombia en estado de madurez EM 6 en diferentes regiones del país (ver ¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.), las cuales registran valores para

parámetros como sólidos solubles que van de 12,5 a 15 °Brix y porcentajes de acidez de 1,72 y 2,11% de ácido cítrico.

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos de frutos frescos de uchuva (*Physalis peruviana* L.)

Parámetro fisicoquímico	Zapata, Ciro y Marulanda (2016)	Balaguera (2015)	Mendoza, Rodríguez y Millán (2012)	Marín, Cortés y Montoya (2010)
Sólidos solubles totales (°Brix)	15,0	13,17	13	14,27
pH	3,48	--	3,72	3,39
Acidez titulable (mg ácido cítrico/100 mg de muestra)	1,72	2,11	2,0	2,05
Parámetros de color	L*	--	68,69	39,04
	a*	--	15,95	4,24
	b*	--	55,79	38,93

El cambio de color en la epidermis del fruto de uchuva puede ser usado como un índice de madurez junto con otros indicadores físicos, químicos y sensoriales (Galvis et al., 2005). De acuerdo con Fischer et al. (2011), el cambio de color del cáliz y el fruto presentan sincronía. Cuando se produce la madurez fisiológica del fruto se generan cambios en el color del cáliz de verde claro a amarillo, lo que hace que esta característica sea adecuada para ser utilizada como índice de madurez (Fischer et al., 2011).

Marín (2009), identificó dos grupos homogéneos de medidas de color en frutos de uchuva, uno que incluye las medidas determinadas en el área del pedúnculo y otro en la región ecuatorial y apéndice. De acuerdo con el sistema de color CIELab, en el primer grupo, las medidas tomadas en el pedúnculo serán más claras ($>L^*$) menos rojas ($>b$) y más amarillas ($<b^*$). Este comportamiento se atribuye a la baja concentración de

carotenoides en el área del pedúnculo y a cambios fisiológicos durante la maduración del fruto, por lo que se recomienda realizar las mediciones en la zona ecuatorial del fruto mediante el uso de espectrofotometría para determinar el espectro de reflexión de las muestras, obteniendo coordenadas CIELab, donde L^* es un indicador de luminosidad, el parámetro a^* indica cromaticidad en el eje axial del verde (-) al rojo (+) y el parámetro b^* cromaticidad en el eje axial del azul (-) al amarillo (+), y a partir de estas, la determinación del índice de color asociado a la relación entre el color y las características fisicoquímicas del fruto en un momento de desarrollo definido (Césari et al., 2016).

Los resultados obtenidos para color de fruto difieren así mismo entre autores. Oliviera et al. (2016) reportaron coordenadas L^* , a^* , b^* con valores de $65,72 \pm 3,13$; $16,69 \pm 2,70$ y $57,94 \pm 3,60$ respectivamente, que corresponde a frutos claros con baja intensidad de tonalidad rojiza dentro del espectro amarillo, mientras que Puente et al. (2011) determinaron rangos de L^* entre $70,31 \pm 0,39$ y $71,37 \pm 1,10$; a^* entre $14,31 \pm 1,28$ y $15,20 \pm 0,48$ y b^* entre $60,84 \pm 3,10$ y $61,76 \pm 1,34$ para frutos ecotipo Colombia, siendo frutos más saturados hacia el naranja que los cultivados en Portugal.

Finalmente, la determinación de la firmeza resulta crucial para la aceptación del consumidor ya que es uno de los atributos que más se afecta durante el proceso de poscosecha, almacenamiento y manejo. La firmeza es la fuerza necesaria para que un producto alcance una deformación dada, lo cual refleja las transformaciones en la estructura celular, en la cohesión de las células y algunos cambios bioquímicos (Chitarra y Chitarra et al., 2005). Los frutos de uchuva se caracterizan por presentar una epidermis cerosa compuesta principalmente por resinas terpénicas con microestructuras complejas (Puente et al., 2011), lo que la convierte en una barrera para el intercambio gaseoso entre el fruto y su medio exterior.

Algunos factores que pueden influir sobre este parámetro son la respiración del fruto y la producción de etileno (Balaguera, 2015). La uchuva, al considerarse un fruto altamente perecedero con comportamiento climatérico, disminuye su firmeza durante la maduración ya que presenta producción autocatalítica de la fitohormona gaseosa

etileno, que desencadena el ablandamiento del fruto debido a la descomposición por hidrólisis de las pectinas de la lamela media y de la pared celular mediante enzimas como la poligalacturonasa y la β -galactosidasa II (Sitrit y Bennet, 1998; Morais et al., 2008) que resulta en una reducción en la adhesión intercelular, despolimerización, y solubilización de polisacáridos hemicelulósicos y pécticos de la pared celular (Brummell, 2006).

La Norma Técnica Colombiana NTC 4580 (Icontec, 1999), presenta la clasificación de frutos de uchuva respecto a sus características fisicoquímicas y sanidad para la comercialización en fresco o para agroindustria y define las variables más importantes para realizar dicha clasificación.

1.2.1 Valor nutricional del fruto de uchuva

En general, el fruto de uchuva se destaca por tener un alto contenido provitamina A, minerales, vitamina C y vitaminas del complejo B (Ramadan, 2011). El contenido de sólidos solubles en el fruto es del 15%, en su mayoría azúcares, donde el alto valor de fructosa lo hace ideal para pacientes diabéticos (Fischer, Ebert y Lüdders, 2007). Los niveles de proteína cruda, fósforo y fibra dietaria, principalmente pectina reconocida como regulador intestinal, son especialmente altos para un fruto (Rehm y Espig, 1991; Ramadan, 2011; Fischer y Miranda, 2012).

A continuación, en la [Error! No se encuentra el origen de la referencia.](#) se muestra la composición nutricional del fruto de uchuva cultivada en Colombia adaptada de reportes de Granados-Conde et al. (2017), Osorio y Roldán (2003), Leterme et al. (2006) comparada con la composición reportada por el ICBF (2015).

Tabla 3. Composición nutricional del fruto de uchuva (*Physalis peruviana* L.) por cada 100 g de muestra

Parámetro	Granados-Conde et al. (2017)	ICBF (2015)
Energía (kcal)	--	54
Humedad (%)	82,07	82,1
Proteína (%)	1,25	1,50
Grasa (%)	0,35	0,50
Carbohidratos (%)	15,44	11,0
Fibra cruda (%)	4,12	3,2
Ceniza (%)	0,89	1,70
Minerales	Leterme et al. (2006)	ICBF (2015)
Potasio (mg/100 g)	467,00	134,0
Calcio (mg)	23,00	9,00
Fósforo (mg)	27,00	23,00
Magnesio (mg)	19,00	17,0
Hierro (mg)	00,09	1,70
Zinc (mg)	0,28	
Vitaminas	Osorio y Roldán (2003)	ICBF (2015)
β-caroteno (mg)	1,40 (1.730 IU)	--
Tiamina (mg)	0,10	0,01
Riboflavina (mg)	0,17	0,17
Niacina (mg)	0,80	0,80
Ácido Ascórbico (mg)	20,0	34,0

A nivel mundial, se reportan contenidos de proteína en pulpa de uchuva en rangos que van de 0,05 g a 2,01 g por cada 100 g de muestra seca (B. S.) (Ramadan and Mörsel, 2004; Labarca et al., 2013). En Colombia, los reportes del contenido de proteína en uchuva ecotipo Colombia van desde 0,4 g/100 g muestra seca (Osorio et al., 2016) a un máximo de 1,5 g/100 g muestra seca según la tabla de composición de alimentos del ICBF (ICBF, 2015; Cortés et al., 2015).

En cuanto al contenido de grasa, se reportan rangos entre 0,2 g a 3,16 g por cada 100 g de muestra seca (Rodríguez et al., 2009). Ramadan y Morsel (2004), concluyeron que un fruto de uchuva podía contener hasta 2% de aceite, del cual 1,8% se encuentra en las semillas y el 0,2% restante en la pulpa y epidermis.

El contenido de carbohidratos en la uchuva ha reportado rangos que van de 11 g/100 g de muestra seca (ICBF, 2015) a 19,6 g/100 g muestra seca (Ramadan y Morsel, 2004). Mientras que de fibra dietaria se reportan contenidos de 16,74 g/100 g muestra seca de polvo de uchuva (Mokhtar et al., 2017).

1.2.2 Contenido de minerales en el fruto de uchuva

Los minerales son importantes cofactores y reguladores de reacciones bioquímicas. De acuerdo con los resultados reportados por Bazalar, Nazareno y Viturro (2018), la contribución del fruto de uchuva a la ingesta diaria de minerales (IDM) para mantener el buen estado de salud en una población adulta en base a 100 g de fruto fresco es nula para el sodio (0,49%) y calcio (0,88%). Sin embargo, para el potasio, manganeso y cobre, 100 g de fruto suplen por encima del 10% del IDM para potasio (10,63%) y magnesio (18,73%) y por encima de 25% del IDM para cobre (38,89%), siendo mucho mayor estos contenidos comparado a otros tipos de “berries” (Vincente et al., 2014).

Respecto al potasio, una alta ingesta en la dieta diaria protege de condiciones que pueden afectar el sistema cardiovascular; el magnesio por su parte es un mineral esencial para la síntesis de proteínas, contribuye en la liberación de energía almacenada en los músculos y ayuda a la regulación de la temperatura corporal; por último, el cobre es un mineral crítico para el sistema de defensa oxidativo y necesario para formar la hemoglobina (Vincente et al., 2014).

El contenido de hierro reportado por el ICBF (ICBF, 2015), cercano a 1,70 mg/100 g de pulpa es 5 a 15 veces mayor que el contenido de hierro reportado en frutos de papaya, manzana, naranja y fresa (Rodriguez et al., 2009). Así mismo, el contenido de fósforo muestra un alto contenido, llegando a alcanzar 292,65 mg/100 g de pulpa fresca (Carrasco y Zelada, 2008).

1.2.3 Compuestos biofuncionales en el fruto de uchuva según su propiedad

Por definición, los compuestos bioactivos son metabolitos secundarios presentes ubicuamente en el reino vegetal y aunque no se consideran nutricionales, son ingredientes vitales para el mantenimiento de la salud humana (Patil et al., 2009; Drozen y Harrison, 1998). Su composición es tal que promueve efectos beneficiosos en una o más funciones vitales en el cuerpo, más allá de su valor nutricional inherente. En los últimos años, varios compuestos bioactivos han sido sometidos a investigación sobre su potencial antioxidante, anticancerígeno y antiinflamatorio usando diferentes modelos in vitro e in vivo, así como ensayos clínicos (Bravo y Osorio, 2016; Szefer y Nriagu, 2007; Hassan et al., 2017; Zapata et al., 2016).

Se ha demostrado que la uchuva es una fuente de compuestos fitoquímicos con efectos fisiológicos en la salud humana atribuidos a su alto contenido de antioxidantes, flavonoides que confieren actividad antibacterial y antifúngica, terpenoides, vitaminas y alcaloides (Basr y Naeem, 2019).

Actividad antioxidante y antiinflamatoria

Las especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), son moléculas de radicales libres o precursoras de radicales OH, producidas cuando el cuerpo humano está sometido tanto a estrés físico como ambiental y su aparición es parte de la respuesta del sistema inmune ante la acción de estos factores negativos (Carvajal, 2019).

Los radicales libres son especies químicas que tienen un electrón no apareado y se comportan como moléculas altamente reactivas (Hicks, 2001), por lo que pueden reaccionar con diversas moléculas, incluyendo a los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares, nucleótidos en el ADN, proteínas y carbohidratos, sustrayendo electrones para lograr su estabilidad (Membrillo et al., 2003; Machlin y Bendich, 1987; Vilar-Rojas et al., 1996; Beckman y Ames, 1998), derivando alteración de ADN y proteínas, oxidación de enzimas y peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados de las membranas (Tandon y Garg, 2011).

Según Halliwell y Gutteridge (1995), el término antioxidante hace referencia a *"cualquier sustancia que, cuando está presente en bajas concentraciones en comparación con la de un sustrato oxidable, retrasa o inhibe significativamente la oxidación de ese sustrato"*. Recientemente, Halliwell (2007), definió un antioxidante como cualquier sustancia que retrase, prevenga o elimine el daño oxidativo a una molécula objetivo. Dado lo anterior, diversos tipos de antioxidantes se pueden encontrar en una matriz alimentaria, entre ellos antioxidantes naturales, dietarios, endógenos y sintéticos.

Entre los antioxidantes naturales y dietarios, los ascorbatos, tocoferoles, carotenoides y polifenoles que incluyen flavonoides y antocianinas ya son bien conocidos por su beneficio en la salud (Boskou et al., 2005). En este grupo, las sustancias más estudiadas

comprenden la vitamina C, vitamina E, carotenoides y flavonoides que también son comunes en el fruto de uchuva.

Vitaminas y carotenoides

Las vitaminas son sustancias orgánicas requeridas en pequeñas cantidades para el mantenimiento y crecimiento de los organismos vivos. Debido a que no pueden ser sintetizadas por el organismo mismo, deben ser suplidas a través de alimentos o suplementos que las contengan (Ravisankar et al., 2015). La uchuva ha demostrado tener un alto contenido de vitamina A, B, C y E en el fruto. En la **Tabla 4** se muestran los contenidos de carotenos totales, tocoferoles y ácidos grasos presentes en el jugo de uchuva.

Algunos carotenoides, como precursores de la vitamina A, son responsables por la coloración naranja del fruto y su actividad antioxidante actúa contra radicales libres generados en los tejidos, por ello su relación hacia la prevención de ciertas enfermedades degenerativas (Castro et al., 2008).

Los principales componentes activos de la vitamina A en los frutos son el α -caroteno, β -caroteno y β -criptoxantina (Fischer et al., 2000). El β -caroteno juega un papel crucial en la visión, división y diferenciación celular, desarrollo óseo y reproducción. Diversos autores han reportado contenidos de β -caroteno en frutos de uchuva entre 0,34 y 1,77 mg/100 g de fruto fresco (Zelada et al., 2012; Fischer et al., 2000), estando incluso por encima del contenido de β -caroteno reportado para zanahoria (1,1 mg β -caroteno/100 g peso fresco) (USDA, 2017). Por otro lado, los derivados oxigenados de carotenos, conocidas como xantofilas, con mayor concentración en frutos de uchuva en etapa de maduración intermedia incluyen la luteína y zeaxantina (Botella-Pavía y Rodríguez-Concepción, 2006).

En cuanto al contenido de provitamina A, reportes de Puente et al. (2010) mostraron contenido de β -caroteno en frutos de uchuva en 1460 mg/100 g, mientras que Labarca et al. (2013) reportó 1047,67 mg/100 g.

Tabla 4. Fitoquímicos antioxidantes presentes en el jugo de uchuva

Fitoquímico	Unidades	Osorio et al. 2016
<i>Fenoles totales</i>	mg GAE/100 mL	6,30
<i>Tocoferoles</i>		
α -tocoferol	g/Kg	28,3
β -tocoferol	g/Kg	15,2
γ -tocoferol	g/Kg	45,5
<i>Ácidos grasos</i>		
Ácido graso saturado (SFA)	%	22,7
Ácido graso monoinsaturado (MUFA)	%	31,9
Ácido graso poliinsaturado (PUFA)	%	44,4

Se destacan también el contenido de tiamina (vitamina B₁) con un contenido de 0,1 mg/100 g, niacina (vitamina B₃) con contenidos reportados desde 0,80 a 1,70 mg/100 g (Ramadan y Morsel, 2004) y el contenido de ácido ascórbico (vitamina C), considerado el antioxidante hidrosoluble más importante, con rangos de 20 a 34 mg/100 g (Osorio y Roldán, 2003; ICBF, 2015) que muestran la importante actividad antioxidante neutralizando especies reactivas de oxígeno en fase acuosa antes de iniciar la peroxidación de lípidos (Naidu, 2003).

Entre otros antioxidantes, Ramadan et al. (2003) reportaron que el contenido de vitamina E en el extracto oleoso de la pulpa y epidermis del fruto de uchuva era extremadamente alto, siendo el contenido de α -tocoferol de 22,50 g/kg de lípidos totales, mientras que el β -tocoferol de 13,10 g/kg de lípidos totales. La vitamina E, es el principal antioxidante liposoluble que protege los ácidos grasos de la membrana de la peroxidación lipídica (Febles, 2002).

Estudios previos realizados por Ramadan (2011) en frutos de uchuva emplearon cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detector con arreglo de fotodiodos (PDA) y espectrometría de masas (MS/MS) para la determinación estructural de diversos compuestos, entre los que lograron identificar 22 compuestos carotenoides reportando como principales carotenoides el all-trans- β -caroteno, seguido del 9-cis- β -caroteno y la all-trans- α -criptoxantina.

Flavonoides

Los principales ingredientes nutracéuticos activos en las plantas son los flavonoides; como es típico de los compuestos fenólicos, pueden actuar como potentes antioxidantes y quelantes de metales y se les reconoce, desde hace mucho tiempo, su actividad antiinflamatoria, antialérgica, hepatoprotectora, antitrombótica, antiviral y anticancerígena (Tapas, Sakarkar y Kakde, 2008).

Químicamente, estas sustancias son de naturaleza fenólica y se caracterizan por poseer dos anillos aromáticos bencénicos unidos por puente de tres átomos de carbono, con la estructura C₆-C₃-C₆, los cuales pueden o no formar un tercer anillo (Cartaya y Reynaldo, 2001; Harborne y Baxter, 1999). Los flavonoides naturales suelen presentar al menos tres hidroxilos fenólicos combinados con azúcares en forma de glicósidos (Moon y Morris, 2006). Varios subgrupos de flavonoides son clasificados de acuerdo con la sustitución y estado de oxidación del anillo heterocíclico y la posición del segundo anillo o anillo B (Harborne y Baxter, 1999). Ejemplos de estos subgrupos son las flavonas, flavonoles, flavanonas, antocianidinas, isoflavonas y auronas (Cartaya y Reynaldo, 2001).

Entre los flavonoides más abundantes en la dieta humana, los flavonoles destacan por presentar altas concentraciones tanto en frutas como verduras. Entre los más representativos, la quercetina, el kaempferol, la morina, la miricetina y la rutina, exhiben, además de su actividad antioxidante, efectos antiinflamatorios, antialérgicos, antivirales y anticancerígenos (Tapas, Sakarkar y Kakde, 2008; Fraga et al., 1987).

Hakkinen et al. (1998), por medio de HPLC, concluyeron que más del 50% de los compuestos fenólicos analizados en bayas comestibles corresponden a flavonoles. En la uchuva, la quercetina es el principal compuesto fenólico, seguido de miricetina y kaempferol (Ramadan y Mörsel, 2007). Ertürk et al., (2017) reportaron el contenido flavonoide total en extractos etanólicos de diferentes órganos de la planta de *Physalis peruviana*, siendo de 0,423 mg quercetina (QE)/g de muestra en el fruto y de 0,737 mg QE/ g muestra en la semilla usando HPLC. Por su parte, Areiza-Mazo, Maldonado y Rojano (2013) determinaron el contenido flavonoide total en frutos de uchuva recolectados en el departamento de Cundinamarca por medio de un ensayo colorimétrico con cloruro de aluminio, reportando 487,1±7,5 mg catequina/100 g de extracto liofilizado de uchuva.

Actividad antiinflamatoria, inmunomoduladora y antitumoral

Witaesteroides

Son los compuestos más reportados para la especie *Physalis peruviana*, que junto con los capsaicinoides y las saponinas representan metabolitos secundarios específicos de algunos taxones de la familia Solanaceae. Los witaesteroides son sin duda los metabolitos más abundantes en el género *Physalis*, por lo que se considera que el nivel de oxidación biogenética del género *Physalis* es el más evolucionado de la familia Solanaceae (Tomassini et al., 2000).

Desde el punto de vista estructural, los witaesteroides, que son un conjunto de esteroides naturales de veintiocho átomos de carbono, los cuales contienen el esqueleto base del ergostano, y en el cual el carbono 26 se encuentra oxidado formando una δ -lactona (SanFeliciano et al., 2008), tienen la capacidad de generar una gran variedad de estructuras, que pueden subdividirse en ocho grupos principales, los witanólidos, witanólidos modificados (anillos A o D aromáticos), wita fisalinas, acnistinas, ixocarpalactonas, perulactonas y fisalinas (Hernández, 2015).

Por sus características estructurales, la mayoría de estos compuestos suelen aislarse de los extractos obtenidos con disolventes de polaridad media, como cloroformo y éter etílico o con disolventes más polares, como metanol y etanol (Medina, 2012).

Witanólidos

Es el grupo más abundante de lactonas esteroidales aisladas de diversos géneros de la familia Solanacea, entre ellas el género *Physalis*. Exhiben un amplio espectro de propiedades biológicas y farmacológicas, incluyendo actividad insecticida, hepatoprotectora, inmunosupresora, antibacteriana, antiinflamatoria, antitumoral, citotóxica y antioxidante (Chen et al., 2011; Lan et al., 2009; Sun et al., 2016; Khan et al., 2009). Estos compuestos tipo witaesteroides provienen de metabolitos secundarios específicos de la especie *Physalis peruviana*, de la cual, hasta el 2012, se habían aislado y caracterizados al menos 17 witanólidos (Lan et al., 2009; Fang, Liu y Li., 2012).

Se conocen como precursores de wita fisalinas y acnistinas; se subdividen en dos clases principales de acuerdo con la orientación (α o β) de la cadena lateral ubicada sobre el C-17: del tipo α se encuentran reportados 36, mientras que entre los β witanólidos se han reportado alrededor de 132 sustancias (Medina, 2012). Fang et al. (2012), encontraron concentraciones más altas del 4- β -hidroxiwitanólido E, que presenta citotoxicidad para diferentes tipos de cáncer como de pulmón, mama e hígado, en hojas jóvenes de plantas de uchuva, mientras que en plantas maduras el cáliz del fruto presentó mayor concentración que los frutos.

Mastuti y Soryidah (2019), por medio de análisis HPLC fueron capaces de detectar 32 tipos de compuestos witanólidos con concentraciones entre 2,76 – 51,59 $\mu\text{g/g}$ peso seco en muestras de yemas in vitro de *Physalis*. Nueve de los 32 compuestos, Wita fisanolido A, Witanólido B, Wita fisalina A, Witanólido A, Witaferin A, Witaferin A, Fisanólido A, Fisalina B y Witangulatina B presentaron alta concentración en las muestras con más de 24 $\mu\text{g/g}$ peso seco. Siete compuestos más, Witanólido D, Dihidrowitanólido E, Witangulatina E, Fisalina A, Witangulatina I, Fisalina G y Witangulatina A se detectaron entre 10-20 $\mu\text{g/g}$ peso seco. Mientras tanto, otros 16 compuestos witanólidos se detectaron solo por <10 $\mu\text{g/g}$ peso seco.

Fisalinas

Las fisalinas son sustancias inmunosupresoras utilizadas para evitar respuesta del sistema inmune ante procesos como alergias, trasplante de órganos o enfermedades autoinmunes y llegan a inhibir el crecimiento celular de leucemia humana *in vitro* (De Puente et al., 2011). Su estructura es bastante compleja ya que son lactonas sesquiterpénicas esteroidales que adicionalmente presentan una γ -lactona (Medina, 2012). Son derivados esteroidales del tipo 13,14-seco-16,24 ciclo ergostano con carbonilo en C-15 (Medina, 2012).

Se reconocen hasta el momento 19 fisalinas (A hasta S) y se dividen en 8 quimiotipos: **a)** Quimiotipo I, representado por fisalinas A y C; **b)** Quimiotipo II, por fisalinas L, M y O; **c)** Quimiotipo III por fisalinas B, D, E, F, H, I, J y N; **d)** Quimiotipo IV por fisalina G; **e)** Quimiotipo V por fisalina K y Q, **f)** Quimiotipo VI por fisalina P; **g)** Quimiotipo VII por fisalina S y **h)** Quimiotipo VIII por fisalina R (Tomassini, 2002). En el género *Physalis*, estos compuestos se originan a partir de reacciones de oxidación y/o hidratación con la fisalina B que es un precursor biogenético de la mayoría de fisalinas (Ferreira, H.I., 2005).

Magalhaes et al. (2006), reportaron que aislamientos de fisalina B y fisalina F, inhiben el crecimiento celular de leucemia humana *in vitro*. Los compuestos bioactivos mayoritarios, fisalinas (B, D y F) y glicósidos (mirecetina-3-O-neohesperidósido) han demostrado actividad anticancerígena sobre líneas celulares HA 22T (hepatoma), HeLa (cuello uterino) y KB-16 nasofaríngeo (Ismail, N., Alam, M., 2001).

1.3 Técnicas analíticas para la determinación de biomarcadores discriminantes en productos de origen vegetal

La química analítica dispone de un amplio abanico de técnicas que se fundamentan en las distintas propiedades fisicoquímicas que poseen los componentes de una muestra para lograr su separación y determinación (Borrás, 2013). En el caso de las mezclas complejas, como pueden ser los extractos vegetales o muestras biológicas, el uso de técnicas donde la detección de los analitos se realiza de manera continua a la separación, es el más extendido (Ulaszewska et al., 2018; Costa, Mafra y Oliveira, 2012).

La metabolómica permite la búsqueda, tentativa identificación y validación de marcadores por medio de técnicas espectroscópicas y espectrométricas, y modelos estadísticos, que logran identificar variedades e incluso cultivares de acuerdo con su composición química (Wolfender et al., 2013).

Aunque, los metabolitos se consideran que actúan como una traducción del fenotipo en combinación con información genética e influencia ambiental, la metabolómica puede proveer una lectura funcional del estado fisiológico o patológico de un organismo (Roessner, 2009). Cinco enfoques surgen de la clasificación como metabolómica dirigida y no dirigida, la (1) como análisis de metabolitos dirigido, (2) perfil de metabolitos, (3) huellas metabólicas, (4) metabonómica y (5) metabolómica (Patti, Yanes y Siuzdak, 2012) que se describen a continuación en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Clasificación y definición de enfoque en metabolómica dirigida y no dirigida

Enfoque	Definición
Análisis de metabolitos dirigido	Incluye la identificación y cuantificación de un pequeño conjunto de metabolitos (metabolitos objetivo) utilizando las técnicas analíticas más adecuadas para evitar interferencias (Griffiths et al., 2010)
Perfil de metabolitos	Similar al análisis dirigido, pero tiene como objetivo analizar una mayor cantidad de compuestos (conocidos y desconocidos) con respecto a su naturaleza química o vías metabólicas (Goodacre et al., 2004)
Huellas metabólicas	Consiste en la clasificación rápida de muestras biológicas por generación de "firmas" metabólicas con el fin de compararlas en poblaciones más grandes y por lo tanto detectar diferencias entre muestras. Una vez se detectan señales discriminatorias, se pueden identificar metabolitos y dilucidar su relevancia biológica. Por lo general este enfoque no requiere la identificación y cuantificación de metabolitos individuales, y es un análisis semicuantitativo (Oldiges et al., 2007)
Metabonomía	Se define como la medida de las respuestas metabólicas causadas por enfermedades, toxinas, entre otros, como modificaciones genéticas en un sistema biológico (Goodacre et al., 2004; Christians et al., 2011)

Metabolómica	Se define simplemente como el análisis integral (identificación y cuantificación) de todos los metabolitos (metaboloma) de un organismo aislado, sistema celular, tejido o fluido biológico (Weckwerth, 2003)
--------------	---

Esta investigación se centró en el análisis por metabolómica no dirigida porque el diseño de este tipo de enfoque permite simultáneamente perfilar la mayor cantidad posible de metabolitos y, por lo tanto, brinda la posibilidad de explorar vías bioquímicas y características biológicas previamente inexploradas. Esta característica particular hace que la metabolómica no dirigida sea adecuada para el descubrimiento de biomarcadores, que, aunque se presenten en baja abundancia, son más difíciles de detectar e identificar.

Como marcador puede definirse al “constituyente químicamente definido o grupo de constituyentes de una sustancia o producto, que son de interés para propósitos de control de calidad; independientemente de su actividad terapéutica, que indican el estado de procesos biológicos, sean bioquímicos, fisiológicos o morfológicos” (EMEA, 2008).

1.3.1 Flujo de trabajo en el análisis por metabolómica no dirigida

Como se describió anteriormente, la base del enfoque metabolómico basado en la búsqueda de biomarcadores radica en el supuesto que un estímulo, sea biótico o abiótico, perturba la bioquímica del individuo conduciendo a una serie de cambios en el metaboloma (fenotipo metabólico) que puede ser diferenciado del estatus control (individuos control) (Monteiro et al., 2013).

Para lograr este supuesto, el experimento debe combinar el uso de las herramientas analíticas apropiadas para permitir la máxima cobertura del metaboloma, con la

aplicación de bioinformática para la extracción de datos, análisis de datos e interpretación biológica (Roessner, 2009; Lindon y Nicholson, 2008). Por lo tanto, los enfoques metabólicos deben aplicar procedimientos adecuados de recolección, manipulación, extracción, almacenamiento y preparación de muestras para reducir estos efectos (Weckwerth, 2003). Y luego, la aplicación de herramientas adecuadas para adquirir, almacenar, normalizar, analizar y evaluar los datos (Fiehn, 2002). Todos estos pasos se pueden dividir en cuatro etapas: (1) recolección y preparación de muestras, (2) separación de metabolitos, (3) detección, (4) data mining y extracción y (5) análisis e interpretación de datos, que será brevemente presentado y discutido a continuación.

1.3.1.1. Recolección y preparación de muestras

Considerando que en la metabolómica no dirigida se realiza la evaluación integral de todos los metabolitos en el sistema biológico, el manejo de la muestra a analizar (bacterias, tejido, células, biofluidos) debe hacerse bajo ciertas condiciones. En tejido vegetal, diferentes métodos de conservación en frío se han desarrollado, siendo el congelamiento en nitrógeno líquido o en ultracongeladores los más usuales (Wang et al., 2010; Christians et al., 2011). También se ha utilizado el tratamiento con ácido perclórico o ácido nítrico para la precipitación de proteínas, pero a valores de pH extremos, la estabilidad de los metabolitos puede verse comprometida (Christians et al., 2011; Fiehn, 2002). Respecto a la extracción de metabolitos de la muestra, y debido a la complejidad, no hay un protocolo particular que cubra el metaboloma completo, por lo que se combinan diferentes métodos de extracción con solventes polares y apolares (Patti, Yanes y Siuzdak, 2012; Yanes et al., 2011).

1.3.1.2. Separación de metabolitos

Con el fin de mejorar la sensibilidad y selectividad de los instrumentos de detección de metabolitos, el acople de técnicas de separación, particularmente cromatografía líquida

(LC, por sus siglas en inglés) y de gases (GC) ayudan a reducir la complejidad del espectro de masas por la separación de metabolitos en una dimensión temporal (Dettmer et al., 2007). De acuerdo con Evans y Jorgenson (2004) y Tomoyoshi et al. (2009), el uso de técnicas de separación multidimensional GCxGC/MS y LCxLC/MS, pueden lograr un alto poder de resolución y pureza de los picos espectrales ya que el uso de columnas GC o LC secuenciales maximiza la separación de metabolitos de cada dimensión (Wang et al., 2010).

Principio de la separación cromatográfica: La cromatografía líquida (LC) separa los componentes de una mezcla, basada en las tasas a las cuales estos eluyen de una fase estacionaria a una fase móvil, basándose en diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica (Kristensen, 2010). Las moléculas disueltas en la fase móvil se separarán dependiendo de su coeficiente de distribución en ambas fases, mientras que la fase móvil pasa a través de la fase estacionaria (García, 2013).

Varios tipos de fase se diferencian, la fase normal donde la fase estacionaria es fuertemente polar y la fase móvil es fuertemente apolar, y la fase reversa que presenta condiciones contrarias. La mayoría de los instrumentos para LC, están equipados con un detector óptico universal que responde a cambios de una propiedad física de todos los analitos o a una propiedad de la fase móvil que varíe en presencia de los analitos, como el indicador de refractancia (RI), detector de dispersión de luz evaporativa (ELSD), espectrometría de masas o aerosol cargado (CAD) (Plou y Torres, 2019). En el caso que el detector sea selectivo, solo será capaz de detectar los compuestos que tienen una determinada propiedad física, entre estos se clasifican los detectores de absorbancia (UV-Vis), fluorescencia y detector de arreglo en fotodiodos (PAD) (García, 2013).

La técnica de LC es la predominante para la detección simultánea de una gran cantidad de metabolitos, incluyendo compuestos hidrofílicos e hidrofóbicos (Scalbert et al., 2009). La LC en fase reversa usando columnas C18 es el método más usado para todos

los tipos de metabolómica porque separa y detecta compuestos polares y apolares (Yanes et al., 2011).

La cromatografía de gases (GC) es sin duda una de las técnicas claves utilizada para la detección, identificación y cuantificación de muchos grupos de tóxicos alimentarios apolares y / o semipolares (o productos de derivatización) (Lorenzo y Pico, 2017). Esta técnica de separación es capaz de separar mezclas altamente complejas basada en las diferencias de punto de ebullición, presión de vapor y polaridad de un compuesto. Para ser susceptible de separación por GC, un compuesto debe tener una alta presión de vapor a temperaturas inferiores a 350 - 400 °C y debe vaporizarse fácilmente sin descomponerse o reaccionar con los componentes de las fases estacionarias y móviles o con cualquier componente presente en la muestra a analizar (Lorenzo y Pico, 2017; Ryan et al., 2011). Para esto, algunos compuestos necesitan ser químicamente derivatizados para hacerlos suficientemente volátiles, menos polares y térmicamente más estables, incluyendo ácidos, aminas, azúcares, moléculas de alto peso molecular y moléculas termolábiles (Fancy y Rumpel, 2008). Sus ventajas a comparación de LC/MS, es la existencia de grandes bases de datos de patrones de fragmentación que ayudan a la identificación de metabolitos y la alta reproducibilidad de los tiempos de retención (Wang et al., 2010).

Cromatografía líquida de ultra rendimiento (UPLC, Ultra performance liquid chromatography): La búsqueda de instrumentos con mayor eficiencia de separación, resolución y sensibilidad llevó al origen de la UPLC, cuyas mejoras incluyen columnas más cortas (<10 cm) y de mayor resistencia, con fases estacionarias con alta estabilidad de pH y menor tamaño de partícula (<1,7 µm) que permiten separaciones con gran eficiencia (García, 2013). Estas columnas requieren equipos HPLC especiales, capaces de soportar las altas presiones que se generan (>15000 psi) (Plou y Torres, 2019).

Por la relación entre la eficiencia de la columna con el caudal de trabajo, una de las variables importantes en la UPLC es el tamaño de partícula de la fase estacionaria (Plou

y Torres, 2019). Wilson et al. (2005), presentan una comparación gráfica tridimensional entre el análisis HPLC-MS y UPLC-MS en términos de cantidad e intensidad de iones detectados en muestras de orina (**Figura 1**) donde atribuyen la eficacia en la separación de analitos debido a la disminución en el tamaño de partícula (1,7 μm) en la columna UPLC, contra 5 μm de la columna utilizada en HPLC, que le da mayor velocidad de elución, mayor sensibilidad y mayor resolución al análisis UPLC. Las columnas UPLC, según García (2013), superan la asimetría de la forma de los picos debido a la baja capacidad de carga de la mayoría de las columnas C_{18} en fases móviles de baja fuerza iónica, así como el sangrado de la columna y el reequilibrio rápido de la fase móvil frente a las columnas HPLC.

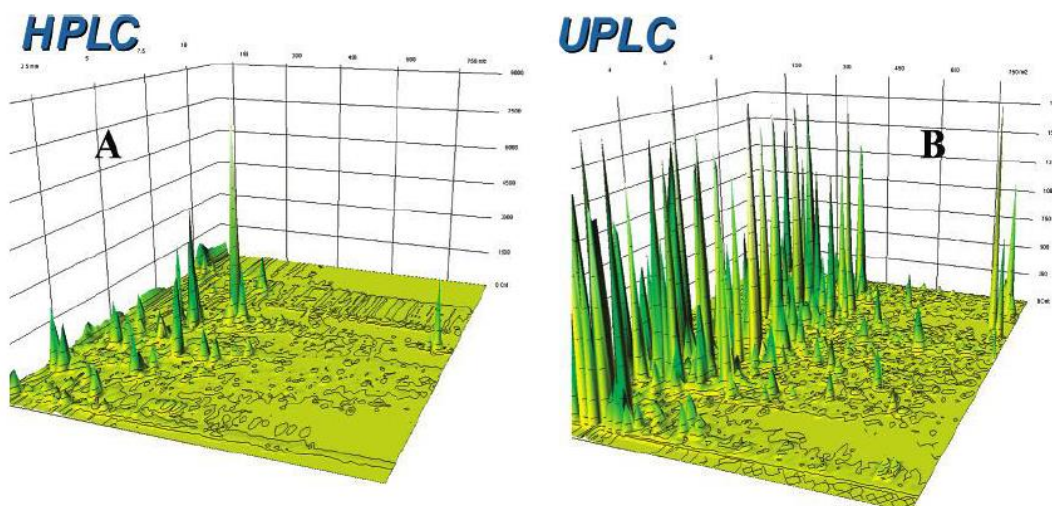


Figura 1. “Comparación de tiempos de retención, m/z e intensidad de iones detectados por A) Análisis HPLC-MS y B) UPLC-MS en muestras de orina dispuestos en un mapa 3D” (Tomado de Wilson et al. 2005).

Dado lo anterior, el UPLC-MS resulta una herramienta eficiente para la detección y eventual identificación de metabolitos (Wilson et al., 2005), y fue el método seleccionado para llevar a cabo la separación e identificación tentativa de los principales biomarcadores de tres genotipos de uchuva en el presente estudio.

1.3.1.3. Detección de metabolitos

Dependiendo del propósito del análisis, la naturaleza de las muestras y de los compuestos a analizar, existen diferentes plataformas analíticas usadas para el análisis metabolómico. Los análisis más utilizados son la resonancia magnética nuclear (RMN) y MS. No obstante, recientes mejoras, particularmente en cuanto a la sensibilidad y la resolución espectral de masas, han contribuido a la expansión de metodologías con el fin de alcanzar la evaluación metabólica global (Griffiths et al., 2010).

Resonancia magnética nuclear (RMN): La técnica por RMN, está basada en la explotación de las propiedades magnéticas de los núcleos atómicos (principalmente núcleos de hidrógeno (^1H -RMN), permitiendo la identificación de diferentes núcleos atómicos en función de sus frecuencias resonantes, que dependen de su ubicación en la molécula (Spratlin et al., 2009). Entre las ventajas de esta técnica se cuentan su alta reproducibilidad (Davis et al., 2011), nulos o mínimos requerimientos de preparación de la muestra (Weiss y Kim, 2012), capacidad de análisis de diferentes estados de la muestra, detección cuantitativa de todos los metabolitos que contengan ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{17}O (Christians et al., 2011). Sin embargo, comparado a las técnicas basadas en MS, RMN es menos sensible (de 1 a 10 $\mu\text{mol/L}$) por lo que su capacidad de detectar metabolitos con baja abundancia es pobre.

Espectrometría de masas (MS): Esta técnica se basa en la ionización de cada metabolito que da lugar a un patrón específico de fragmentación, lo que significa que se formarán fragmentos diferentes y característicos y se separarán de acuerdo con sus proporciones de m/z (Davis et al., 2011). Un espectrómetro de masas para HPLC cuenta con varios componentes instrumentales: (1) una interfase con el sistema cromatográfico mediante el cual el eluyente entra en el detector, (2) una cámara de ionización, (3) una cámara de aceleración de iones, (4) un selector que analiza ordenadamente los iones (cuadrupolo, trampa iónica, tiempo de vuelo TOF, etc.), (5) un

detector de los iones y, por último, (6) un software de adquisición y procesado de datos (Glish y Vachet, 2002; Plou y Torres, 2019).

La fuente de ionización convierte los compuestos moleculares en iones volatilizados en una fase gaseosa. Diferentes técnicas son usadas como la ionización electrospray (ESI), ionización química a presión atmosférica (APCI), ionización electrónica (EI) y matriz desorción/ionización asistida por láser (MALDI) (García, 2013). Es importante conocer qué tipos de analitos se van a encontrar y qué fase móvil se va a utilizar para poder elegir la mejor configuración.

En cuanto al analizador de masas y detectores, del gran número disponible en el mercado, casi todos usan al menos uno o la combinación de los siguientes principios para obtener una mayor exactitud de masa y disminuir la superposición de masas que son de interés para los estudios metabólicos: cuadrupolo (Q), tiempo de vuelo (TOF-MS), y resonancia ciclotrónica de ion transformado de Fourier (FT-ICR/MS) (Nordstrom y Lewensohn, 2010).

Analizador de masa cuadrupolo (Q): consiste en un arreglo metálico conectado eléctricamente por un suministro de voltaje de radiofrecuencia, que genera un campo eléctrico, donde los iones que dentro del cuadrupolo en dirección z , con cierta m/z , atraviesan con un movimiento en espiral creado por el voltaje de radiofrecuencia. La exactitud de la masa en un cuadrupolo es del orden de cientos de ppm., la resolución de la masa depende de la relación entre el voltaje y la corriente directa, y el rango de m/z puede variar entre 300 y 4000 (Glish y Vachet, 2002).

Tiempo de vuelo (TOF): Esta técnica separa los iones de acuerdo con la velocidad alcanzada en un tubo de deriva TOF, donde se aceleran los iones hasta que alcancen el detector. Basada en la teoría donde la masa de un ion sobre su carga se relaciona al voltaje aplicado, al tiempo de vuelo y a la longitud de la región libre de deriva (Chernushevich, Loboda y Thomson, 2001). Iones con bajos m/z alcanzarán mayor velocidad llegarán al detector antes que los iones con m/z más altos.

Resonancia ciclométrica de ion transformado de Fourier (FT-ICRMS): Usa un campo magnético para determinar el m/z de los iones midiendo sus frecuencias de ciclotrón y luego convirtiéndolos en valores m/z , lo que permite resoluciones muy altas y alta exactitud de masas incluso por debajo de 1 ppm (Glish y Vachet, 2002).

1.3.1.4. Data mining y extracción

Contrario al enfoque dirigido, la metabolómica no dirigida genera un volumen de información que no puede ser analizado manualmente, por lo tanto, antes del análisis de datos, para los espectros generados por RMN y MS se deben corregir las variaciones causadas por las variables experimentales ya que podrían interferir con el siguiente paso, el análisis estadístico multivariado (Rasmussen et al., 2011). Estas correcciones incluyen la normalización de picos, ajuste de intensidad y reducción de la desviación estándar, alineación de picos (mismo tiempo de retención para varias muestras), entre otras (Griffiths et al., 2010).

1.3.1.5. Análisis de datos e interpretación

Los datos transformados inicialmente están sujetos a tratamiento estadístico para lograr agrupamiento en cluster, lo que permite discriminar firmas metabólicas (Spratlin et al., 2009). En este paso, el análisis multivariado, como el análisis por componentes principales (PCA), es la vía más eficiente ya que reduce la dimensionalidad de la base de datos y facilita la visualización de patrones discriminantes entre grupos y valores atípicos sin perder exactitud (Weiss y Kim, 2012).

Otros análisis como el análisis discriminatorio por regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA, por sus siglas en inglés) y redes neuronales, proporcionan información previa sobre la clase de muestra para luego generar clusters de patrones,

es decir, determinan las características metabólicas que mejor discriminan entre las clases predefinidas (Kaddura-Daouk et al., 2008).

Después de la identificación de firmas metabólicas discriminadas, los metabolitos que permiten el agrupamiento en clusters deben ser identificados. Para eso, la información espectral de la RMN o MS se busca en las bases de datos disponibles o con estándares (Spratlin et al., 2009). Una vez identificados, su relevancia biológica debe evaluarse y finalmente, los biomarcadores se deben validar buscando su asociación con un fenotipo particular, por ejemplo, una enfermedad.

1.4 Influencia de factores abióticos sobre las características fisicoquímicas y la producción de metabolitos secundarios en frutos

La plasticidad fenotípica es el término usado para describir la respuesta funcional de un organismo a cambios en su ambiente, pudiendo ser morfológicos, fisiológicos o bioquímicos (Valladares et al., 2007). Dicha plasticidad es gobernada genéticamente no solo determinando el carácter del organismo, sino también determinando la capacidad de respuesta del organismo al estímulo ambiental (Bradshaw, 2006).

El metabolismo de un organismo lidera muchas de las formas en que un organismo responde al dinamismo del ambiente, tanto en procesos reguladores a corto plazo, como en la regulación de genes a largo plazo (Benning & Stitt 2004). En las plantas, grandes proporciones de genes codifican enzimas metabólicas, y como tal, la cantidad de metabolitos individuales presentes en un metaboloma (es decir, la colección global de todos los metabolitos de bajo peso molecular presentes en una muestra biológica, que proporcionan una lectura funcional directa de la actividad celular y el estado

fisiológico) pueden verse como el fenotipo definitivo del organismo y varían de acuerdo con el genotipo (Fiehn, 2002).

Muchos factores son esenciales para el mantenimiento de la homeostasis vegetal. La variación en la composición química de un fruto por la acumulación de metabolitos a menudo se produce en plantas sometidas a estrés ya sea por elicitores o moléculas de señalización. La producción de estos compuestos a menudo es baja (menos del 1% peso seco) y depende en gran medida del estado fisiológico y de desarrollo de la planta (Ramakrishna y Aswathanarayana, 2011).

El sistema inmune de las plantas les permite responder a condiciones de estrés causado por agentes bióticos o abióticos. Estos mecanismos de defensa han sido denominados resistencia sistémica inducida (ISR, Induced Systematic Resistance) y resistencia sistémica adquirida (SAR, Systemic Acquired Resistance), que se diferencian por el agente inductor y las moléculas señal para producir la respuesta de defensa (Vallad y Goodman, 2004). En el caso de SAR la inducción se da por la exposición de la raíz o los tejidos foliares a elicitores bióticos (fitopatógenos virulentos y avirulentos o insectos plaga) o abióticos (condiciones ambientales, estímulos mecánicos y químicos, tipo de suelo y nutrientes), y la hormona señalizadora es el ácido salicílico. Por otro lado, en ISR la respuesta es inducida por la exposición de las raíces a microorganismos como rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal y está regulada por etileno y ácido jasmónico (Durrant y Dong, 2009; Fujita et al., 2006).

El estudio de la metabolómica para caracterizar las interacciones de los organismos vivos obtenidos directamente de su ambiente natural se ha definido en la última década como metabolómica ambiental (Viant & Sommer, 2013) y ha desarrollado varias aplicaciones para ayudar en la comprensión de las respuestas orgánicas a elicitores de estrés abiótico o factores con directa y explícita relevancia en condiciones de campo. La metabolómica no dirigida ha provisto una percepción diferente a los análisis específicos para una clase de metabolitos, agrupados como 'totales', por ejemplo, carbohidratos o

fenoles totales, capturando de una manera abierta nuevas respuestas metabólicas a un factor abiótico (Davey et al., 2008).

Algunos estudios de la respuesta metabólica de las plantas ante factores climáticos limitantes han sido realizados bajo el enfoque metabolómico. Kaplan et al., (2004) evaluaron el efecto del estrés térmico sobre el metaboloma de plantas de *A. thaliana* usando GC-MS, seguido de un análisis PCA, donde identificó 143 y 311 metabolitos que respondían al shock de calor o frío, respectivamente. Cook et al., (2004) por su parte evaluaron el metaboloma de dos ecotipos de *A. thaliana* al exponerlos a temperaturas bajas extremas mediante GC-TOF-MS, encontrando diferencias de 325 metabolitos entre ecotipos responsables de la tolerancia a bajas temperaturas. Albert et al. (2009), mostraron que la temperatura es factor clave en las alteraciones de los compuestos fenólicos en árnica (*Arnica montana*), a medida que la temperatura baja a mayor altitud. Así mismo, Zhang et al. (1997) reportaron mayor producción de antocianinas en cultivos celulares de fresa incubados a temperaturas bajas. Debido a que la temperatura es un factor fundamental en la aclimatación de la epidermis a la transmitancia UV, a menudo se asocia con la síntesis de compuestos que absorben radiación UV-B y UV-A, como los flavonoides (Bilger et al., 2007).

En cuanto a la disponibilidad de agua, Semel et al. (2007) estudiaron el efecto de sequía en tomates híbridos y nativos sembrados en campo mediante GC-MS y PCA encontrando *clusters* diferentes para cada genotipo, pero no entre tratamientos del mismo fenotipo, por lo que concluyeron que el fenotipo nativo podría estar metabólicamente preparado para tolerar condiciones de sequía.

Los estudios en cuanto al factor de radiación solar indican que puede estimular tantos metabolitos secundarios como antocianinas, taninos foliares y glucósidos fenólicos (Liu et al., 2015). Estudios han demostrado el efecto de la luz UV en la acumulación de antocianinas; en manzanas, la exposición a luz UV entre 280 – 320 nm estimularon la síntesis de antocianinas en combinación con luz roja (Arakawa, 1985). Así mismo, el efecto de continua irradiación también ha demostrado mayor acumulación de

antocianinas en cultivo celular de *Melastoma malabathricum* a comparación de tratamiento de continua oscuridad (Chan et al., 2010).

Por otro lado, los cambios en las características fisicoquímicas de los frutos de uchuva ante factores abióticos han sido ampliamente estudiados. Fischer y Melgarejo (2014) describieron la respuesta de las plantas de uchuva ante los factores ecofisiológicos más críticos. Como primer factor, la radiación juega un papel fundamental como fuente de energía para la producción de materia seca. La radiación solar directa fomenta la fotosíntesis del cáliz y de las hojas adyacentes al fruto y así el llenado y la calidad del fruto de uchuva (Almanza y Fischer, 2012). Mora et al. (2006) mencionan que 1.500 a 2.000 h de luz solar directa al año son óptimas para el tamaño, la calidad y la maduración del fruto de uchuva. En frutas carnosas, una radiación solar óptima favorece el color, la síntesis de pigmentos antocianos, el índice de refracción (°Brix), aumenta la concentración de ácido ascórbico y el contenido de materia seca (Parra-Coronado y Miranda, 2016).

La altitud, que combina los efectos de la temperatura y de la luz, también presenta efectos en la concentración de sacarosa en el fruto. Así, en una altitud entre 2.300 a 2.690 msnm, la concentración de sólidos solubles totales (SST) disminuye (Fischer et al., 2007), mientras que la concentración de glucosa y fructosa y ácido ascórbico y demás ácidos orgánicos (cítrico, málico y tartárico), así como el α - y β -caroteno y la β -criptoxantina se mantienen constantes (Fischer et al., 2000).

El aumento de la temperatura promedio puede causar mayor diámetro ecuatorial y menor diámetro polar en frutos de uchuva, especialmente cuando se producen temperaturas más altas en la fase temprana de desarrollo del fruto (Westwood, 1993). Así mismo, cuando el tejido se calienta, pierden su textura y se degradan ácidos orgánicos requeridos principalmente para la respiración durante su maduración haciéndolos más insípidos (Fischer y Orduz-Rodriguez, 2012). Para frutos en general, altas temperaturas nocturnas pueden degradar en gran medida los fotoasimilados

afectando su llenado y calidad organoléptica (Das, 2012; Gariglio et al., 2007). Mientras que bajas temperaturas nocturnas pueden favorecer la coloración del fruto e incrementar la producción de antocianinas (Sherman and Beckman, 2003).

Finalmente, el agua disponible define la fisiología de la planta, el fruto fresco de uchuva contiene un 80% de agua y se encoge y dilata durante el día al cambiar las relaciones hídricas de la planta. Además, su tamaño final depende en alto grado de la humedad que proporciona el riego y las lluvias (Fischer, 2005).

Varios análisis estadísticos han sido utilizados en la predicción de fenotipos ante la respuesta de factores ambientales, entre los más comunes los métodos de regresión lineal y el análisis multivariado (Moreno-Gonzalez et al., 2004). El modelo de efecto principal aditivo y la interacción multiplicativa (AMMI, por sus siglas en inglés) integra el análisis de varianza (Anova) para estudiar los principales efectos de genotipos (G) y ambientes (A) y el análisis PCA para evaluar la interacción multiplicativa residual entre genotipos y ambientes en un análisis unificado que suele ser usado para evaluar ensayos multilocacionales (Gauch & Zobel, 1996). AMMI proporciona la suma de cuadrados (SS) de la interacción $G \times A$ con un número mínimo de grados de libertad y simultáneamente cuantifica la contribución de cada G y A, a la SS de la interacción que se interpreta gráficamente en una figura biplot que clasifica cada factor (Da Silveira et al., 2013).

De manera general cuando un mismo grupo se evalúa en más de un ambiente, pueden presentarse tres posibles situaciones: a) la interacción $G \times A$ no resulta estadísticamente significativa, lo cual señala que los cultivares se comportan de manera similar en todos los ambientes y la clasificación no varía con los ambientes; b) la interacción $G \times A$ resulta estadísticamente significativa, lo cual señala que los cultivares se comportan de manera diferente, pero la clasificación por superioridad no varía con los ambientes, manteniendo una respuesta no paralela, este tipo de interacción se le conoce como cuantitativa; c) la interacción $G \times A$ resulta estadísticamente significativa y la clasificación por su superioridad varía con los ambientes, manteniendo una

respuesta no paralela y cruzada, conociéndose como cualitativa (Vallejo y Estrada, 2002; Vallejo et al., 2010).

La interpretación del gráfico biplot facilita la interpretación de patrones de respuesta de los factores (Yan et al., 2000). El coeficiente de correlación entre G, A o G x A está dado en forma aproximada por el coseno del ángulo formado entre los vectores; así si el ángulo entre los vectores es de 180° el coeficiente de correlación es -1; si el ángulo es de 0° el coeficiente es +1 y para 90° es 0. Lo anterior permite detectar adaptaciones específicas y separar genotipos y ambientes en los análisis de estabilidad que estén positiva o negativamente correlacionados (Pérez et al., 2005).

2. Materiales y Métodos

2.1. Material Vegetal

El material vegetal utilizado para el estudio fueron frutos de uchuva (*Physalis peruviana* L.) de las variedades Corpoica Andina (en adelante Andina), Corpoica Dorada (en adelante Dorada) y ecotipo Colombia como genotipo comercial de cada localidad, cosechados con capacho y en estado de maduración 4 de acuerdo con la norma Icontec NTC 4580 de 1999. Los frutos fueron cosechados entre los meses de octubre de 2018 a febrero de 2019 de acuerdo con la disponibilidad de cosecha de cada genotipo en la localidad.

2.2. Localización

Los frutos de cada genotipo fueron cosechados al azar en fincas productoras de uchuva de tres empresas exportadoras situadas en los Departamentos de Cundinamarca, Boyacá y Antioquia, localidades escogidas por ser los departamentos con mayor producción de uchuva a nivel nacional (**Tabla 6**).

Tabla 6. Localización geográfica y descripción de las principales características climáticas y edáficas de las localidades muestreadas

Localidad	Ramiriquí	San Vicente Ferrer	Granada	Gama
Departamento	Boyacá	Antioquia	Cundinamarca	Cundinamarca
Latitud	5,31338677 N	6,2281472 N	4,515498 N	4,670132 N
Longitud	-73,336116 W	-75,3484547 W	-74,358131 W	-73,647097 W
Altitud (msnm)	2.814	2.354	2.276	2.297
Textura del suelo	Franco Limoso	Franco Arcilloso	Franco Arcilloso	Franco Limoso
pH del suelo	5,87	4,9	5,05	6,19
Temperatura media (°C)	14	17	14	16
Precipitación anual (mm)	1.131	1.500	1.653	1.400
Topografía	Pendiente leve	Ondulado	Pendiente moderada	Pendiente moderada
Exportadora	Ocati S.A.	C.I. Caribbean Exotics S.A.	C.I. Frutireyes S.A.S.	Ocati S.A.

Cada finca fue seleccionada por tener establecidos y en etapa de producción, cultivos de al menos 100 plantas de cada genotipo manejados agronómicamente de la misma manera. La finca muestreada en el municipio de Gama solo contaba con cultivos de la variedad Corpoica Dorada y ecotipo Colombia, por lo tanto, los frutos cosechados en esta localidad únicamente se incluyeron para aumentar las repeticiones de ambos genotipos en los resultados de biomarcadores discriminantes para la localidad de Cundinamarca.

2.3. Procedimiento general

El desarrollo de la investigación se llevó a cabo en dos etapas: la determinación de las características físicoquímicas y la búsqueda de biomarcadores discriminantes de cada variedad de uchuva en cada localidad. Para ambos procedimientos, en cada finca productora se cosecharon al azar 1,5 Kg de uchuva con capacho en estado de madurez 4 (Figura 2), de las variedades Corpoica Andina, Corpoica Dorada y ecotipo Colombia respectivamente. El muestreo al azar se realizó mediante un sistema de muestreo

compuesto en “W” evitando los bordes del cultivo con el fin de abarcar todos los estratos y condiciones edafoclimáticas propias de cada localidad.

La calidad de la fruta cosechada fue de categoría de exportación por lo tanto se sometió a un proceso de selección retirando los frutos con rajaduras, daños mecánicos y lesiones por patógenos. Los frutos con capacho fueron envasados en empaques PET previamente rotulados y posteriormente trasladados, en condiciones de refrigeración, al laboratorio de Química Analítica del C.I. Tibaitatá para la determinación de las variables fisicoquímicas de aceptación o rechazo según la NTC 4580 (Icontec, 1999).

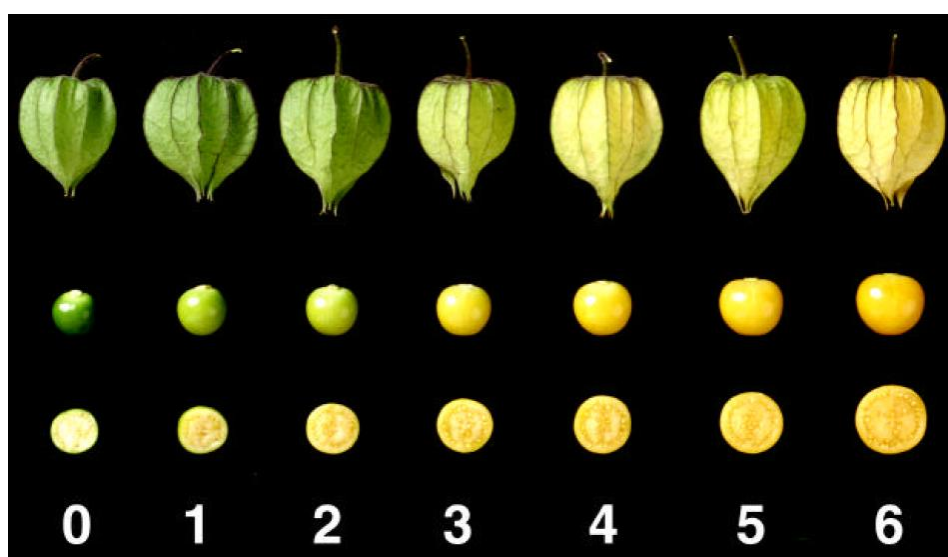


Figura 2. Tabla de color de la uchuva

Fuente: NTC 4580 (Icontec, 1999)

2.4. Determinación de variables físicas y químicas de frutos de uchuva

Para determinar las propiedades físicas y químicas de los frutos de uchuva de cada variedad en cada localidad, se seleccionaron al azar 500 g de fruta con capacho para la determinación de las siguientes variables fisicoquímicas:

La determinación de las variables diámetro ecuatorial y polar de fruto, peso de fruto, firmeza y color se realizaron a una muestra de 50 frutos de cada unidad de medición (genotipo en cada localidad). La determinación de sólidos solubles totales, acidez

titulable e índice de madurez, se llevó a cabo en una muestra de 100 g de fruta fresca, bajo la metodología establecida por la NTC 4580 (Icontec, 1999) y las mediciones se hicieron por quintuplicado.

- 1. Diámetro del fruto.** Se midió el diámetro ecuatorial y polar de cada fruto con un calibrador Vernier digital 8 in, referencia 3416. El valor se expresó en mm.
- 2. Peso unitario del fruto.** En cada unidad de medición, se registró el peso por unidad de 50 frutos en una balanza electrónica de precisión Mettler PE 300.
- 3. Firmeza.** Con el texturómetro Chatillon Digital (DFIS-50) se aplicó una fuerza con un émbolo cilíndrico de 1 mm de diámetro en la zona ecuatorial de cada fruto, el cual descendió a una velocidad de 12,7 mm/min. El resultado de firmeza se expresó en Newtons.
- 4. Color.** Mediante colorímetro digital marca Minolta se determinaron los parámetros del sistema CIELab L^* , a^* y b^* . Con estos datos se calculó el índice de color (IC) como $IC = (1000 \times a^*) / (L^* \times b^*)$
- 5. Sólidos solubles totales (SST).** Para la determinación de SST, se pesaron 100 g de fruta por cada unidad de medición, que se trituró y filtró hasta obtener una solución lo más homogénea posible; a continuación, se transfirió el contenido a un vaso de precipitado donde se determinó el valor como °Brix por el método refractométrico mediante el uso del refractómetro digital Atago (Hanna instruments, Woonsocket, R) de rango 0 a 85% con precisión 0,1°Brix. La determinación se realizó por quintuplicado y se corrigió la lectura utilizando el porcentaje de ácido cítrico, mediante la ecuación.

$$S.S.T.COR = 0,194 \times A + S.S.T.$$

Donde,

$A = \% \text{ Ácido cítrico}$

$S.S.T. = \text{Sólidos solubles totales en } ^\circ\text{Brix}$

- 6. Acidez titulable.** Para determinar la acidez se llevó a cabo una titulación ácido base, utilizando un potenciómetro Hanna. Del jugo filtrado de 100 g de uchuva por unidad de medición se tomó una muestra de 1 mL de jugo filtrado de uchuva y se le adicionaron 5 mL de agua destilada para una muestra compuesta de 6 mL. Luego se adicionaron 0,025 mL a 0,05 mL de fenolftaleína (2 - 3 gotas) en continua mezcla y se tituló con una solución de NaOH (Merk, Alemania) 0,1 N hasta obtener una coloración rosa suave. La determinación se realizó por quintuplicado y los resultados se expresaron como % de ácido cítrico (Icontec, 1999), bajo la siguiente expresión:

$$\% \text{ Acidez (\%)} = \frac{V_1 \times N \times K}{V_2} \times 100$$

Donde,

V_1 = volumen consumido del agente valorante (mL)

N = normalidad del agente valorante (mL)

K = peso equivalente de ácido predominante en el fruto (ácido cítrico 0,064 g meq⁻¹).

V_2 = masa de la muestra (1 mL)

- 7. Índice de madurez.** Se obtuvo de la relación entre el valor determinado de sólidos solubles totales y el valor de acidez titulable. Se expresó como °Brix/% ácido cítrico.

$$\text{Índice de madurez} = \frac{S.S.T.}{\text{Acidez titulable}}$$

- 8. Medición del pH.** Para la determinación de pH se tomaron 20 g de pulpa previamente acondicionada, y a continuación se hizo la medición en un potenciómetro Mettler Toledo modelo Seven Compact S220 (AOAC, 2015).

Análisis de datos

La determinación del efecto de la localidad y el genotipo sobre las variables de interés se realizó mediante análisis de varianza bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial localidad*genotipo. Para todas las variables se valoró el cumplimiento de los supuestos de normalidad de los residuales y el de homocedasticidad. En los casos donde se determinaron efectos significativos ($P \leq 0,05$), la separación de medias se realizó mediante la prueba de comparación múltiple de Tukey. El procesamiento de los datos se realizó con el software SAS 9.3. Para el análisis estadístico, las variables fisicoquímicas registradas en el municipio de Gama tuvieron que ser descartadas debido al desbalance de genotipos respecto al resto de unidades de observación, ya que solo se obtuvo cosecha de la variedad Corpoica Dorada y ecotipo Colombia.

2.5. Obtención de biomarcadores discriminantes

2.5.1. Obtención de extractos

Con el fin de preservar los componentes nutricionales de las muestras de uchuva y para disponer de material vegetal seco al momento de la extracción, 500 g de fruta fresca, seleccionada al azar por cada unidad de medición [4 localidades x 3 genotipos], se congelaron a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un ultracongelador y posteriormente se sometió a un proceso de secado por liofilización en un Heto Powerdry PL 9000 freeze Dryer de Thermo Fisher Scientific a una temperatura de condensador de $-43\text{ }^{\circ}\text{C}$ y temperatura de bandejas de $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ con una presión de 0,1 HPa durante 48 h.

Las muestras liofilizadas por unidad de medición se sometieron a una extracción sólido-líquida por triplicado. Para cada una de las extracciones se tomaron tres tubos de centrifuga de 50 mL marca Falcon, en cada tubo se pesó 1 g de liofilizado y se adicionaron 10 mL de solución extractante compuesta por acetona 70%, agua 29,5% y ácido acético 0,5% de acuerdo con la metodología realizada Llano et al. (2018) y Mayorga et al. (2016).

La mezcla se agitó en un agitador vortex Velp Scientifica modelo TX4 por 5 min a 2.800 rpm, luego se sometió a sonicación en un baño ultrasonido Branson Serie 1510 por 5 min y finalmente a centrifugación por 15 min a 4 °C y 4.500 rpm usando una centrifuga Thermo Fisher Scientific modelo Megafuge 8, a continuación, se retiró la fase acuosa (fase superior) filtrando el extracto a través de un filtro de disco Whatman grado No.1 con tamaño de poro de 11 μm y el pellet sedimentado se sometió nuevamente a las mismas condiciones de extracción. Para evaporar el solvente se utilizó un rotaevaporador Heidolph model Hei-VAP PRECISION a una temperatura de 40 °C y presión de vacío de 80 mbar. Los extractos concentrados se llevaron a un volumen de 2 mL con agua Milly-Q (desionizada ultrapura) y se filtraron a través de un filtro de celulosa de 0,45 μm (Minisart-RC 25 filtros de jeringa) y se envasaron en viales de muestra con certificación LC / MS de 1,5 mL para su posterior análisis por UPLC-QTOF-MS.

2.5.2. Análisis instrumental

El análisis espectrométrico realizado en el presente estudio se basó en la metodología establecida por Mayorga-Gross, Guerrero y Vaillant (2016) con algunas modificaciones.

La separación cromatográfica se realizó en un sistema ACQUITY Ultra Performance LC™ (Waters Synapt G1, Waters Corp., Milford, MA, USA), utilizando una columna CSH C₁₈ con unas dimensiones de 2,1 * 100 mm y un tamaño de partícula de 1,7 μm , acoplada a una precolumna Vanguard CSH C₁₈ de 1,7 μm .

Se empleó un gradiente de elución usando agua Milli-Q (disolvente A) y acetonitrilo (disolvente B), ambos ajustados con ácido fórmico al 0,1%. La elución comenzó al 0% de B y continuó de la siguiente manera (tiempo en min, concentración de B en %): 7 min, 10%; 22 min, 95%; 22,1 min, 0% y terminó con una etapa de reequilibrio por 26min antes de cada análisis. El flujo de fase móvil se ajustó a 0,4 mL/min con un tiempo de ejecución total de 26 min manteniéndola a una temperatura de 15 °C antes de la inyección y 30 °C durante la inyección e inyectando volúmenes de muestra de 2 μL .

El sistema UPLC se acopló a un ionizador electrospray con espectrómetro de masas cuadrupolo y tiempo de vuelo (ESI-QTOF/MS) (Waters SYNAPT ESI (+)-QTOF, Waters Corp., Milford, Massachusetts, USA) bajo una exploración completa de 100 a 1000 m/z en modo positivo continuo con el objetivo de detectar mayor cantidad de iones. En este proceso, los iones se generaron por presión atmosférica después de pasar por un capilar de diámetro $>250 \mu\text{m}$ y ser expulsados a una cámara de ionización con voltajes entre 500 y 4500 V (Theodoridis, Gika y Wilson, 2011). Las condiciones de operación del ESI (+)-QTOF-MS fueron: voltaje capilar de 0,4 kV, voltaje de cono de muestreo de 40 V. Se utilizó nitrógeno como gas en el cono y gas de desolvatación con un flujo de 0 L/h y 1000 L/h, respectivamente. La exploración en modo positivo fue escogida teniendo en cuenta los resultados de Ballesteros-Vivas et al. (2019) quienes identificaron mayor cantidad de compuestos tipo witanólidos en ESI (+) obteniendo iones moleculares protonados (H^+ , NH_4^+ , Na^+).

El tiempo de exploración se ajustó a 0,5 s. Todos los análisis fueron calibrados usando leucina encefalina como la masa de referencia (m/z 556,771 Da) en ESI (+) a una tasa de flujo de 12 $\mu\text{L}/\text{min}$ para asegurar exactitud y reproducibilidad.

2.5.3. Procesamiento y análisis de datos

Para centrar los picos cromatográficos, las mediciones en archivos RAW se tomaron en modo continuo, por lo tanto, esta información se basó retrospectivamente en el m/z de la masa de referencia externa. Esto se realizó con el software MassLynx V3.1 SCN 639 (Waters Inc., Milford, Massachusetts, EE. UU.).

Los archivos transformados se procesaron a archivos tipo CDF mediante el software Progenesis QI (Nonlinear Dynamics, Newcastle, Reino Unido) en el cual se aplicaron varias operaciones donde los parámetros utilizados en cada etapa dependieron de la naturaleza de los datos. A continuación, se describen los parámetros más relevantes:

- Identificación de masas: una lista de masas m/z se define mediante "exploración", al definir un nivel de ruido base.
- Construcción y deconvolución en cromatogramas: en base a las tolerancias definidas de m/z y tiempos de retención, los cromatogramas se construyen para m/z consecutivamente en el tiempo. Posteriormente con algoritmos específicos, estos cromatogramas se deconvolucionan para separar diferentes picos entre sí.
- Alineación: de la lista de iones generados, se realiza una correlación con la muestra en la que se identificaron estos iones. Esta es la lista final que corresponde a m/z y los tiempos de retención promedio con sus intensidades específicas frente a la muestra experimental donde se encontró.

Una vez se obtuvo la lista de iones, se corrigió la deriva del equipo UPLC-ESI (+)-QTOF-MS utilizando el software MetaboDrift (Thonusin et al., 2017). Esto se realizó corrigiendo la deriva de la intensidad en los datos de la muestra utilizando el control de calidad (grupo) usando el método "LOESS" para el tratamiento y la corrección de los datos. Luego, se seleccionaron los iones con un coeficiente de variación inferior al 30% en las muestras de control de calidad que estuvieran presentes en al menos 60% de los individuos participantes. Con las muestras elegidas, se exploró un espacio construido por los iones detectados por el equipo en las diferentes muestras de extractos de uchuva a través de un análisis de componentes principales (PCA) utilizando el software SIMCA 13.0.2.0. (Sartorius stedim, Alemania).

En el análisis de componentes principales, el espacio se subdividió en grupos de muestras que indicaran diferentes patrones según las unidades de medición evaluadas (genotipos y localidades). Estos grupos fueron sometidos posteriormente a un análisis discriminante por regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA). El modelo construido se validó y se evaluó mediante diferentes parámetros patentados y pruebas ad-hoc, como la realización de permutaciones para estudiar la posibilidad de sobreajuste. Las variables de importancia para la proyección (VIP) se calcularon y se

utilizaron como criterios de selección para las variables (iones) con el mayor poder discriminante entre los grupos elegidos. Para esto, un valor $P < 0,05$ y un $VIP > 1,5$ se consideraron como límites.

2.5.4. Discriminación y tentativa identificación de principales biomarcadores por ESI-QTOF/MS

Los análisis de UPLC-ESI-QTOF/MS permitieron determinar los compuestos discriminantes con exactitud de masa siempre debajo de 3 ppm, sumado a las ventajas de poder reducir el número de fórmulas teniendo en cuenta la abundancia isotópica y patrones junto con las restricciones del número de elementos.

Los compuestos detectados fueron discriminados relacionando su peso molecular teniendo en cuenta los aductos seleccionados y fueron analizados y comparados con compuestos similares encontrados en literatura y en librerías online (ReSpec (<http://spectra.psc.riken.jp/>), Metlin: Scripps center for metabolomic (<http://metlin.scripps.edu/index.php>)), permitiendo así una asignación tentativa de la estructura predicha con probabilidad relativamente alta.

2.6. Determinación del efecto de interacción genotipo x ambiente sobre las variables fisicoquímicas y biomarcadores discriminantes

Para determinar la interacción entre genotipos y ambientes, establecer los ambientes que más contribuyen a dicha interacción y determinar cuáles permiten una mejor discriminación en cuanto a las variables fisicoquímicas y biomarcadores discriminantes

de cada material, se realizó primero un análisis de varianza univariado (Anova) para los efectos principales de genotipo (G) y ambiente (A) mediante el modelo siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + A_j + \sum_{n=1}^N B_n \cdot t_{in} \cdot \delta_{jn} + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ijk} = Respuesta promedio del i ésimo genotipo obtenido en el j ésimo ambiente y k ésima repetición,

μ = Efecto de la media general,

G_i = Efecto del i ésimo genotipo,

A_j = Efecto del j ésimo ambiente,

$(GA)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre el i ésimo genotipo y el j ésimo ambiente,

$B_k(j)$ = Efecto de la k ésima repetición en el j ésimo ambiente,

E_{ijk} = Efecto aleatorio del error experimental asociado al i ésimo genotipo en el j ésimo ambiente y k ésima repetición, según el modelo lineal aditivo.

Y luego, la interacción (parte multiplicativa del modelo) fue analizada por medio de PCA cuyo objetivo fue reunir gran parte de la interacción $G \times A$ en pocos ejes sintéticos; usando así grados de libertad, resultando un modelo reducido, que descarta un residuo adicional.

Para el análisis de estabilidad se utilizó el modelo de Análisis de Componentes Principales Aditivos e Interacciones Multiplicativas - AMMI, descrito por Vargas y Crossa (2000). Para desarrollar el algoritmo computacional del modelo descrito por los autores se empleó el programa estadístico SAS® (Statistical Analysis System, versión v 9.0).

Los resultados de análisis se presentaron gráficamente en un biplot después de estimar las coordenadas genotípicas y ambientales sobre los componentes principales de interacción (CPI). Para los casos en que el modelo engloba apenas el primer eje del análisis de componentes principales de interacción (CPI1), fue constituido el biplot AMMI1, que utiliza el eje de las abscisas para representar los efectos principales (genotipo y ambiente) y las ordenadas para expresar los scores de genotipos y ambientes referentes a los CPI1.

3. Resultados y discusión

3.1. Determinación de las características fisicoquímicas de frutos de uchuva var. Corpoica Dorada, Corpoica Andina y ecotipo Colombia en las localidades cosechadas

Todas las variables físicas analizadas en el presente estudio presentaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre genotipos, localidades y su interacción como se describe en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Medias corregidas por mínimos cuadrados, error estándar medio (EMM) y valor-P de variables físicas de frutos de uchuva de tres genotipos en tres localidades

		Peso fruto (g)		Diámetro ecuatorial (mm)		Diámetro polar (mm)		Firmeza (N)		Índice Color	
Localidad	San Vicente	3,8673	c	17,9185	c	17,6846	b	3,1075	b	6,1776	a
	Granada	6,4371	a	20,3128	a	18,3338	a	3,2525	ab	5,3223	c
	Ramiriquí	4,7745	b	18,7373	b	18,4168	a	3,4160	a	5,6934	b
	EEM	0,1016		0,1689		0,1643		0,0580		0,0912	
	Valor-P	<0,0001		<0,0001		0,0028		0,0008		<0,0001	
	Genotipo	Andina.	4,7134	b	17,9434	c	17,1057	c	3,4604	a	4,9935
	Ecotipo	6,2495	a	20,4408	a	19,1228	a	3,1698	b	5,5815	b
	Dorada	4,1160	c	18,5844	b	18,2067	b	3,1459	b	6,6183	a
	EEM	0,1016		0,1689		0,1643		0,0576		0,0912	
	Valor-P	<0,0001		<0,0001		<0,0001		0,0001		<0,0001	
Localidad x genotipo		<0,0001		<0,0001		<0,0001		<0,0001		<0,0001	

Letras iguales indican que no hay diferencias significativas Tukey ($P \leq 0,05$).

3.1.1. Peso y diámetro del fruto

Las variables peso de fruto y el diámetro ecuatorial y polar presentaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0,001$) acorde a los diferentes genotipos, ambientes y su interacción (**Tabla 8**).

Tabla 8. Anova para el peso de frutos de uchuva de tres genotipos en tres localidades diferentes

	Df	Tipo I SS	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Localidad	3	546,0226	182,0075	129,95	<0,0001***
Genotipo	2	267,8400	133,9200	95,61	<0,0001***
Localidad x genotipo	5	844,3401	168,8680	120,57	<0,0001***

Signif. Codes * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,0001$

Tabla 9. Efecto del genotipo y ambiente sobre el peso del fruto de uchuva

Grupos	Genotipo	Localidad	Peso de fruto (g)
a	Ecotipo Colombia	Granada	10,07
b	Var. Andina	Granada	5,68
bc	Var. Dorada	Ramiriquí	5,04
cd	Var. Andina	Ramiriquí	4,76
cd	Ecotipo Colombia	Ramiriquí	4,52
cde	Var. Dorada	Gama	4,42
cdef	Ecotipo Colombia	Gama	4,29
def	Ecotipo Colombia	San Vicente	4,16
ef	Var. Dorada	San Vicente	3,74
ef	Var. Andina	San Vicente	3,70
F	Var. Dorada	Granada	3,57

Letras iguales indican que no hay diferencias significativas Tukey ($P \leq 0,05$).

Tabla 10. Efecto del genotipo y ambiente sobre el diámetro ecuatorial del fruto de uchuva

Grupos	Genotipo	Localidad	Diámetro ecuatorial (mm)
a	Ecotipo Colombia	Granada	23,24
b	Var. Dorada	Ramiriquí	19,39
bc	Ecotipo Colombia	San Vicente Ferrer	19,11
bc	Var. Dorada	Granada	19,01
bc	Ecotipo Colombia	Ramiriquí	18,97
bc	Var. Andina	Granada	18,69
bcd	Var. Dorada	Gama	18,54
cd	Var. Andina	Ramiriquí	17,86
d	Var. Dorada	San Vicente Ferrer	17,36
d	Var. Andina	San Vicente Ferrer	17,28
e	Ecotipo Colombia	Gama	12,44

Letras iguales indican que no hay diferencias significativas Tukey ($P \leq 0,05$).

El peso promedio por fruto y diámetro ecuatorial de los frutos de uchuva de las variedades Corpoica Andina, Corpoica Dorada y ecotipo Colombia en las tres localidades se presentan en la **Signif. Codes** * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,0001$

Tabla 9 y Tabla 10

Los promedios generales para peso de fruto y diámetro ecuatorial de cada genotipo fueron de 4,71 g y 17,94 mm; 4,19 g y 18,57 mm; 5,76 g y 18,44 mm, respectivamente, lo que clasifica a la var. Andina como calibre B y a la var. Dorada y ecotipo Colombia en calibre C según la NTC 4580 (Icontec, 1999), superando los resultados obtenidos por Oliveira et al. (2016) quienes reportaron masas promedio de fruto de $2,77 \pm 0,67$ g y diámetro promedio de $1,67 \pm 0,14$ cm en frutos de uchuva provenientes de la región central-norte de Portugal.

Por su parte, Fischer et al. (2011), compararon los pesos frescos de frutos de uchuva de los ecotipos Kenia y Sur África introducidos en Colombia con cultivares nacionales y

reportaron pesos de los dos primeros de 6,2 a 6,7 g, mientras que los cultivares presentaron pesos promedio de 4,2 g. Aunque en cada localidad, el manejo agronómico fue el mismo para los tres genotipos, cabe resaltar el genotipo comercial (ecotipo Colombia) seleccionado por la exportadora C. I. Frutireyes S.A.S. cultivado en el municipio de Granada, Cundinamarca, que presentó el peso promedio de fruto más alto de todos los materiales con 10,07 g y un diámetro ecuatorial de 23,24 mm. Al respecto, Florez, Fischer y Sora (2000) indican que, bajo condiciones favorables de crecimiento, la producción de frutos más grandes de uchuva ocurre durante el primer pico de la cosecha, especialmente durante el primer año de cultivo, lo cual coincide con la renovación del cultivo de ecotipo Colombia en la finca muestreada.

3.1.2. Firmeza

La prueba de comparaciones múltiples mostró diferencias altamente significativas ($P \leq 0,001$) para la firmeza entre genotipos, localidades y su interacción (**Tabla 11** **Tabla 11**).

Tabla 11. Anova para la firmeza (N) de frutos de uchuva de tres genotipos en tres localidades diferentes

	Df	Tipo I SS	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Localidad	3	14,0273	4,6757	10,86	<0,0001***
Genotipo	2	9,61618	4,8080	11,16	<0,0001***
Localidad x genotipo	5	91,6861	18,337	42,57	<0,0001***

Signif. Codes * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,0001$

Los valores promedio de firmeza obtenidos para los frutos de uchuva en EM 4 de los genotipos Corpoica Andina, Corpoica Dorada y ecotipo Colombia fueron de 3,46 N; 3,08 N y 3,27 N, respectivamente, los cuales fueron superiores a los reportados por Oliveira et al. (2016) quienes obtuvieron un valor promedio de firmeza de $2,40 \pm 0,53$ N para frutos de uchuva maduros, e inferiores a los reportados por Trincherro et al. (1999),

para quienes uchuvas con valores por debajo de 4,5 N son juzgadas como no comercializables por sobremaduración.

Balaguera (2013), determinó la firmeza de frutos de uchuva ecotipo Colombia en diferentes grados de madurez, iniciando en el EM 1 (fruto 25% amarillo - 75% verde y cáliz verde) con una firmeza de 12,98 N y finalizando en EM 4 (fruto 100% naranja y cáliz seco color café) con un valor de firmeza de 4,85 N. Según Balaguera (2013), los estados de madurez EM 1 y EM 4, presentan menor contenido de ceras epidérmicas posiblemente porque en el primer estado no se han sintetizado completamente y en el último ya se han degradado junto con la desintegración celular simultánea.

Tabla 12. Efecto del genotipo y ambiente sobre la firmeza (N) del fruto de uchuva

Grupos	Genotipo	Localidad	Firmeza (N)
ab	Var. Andina	Ramiriquí	4,08
abc	Ecotipo Colombia	Granada	3,81
abc	Var. Dorada	Ramiriquí	3,70
cd	Ecotipo Colombia	San Vicente Ferrer	3,52
de	Var. Andina	San Vicente Ferrer	3,16
de	Var. Andina	Granada	3,14
de	Ecotipo Colombia	Gama	3,04
de	Var. Dorada	San Vicente Ferrer	2,93
de	Var. Dorada	Gama	2,89
ef	Var. Dorada	Granada	2,81
f	Ecotipo Colombia	Ramiriquí	2,47

Letras iguales indican que no hay diferencias significativas Tukey ($P \leq 0,05$).

La variedad Andina cosechada en Ramiriquí presentó el valor más alto de firmeza (**Tabla 12**) mientras que el ecotipo en la misma zona presentó el valor más bajo, habiendo sido cosechadas el mismo día. La variedad Corpoica Dorada, presentó valores de firmeza bajos en los departamentos de Cundinamarca y Antioquia con un promedio de 2,88 N, mientras que en el municipio de Ramiriquí estuvo en un promedio de 3,70 N, esto posiblemente a que en las localidades de Granada, Gama y San Vicente

se presentaron temperaturas diarias más altas a comparación de Ramiriquí durante la maduración del fruto, lo que pudo favorecer el incremento en la tasa respiratoria de este y por consiguiente mayor actividad poligalacturonasa, pectinmetilesterasa y otras glicosidasas relacionadas con la pérdida de firmeza en los frutos climatéricos (Majumder y Mazumdar, 2002).

Osterloh et al. (1996) afirman que una elevada disminución de la firmeza del fruto obedece a un alto metabolismo y una maduración acelerada, derivada de altas temperaturas. En consecuencia, Rugkong et al. (2011) demostraron que en frutos de tomate los genes relacionados con la degradación de la pared celular PG (poligalacturonasa), PE1 (pectin metilesterasa 1), TBG4 (β -galactosidasa 4), LeExp1 (expansina1), y XTH5 (xiloglucano endotransglucosilasa/hidrolasa 5) tuvieron menor expresión relativa a bajas temperaturas.

3.1.3. Pigmentación y cambio de color

En la **Tabla 13** se presentan las respectivas coordenadas colorimétricas de los frutos de cada genotipo. Frutos inmaduros de coloración verde se caracterizan por presentar valores negativos de la coordenada a^* del espacio de color CIELab, al madurar el fruto, los valores de a^* se tornan positivos y los b^* aumentan a valores alrededor de 55,79 en estado EM 6 que corresponden a la madurez de consumo (Balaguera, 2013). Así mismo, el valor de L^* (luminosidad), se incrementa de manera proporcional al estado de maduración.

La expresión matemática para determinar el cambio de coloración en los frutos se lleva a cabo mediante el uso del índice de color (IC), en el que a medida que el fruto de uchuva madura, el IC incrementa pasando de valores negativos en EM 1 a un valor aproximado de 4,17 en EM 6 (Balaguera, 2013).

Tabla 13. Coordenadas colorimétricas de los frutos de tres genotipos de uchuva en EM 4. Índice de Color: (IC=1000xa*/L*xb*)

Genotipo	L*	a*	b*	IC
Var. Andina	66,56	17,10	52,39	4,99
Var. Dorada	63,63	18,18	47,15	6,29
Ecotipo Colombia	65,11	17,79	49,79	5,83

Los cambios en la coloración de los frutos, en general, se deben a la degradación de la clorofila por la actividad de enzimas del tipo clorofilasa y clorofila oxidasa que disocian el residuo de fitol y el anillo de la porfirina de la molécula de clorofila (Valpuesta et al., 1996; Kariola et al., 2005) y a la acumulación de carotenoides y antocianinas en algunos casos para evitar la fotoinhibición (Matile et al., 1999). En la uchuva, se han reportado las clorofilas y carotenoides como pigmentos principales y su contenido varía dependiendo del estado de madurez, condiciones climáticas, el ecotipo, presencia de fisiopatías, prácticas de poscosecha, entre otros (Fischer et al., 2000; Gutiérrez et al., 2008; Castro et al., 2008; Álvarez-Herrera et al., 2012).

Estudios realizados por Pinchao, Osorio y Ordoñez (2016), indican que, para un índice de madurez de 10,69 en frutos de uchuva, los valores de las coordenadas L*, a* y b* alcanzan valores de $63,52 \pm 0,23$; $18,85 \pm 0,24$ y $48,37 \pm 0,52$ respectivamente, acercándose a los valores reportados en el presente estudio. Así mismo, los autores indican que los cambios en la concentración de carotenoides en el fruto de uchuva estuvieron estrechamente relacionados con el cambio de la coloración del fruto, ya que 80% de las correlaciones realizadas entre la relación a*/b* y el contenido de carotenoides, explicarían el modelo. El valor de a* aumenta, mientras que el valor de L* disminuye a medida que el índice de madurez y la concentración de carotenoides aumentan (Khoo et al., 2011).

Fischer y Martínez (1999), mediante HPLC reportaron que el contenido de carotenoides expresados como β -caroteno en frutos de uchuva tuvo un incremento lineal en su

concentración (235 μg de β -caroteno/100 g muestra fresca) hasta que el fruto adquirió una coloración naranja en el EM 4. Así mismo, frutos de los ecotipos Colombia, Kenia y Sur África cultivados en el país presentaron mayor contenido de β -caroteno cuando se sembraron a 2.300 msnm en comparación a cultivos de 2.690 msnm, sugiriendo que los frutos sintetizan mayor cantidad de β -caroteno a temperaturas altas (Fischer et al., 2000).

Relacionando lo anterior con la pigmentación de los genotipos cosechados en la presente investigación (**Tabla 14**) y tomando la coloración del fruto como medida indirecta de la concentración de carotenoides en el fruto, se esperaría que los frutos que alcanzaron mayor valor de la coordenada a^* (posición entre coloración verde y rojo) en el municipio de San Vicente Ferrer (que se encuentra a menor altitud, 2.354 msnm) presenten mayor acumulación de carotenoides a comparación de los frutos de otras localidades.

Tabla 14. Color de la epidermis de frutos de uchuva de las variedades Corpoica Andina, Corpoica Dorada y ecotipo Colombia cosechadas en tres localidades.

Genotipo	Localidad	L*	a*	b*	IC	
Var. Andina	San Vicente Ferrer	65,19	20,82	50,01	6,40	bc
	Granada	69,51	14,14	55,36	3,67	f
	Ramiriquí	64,97	16,35	51,82	4,89	e
Var. Dorada	San Vicente Ferrer	64,85	21,02	51,28	6,33	bc
	Gama	63,99	17,97	53,05	5,33	de
	Granada	60,53	16,03	32,01	8,29	a
Ecotipo Colombia	Ramiriquí	65,13	17,72	52,27	5,22	de
	San Vicente Ferrer	65,07	20,62	54,89	5,78	cd
	Gama	63,34	19,65	47,20	6,61	b
Colombia	Granada	67,95	14,19	52,79	3,99	f
	Ramiriquí	63,17	16,96	41,61	6,96	b

Valores promedios seguidos de letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas, según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$). Índice de Color: ($IC = 100x_a^*/L^*x_b^*$).

3.1.4. Variables fisicoquímicas (pH, SST, acidez total titulable e índice de madurez)

Todas las variables fisicoquímicas presentaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0,01$) entre genotipos y localidades y su interacción como se observa en la **Tabla 15**.

Tabla 15. Medias corregidas por mínimos cuadrados, error estándar medio y valor-P de variables fisicoquímicas de frutos de uchuva de tres genotipos en tres localidades

		pH	SST (°Brix)	Acidez	IM
Localidad	San Vicente	3,8587 a	15,4430 a	2,1803 a	7,1022 b
	Granada	3,6433 b	14,5452 b	1,7792 b	8,0959 a
	Ramiriquí	3,6592 b	11,7871 c	1,6000 c	7,3532 b
	EEM	0,0501	0,2175	0,0333	0,1595
	Valor-P	0,0069	<0,0001	<0,0001	0,0008
Genotipo	Andina	3,5571 b	15,4430 b	1,7792 b	7,5390 b
	Ecotipo Colombia	3,7700 a	14,5452 a	2,0651 a	7,1080 ab
	Dorada	3,8341 a	11,7871 ab	1,7152 b	7,9043 a
	EEM	0,0501	0,2175	0,0333	0,1595
	Valor-P	0,0010	0,0023	<0,0001	0,0078
Localidad*Genotipo		<0,0001	<0,0001	0,0365	<0,0001

Letras iguales indican que no hay diferencias significativas (Tukey $P < 0,05$)

La variable **Tabla 15**pH presentó valores promedio por genotipo de 3,55; 3,76 y 3,69 para las variedades Andina, Dorada y ecotipo Colombia respectivamente. El pH más alto lo obtuvo la variedad Dorada en el municipio de Granada y el más bajo fue para el ecotipo comercial en la misma zona, como se observa en la **Tabla 16**. El ecotipo

presentó los valores de pH más bajos en los dos municipios muestreados en Cundinamarca, mientras que obtuvo valores altos en las localidades de Ramiriquí y San Vicente Ferrer. La variedad Andina mantuvo valores bajos de pH en todas las localidades.

Tabla 16. Efecto del genotipo y ambiente sobre el pH de frutos de uchuva

Grupos	Genotipo	Localidad	pH
A	Var. Dorada	Granada	4,21
Ab	Ecotipo Colombia	Ramiriquí	4,08
Abc	Ecotipo Colombia	San Vicente Ferrer	3,92
abc	Var. Dorada	San Vicente Ferrer	3,87
bcd	Var. Andina	San Vicente Ferrer	3,79
cde	Var. Dorada	Gama	3,57
de	Var. Andina	Ramiriquí	3,48
de	Ecotipo Colombia	Gama	3,46
de	Var. Dorada	Ramiriquí	3,43
e	Var. Andina	Granada	3,40
e	Ecotipo Colombia	Granada	3,32

Letras iguales indican que no hay diferencias significativas (Tukey $P < 0,05$)

El contenido de sólidos solubles totales (SST), diluidos en el jugo del fruto, los cuales están constituidos por 80 a 95% de azúcares (Osterhoh et al., 1996), de las variedades Andina, Dorada y ecotipo Colombia registraron valores de 13,39; 13,44 y 13,86 °Brix. Estos valores resultan ligeramente más altos a los reportados por Balaguera (2013) para frutos en EM 5 (13,17 °Brix) e inferiores a los reportados por la NTC 4580 para un EM 4 (14,5 °Brix). Esta variable obtuvo diferencias significativas entre genotipos y altamente significativas entre localidades (**Tabla 17**).

Tabla 17. Anova para la variable SST de frutos de uchuva de tres genotipos cultivados en tres localidades.

	Df	Tipo I SS	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Localidad	3	137,9256	45,9752	78,99	<0,0001***
Variedad	2	8,08432	4,04216	6,94	0,0024**
Localidad*Variedad	5	37,2348	7,44697	12,79	<0,0001***

Signif. Codes * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,0001

Tabla 18. Efecto del genotipo y ambiente sobre los sólidos solubles totales de frutos de uchuva.

Grupos	Genotipo	Localidad	SST (°Brix)
a	Var. Dorada	San Vicente Ferrer	15,47
a	Var. Andina	San Vicente Ferrer	15,43
a	Ecotipo Colombia	San Vicente Ferrer	15,43
a	Var. Dorada	Granada	14,96
a	Var. Andina	Granada	14,57
a	Ecotipo Colombia	Ramiriquí	14,13
a	Ecotipo Colombia	Granada	14,11
b	Var. Dorada	Gama	12,29
bc	Ecotipo Colombia	Gama	11,79
bc	Var. Dorada	Ramiriquí	11,05
c	Var. Andina	Ramiriquí	10,19

Letras iguales indican que no hay diferencias significativas (Tukey P≤0,05)

Las localidades con mayores valores promedio de SST en todos los genotipos fueron San Vicente Ferrer (15,44 °Brix) y Granada (14,55 °Brix), lo que puede relacionarse con la zona de producción ya que la radiación solar y la humedad relativa en particular tienen una significativa influencia sobre la acumulación de azúcares en los frutos (Beckles, 2012). Sin embargo, bajo condiciones normales, es difícil atribuir el efecto a un solo factor. Son et al. (2009) reportaron mayor contenido de azúcares en frutas y vegetales debido al mayor tiempo de exposición solar y temperatura a diferentes latitudes, ya que generalmente las plantas incrementan la tasa fotosintética a mayor

temperatura e intensidad lumínica, tal como se presenta en los frutos cosechados en los municipios de San Vicente Ferrer y Granada.

Según Beckles (2012), en tomate, temperaturas entre 26 a 30 °C condujeron a un aumento de SST cuando fueron aplicadas durante la división celular de la fruta y durante su maduración, debido a los cambios en la actividad de la enzima biosintética de los carbohidratos (Walker y Ho, 1977), y al incremento en la transpiración (Gautier et al., 2008). Caso contrario, los frutos de las dos variedades cosechadas en el municipio de Ramiriquí presentaron los valores más bajos de SST (**Signif. Codes** * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,0001

Tabla 18 Signif. Codes * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,0001

Tabla 18).

De los materiales genéticos introducidos en el país, el ecotipo Colombia presentaba la mayor cantidad en sólidos solubles hasta el momento (Florez, Fischer y Sora, 2000). Sin embargo, la selección de los materiales Corpoica Andina y Dorada de acuerdo con sus °Brix, indican que efectivamente las nuevas variedades tienen frutos más dulces que el ecotipo convencional.

De acuerdo con Florez, Fischer y Sora (2000), el EM 4 en frutos de uchuva alcanza el máximo contenido de SST y β -caroteno, siendo el periodo que corresponde a la máxima producción de CO₂, el cual proviene de la descarboxilación del ácido málico que pasa directamente a ser ácido pirúvico para iniciar de nuevo el ciclo de Krebs. Evidenciando la gran actividad metabólica que involucra las α - y β -amilasas, que, durante la maduración, hidrolizan el almidón a carbohidratos más simples tipo disacáridos y monosacáridos (sacarosa, glucosa y fructosa, mayoritariamente), aumentando el dulzor característico de la pulpa (Márquez, 2009).

En cuanto a la acidez total titulable (ATT), se registraron valores promedio de 1,78; 1,74 y 2,00% para las var. Andina, Dorada y ecotipo Colombia (**Tabla 19**), siendo inferiores

a los registrados por Balaguera (2013), Fischer y Martínez (1999) y NTC 4580 (Icontec, 1999) para un EM 4. Sin embargo, se presentaron diferencias significativas entre genotipos, localidades y su interacción (**Signif. Codes** * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,0001

Tabla 20). Respecto a este atributo, se entiende la ATT como medida general de la presencia de ácidos en el fruto, por lo tanto, presenta un comportamiento típico de disminución durante la maduración del fruto atribuido principalmente a la utilización de los ácidos orgánicos como sustratos respiratorios y a la conversión de éstos en azúcares; coincidiendo con Orjuela (2016), se presentó una correlación inversa entre el tamaño y peso del fruto y su ATT durante el periodo de precosecha, sustentando la afirmación anterior. Según Amézquita, (2009), Novoa et al. (2006) y Fischer y Martínez, (1999), la uchuva se caracteriza por presentar alta ATT que puede oscilar entre 1,5 y 4%.

Tabla 19. Anova para la variable ATT de frutos de uchuva de tres genotipos cultivados en tres localidades

	Df	Tipo I SS	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Localidad	3	2,6627	0,8875	62,56	<0,0001***
Variedad	2	0,7949	0,3974	28,02	<0,0001***
Localidad*Variedad	5	0,4381	0,0876	6,18	0,0002***

Signif. Codes * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,0001

Tabla 20. Efecto del genotipo y ambiente sobre la acidez total titulable de frutos de uchuva.

Grupos	Genotipo	Localidad	ATT (°Brix)
a	Ecotipo Colombia	San Vicente Ferrer	2,30
a	Var. Andina	San Vicente Ferrer	2,14
a	Ecotipo Colombia	Granada	2,11
a	Var. Dorada	San Vicente Ferrer	2,10
b	Var. Dorada	Granada	1,82
b	Ecotipo Colombia	Ramiriquí	1,80
bc	Ecotipo Colombia	Gama	1,78

bc	Var. Andina	Granada	1,68
cd	Var. Dorada	Gama	1,55
d	Var. Andina	Ramiriquí	1,52
d	Var. Dorada	Ramiriquí	1,50

Letras iguales indican que no hay diferencias significativas (Tukey $P < 0,05$)

Debido a que la acidez influye en la percepción de dulzura, la relación entre los SST y la ATT se usa también como indicador del sabor de un fruto (Suarez et al., 2008). El índice de madurez (IM) presentó valores promedio de 7,53; 7,91 y 6,96 respectivamente, siendo superiores a los reportados por Balaguera (2013) y similares a los reportados por NTC 4580 para un EM 4 (7,1). En la **Tabla 21** se observan los IM para genotipo en cada localidad.

Tabla 21. Efecto del genotipo y ambiente sobre el índice de madurez de frutos de uchuva

Grupos	Genotipo	Localidad	IM
a	Var. Dorada	Granada	8,91
ab	Var. Andina	Granada	8,69
ab	Ecotipo Colombia	Ramiriquí	7,93
abc	Var. Dorada	Ramiriquí	7,42
c	Var. Dorada	San Vicente	7,38
c	Var. Andina	San Vicente	7,22
c	Var. Andina	Ramiriquí	6,71
c	Ecotipo Colombia	San Vicente	6,70
c	Ecotipo Colombia	Granada	6,69

Letras iguales indican que no hay diferencias significativas (Tukey $P < 0,05$)

Las dos variedades presentaron una relación SST/ATT más alta siendo por lo tanto frutos más dulces y menos ácidos, lo que favorece estos frutos para el consumo en

fresco. En cuanto a la discriminación entre variedades, la var. Dorada obtuvo el mayor promedio de valor de IM y el municipio de Granada igualmente.

3.2. Detección de los principales biomarcadores discriminantes de uchuvas variedad Corpoica Dorada, Corpoica Andina y ecotipo Colombia en las localidades cosechadas

3.2.1. Análisis de componentes principales

El análisis por metabolómica no dirigida de los iones de metabolitos de frutos de uchuva de las var. Dorada, Andina y ecotipo Colombia cultivados en los cuatro municipios, se realizó mediante análisis multivariado para visualizar la variación más importante en la dirección del conjunto de datos. El PCA fue utilizado con el determinar los diferentes metabolomas entre las muestras analizadas, por lo que cada punto dentro de la gráfica representa una muestra individual para un total de 11 unidades muestreadas más sus repeticiones por triplicado (**Figura 3**). Para este propósito, un total de 14716 iones que se detectaron por el sistema UPLC / ESI (+)-QTOF/MS fueron analizados en el software SIMCA para obtener los iones de metabolitos más importantes en términos del modelo que explicaran la discriminación entre grupos de genotipos o localidades.

Se observa en la **Figura 3** que no es clara la agrupación de muestras correspondientes a los iones presentes en cada genotipo para cada localidad. El Anova correspondiente al PCA no arrojó diferencias significativas entre genotipos ni entre localidades. Sin embargo, para intentar discriminar la variabilidad entre los factores de estudio se llevó a cabo un análisis de regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA).

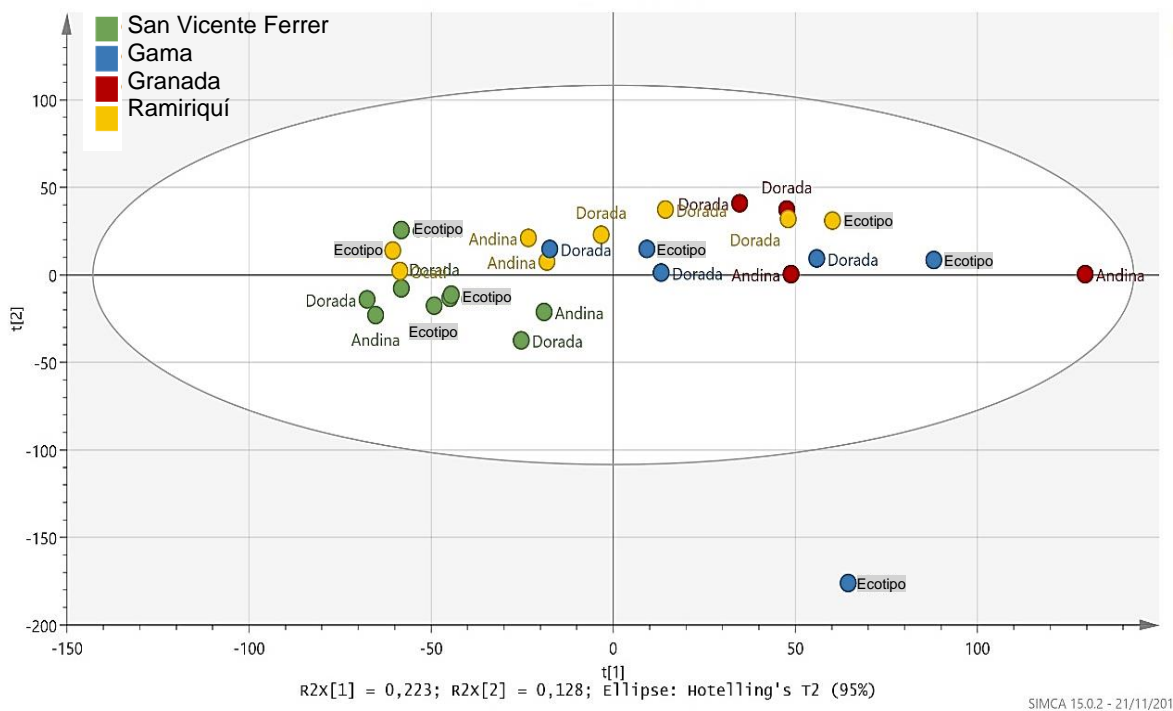


Figura 3. Análisis de componentes principales (PCA) de los análisis por UPLC-ESI (+)-QTOF-MS de extractos de tres genotipos de uchuva cultivadas en tres departamentos productores de Colombia.

3.2.2. Análisis PLS-DA

El método PLS permitió encontrar la dirección multidimensional en el espacio variable X que explica la dirección máxima de la varianza multidimensional en el espacio de respuesta Y. En el presente estudio, se decidió seleccionar como matriz de respuesta las localidades muestreadas “San Vicente Ferrer”, “Gama”, “Granada” y “Ramiriquí”. Luego se definieron tres clases de respuesta y se llevó a cabo el análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) para evaluar la correlación entre la matriz de las variables y la matriz de respuesta. Los resultados del análisis PLS-DA se observan en la **Figura 4** donde se muestra el “score scatter plot” (diagrama de dispersión de puntaje) y en la **Figura 5** donde se muestra, en el mismo espacio, el loading scatter plot (diagrama de dispersión de carga) de las variables.

Las pruebas estadísticas paramétricas del PLS ($R^2Y_{cum} = 0,768$ y $Q^2_{cum} = 0,47$) y el Anova de los residuales de validación cruzada (CV-Anova) con P-valor = 0.059, se consideraron como aceptados al límite para la validación de este modelo.

Por el contrario, los resultados del análisis realizado tomando como matriz de respuesta los genotipos “Andina”, “Dorada” y “Ecotipo Colombia” no presentaron valores significativos en el Anova de residuales, indicando similitud entre las variedades y el ecotipo.

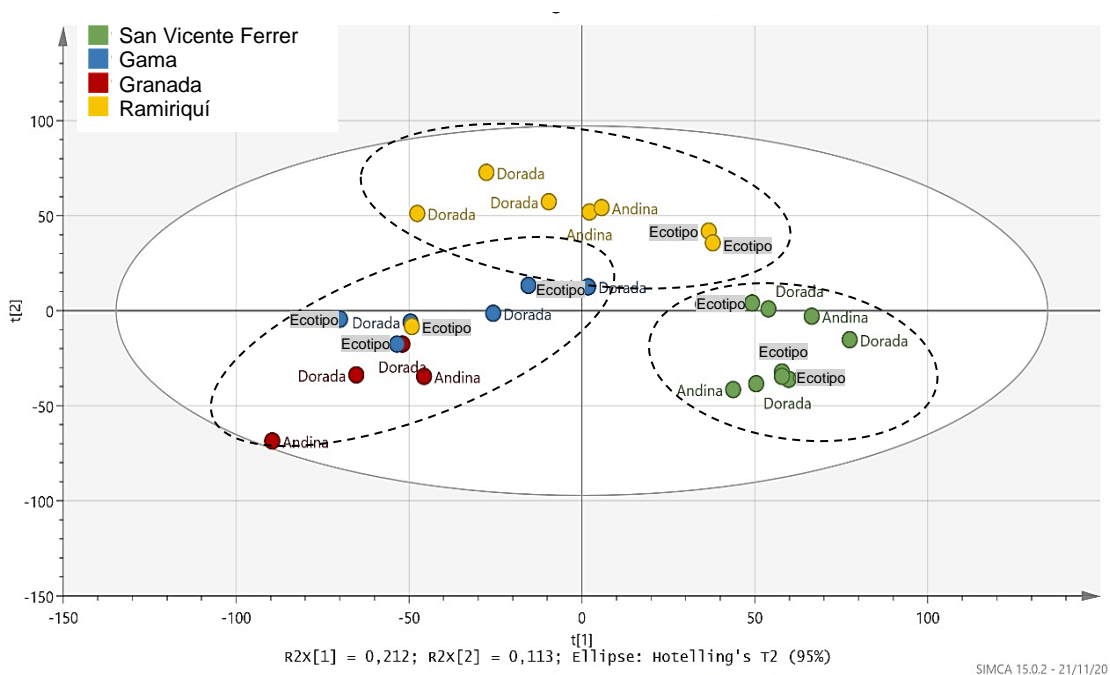


Figura 4. “Score scatter plot” de 11 unidades muestreadas (más repeticiones) por regresión PLS-DA de iones de metabolitos “X” tomando como respuesta (“Y”) las localidades muestreadas ($R^2X_{cum} = 0,424$, $R^2Y_{cum} = 0,768$ y $Q^2_{cum} = 0,47$, CV-Anova=0,059).

Se puede observar que el análisis PLS-DA permitió la discriminación, excepto para una de las muestras del ecotipo Colombia, entre localidades muestreadas (Antioquia - San Vicente, Boyacá - Ramiriquí, Cundinamarca - Granada y Gama) basándose en el 42,4% de la variabilidad total de las muestras ($R^2X_{cum} = 0,424$). En cuanto a la muestra del ecotipo Colombia cosechado en Ramiriquí encontrado fuera del “cluster”, no fue posible realizar otra determinación analítica de su contenido metabólico para poder reconsiderar su información.

El “loading plot” de los análisis UPLC/ESI (+)-QTOF/MS presentado en la **Figura 5** muestra la importancia de algunos iones de metabolitos en la discriminación de los 3 diferentes grupos de localidades (San Vicente, Ramiriquí y Granada-Gama).

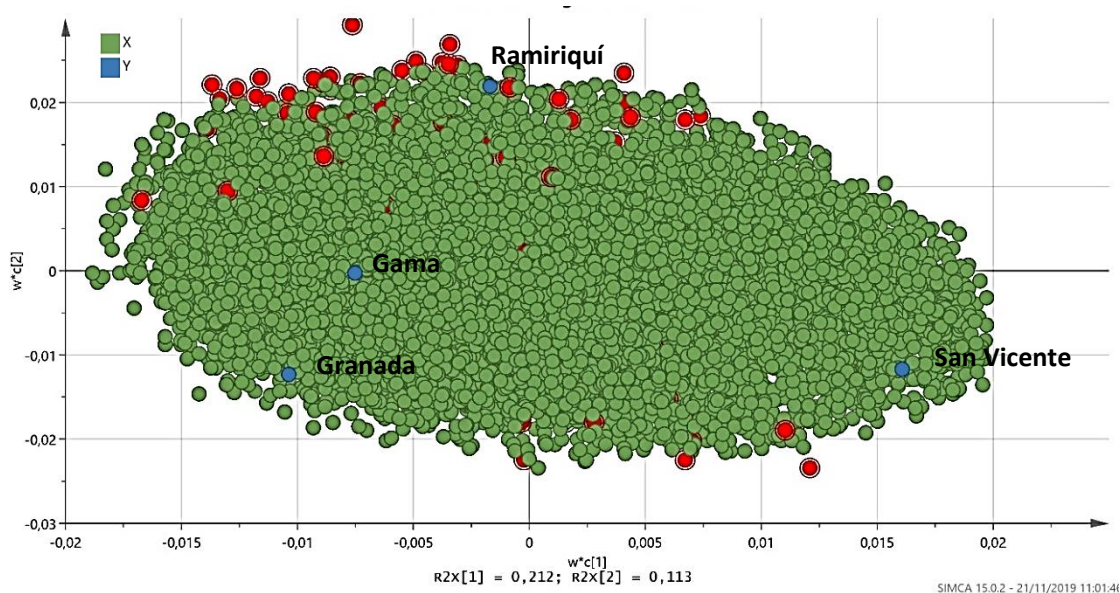


Figura 5. “Loading plot” de iones de metabolitos detectados por UPLC – ESI (+)QTOF/MS “X” por regresión PLS-DA tomando como respuesta (“Y”) las localidades muestreadas ($R^2X_{cum} = 0,424$, $R^2Y_{cum} = 0,768$ y $Q^2_{cum} = 0,47$, $CV\text{-Anova} = 0,059$). Puntos rojos indican principales iones de metabolitos discriminantes.

Para los 4 sitios de muestreo, aparecen resaltados en la **Figura 5** los iones de metabolitos más importantes en términos del modelo que explican la discriminación entre grupos, que corresponden a los VIP. Para los modelos PLS, los VIP son la suma de cuadrados ponderada para los pesos PLS, tomando en cuenta la cantidad de varianza “Y” explicada en cada dirección. Para un modelo dado solo habrá un vector VIP que resume todos los componentes y variable “Y” y es comparable con el VIP de los demás términos que sean mayores a 1. En la **Tabla 22** se muestran los principales iones de metabolitos discriminantes o VIP mayores a 1,7 señalados en el loading plot mostrado previamente y su tentativa asignación.

Tabla 22. Variables de influencia en la proyección (VIP) de mayor capacidad discriminante en el modelo PLS-DA y asignación tentativa de iones de metabolitos mediante bibliotecas espectrales

Rt (min)	Identificación tentativa	Fórmula	Aducto	Masa monoisotópica	m/z [M] ⁺ (medida)	Error (ppm)	Localidad
13,15	O-isobutanoyl-O-(2-methylbutanoyl) sucrose	C21H36O13	(M+Na) ⁺	496,2156	497,1424	-0,9	Ramiriquí
13,94	9-hydroperoxy-12,13-epoxy-10-octadecenoic acid	C18H32O5	(M+Na) ⁺	351,2146	351,2147	-0,1	Gama
11,55	No identificado				810,8736		Gama
9,63	Campesteryl elaidate	C46H80O2	(M+NH ₄) ⁺	681,6468	682,7316	-1,1	Granada
4,72	O-isobutanoyl-O-(2-methylbutanoyl)-Opentenoylsucrose	C26H42O14	(M+H) ⁺	578,2575	577,7771	0,5	Ramiriquí
6,77	Halocynthiaxanthin	C40H54O4	[M+ACN+H] ⁺	639,4522	640,4380	-0,9	Ramiriquí
10,24	No identificado	-	-	-	934,4627		Gama
11,49	No identificado	-	-	-	1239,639		Gama
11,22	No identificado	-	-	-	819,8298		Gama
9,98	No identificado	-	-	-	1132,421 3		Gama
10,62	No identificado	-	-	-	828,3602		Ramiriquí
9,63	O-octanoyl-tri-Oisobutanoyl-sucrose	C32H54O15	(M+H) ⁺	678,3463	682,533	-4,1	Granada
8,54	Di-O-isobutanoyl-Ododecanoyl-O-(2-methylbutanoyl) sucrose	C37H64O15	(M+H) ⁺	748,4245	746,354	2,1	Ramiriquí
5,55	Withanolide D isomer	C28H38O6	[M+H] ⁺	470,2668	465,8069	4,4	Granada
7,02	Di-O-isobutanoyl-Odecanoylsucrose	C30H52O14	(M+H) ⁺	636.3357	639,3091	-3,0	Ramiriquí

Según Llano et al. (2018), en el análisis metabolómico de una planta, muchas de las relaciones m/z permanecen sin identificar debido a la gran diversidad de clases de compuestos, la variación significativa en los patrones de fragmentación de diferentes dispositivos y la poca reproducibilidad entre instrumentos. Cuatro niveles de identificación de metabolitos se pueden encontrar en la literatura publicada sobre metabolómica, la identificación de metabolitos (nivel 1), asignación tentativa de compuestos (nivel 2), caracterización tentativa de clases de compuestos (nivel 3) y el desconocimiento de compuestos (nivel 4) (Sumner et al., 2007; Salek et al., 2013). Por lo tanto, en el presente estudio de metabolómica no dirigida, el nivel de identificación para los VIP seleccionados fue el segundo: compuestos tentativamente asignados, basando su identificación tentativa con base en la similitud del espectro de masas reportado en bibliotecas espectrales públicas sin estándares de referencias químicas, pero que se han caracterizado, identificado, aislado e informado previamente en la literatura.

Pocos estudios acerca de los cambios metabólicos en plantas a consecuencia de cambios del ambiente realizados bajo enfoques metabolómicos se encuentran disponibles. Maruenda et al. (2018) evaluaron frutos de uchuva en ocho regiones dentro de los Andes peruanos con el fin de determinar el perfil metabólico de cada fenotipo por medio de espectroscopía RMN, donde reportaron 16 compuestos cuantificados que a través de análisis Anova de una vía y PLS-DA revelaron una clara separación de los fenotipos entre regiones, probablemente debido al metabolismo adaptativo basado en las condiciones meteorológicas de cada origen geográfico. El coeficiente de variación demostró alta plasticidad fenotípica para aminoácidos (alanina, histidina, glutamina, γ -amino-butyrate (GABA), prolina y valina), mientras que los azúcares (β -fructosa, β -glucosa, α -glucosa y α -fructosa) identificados demostraron baja plasticidad fenotípica y atribuyeron las variaciones entre localidades a consecuencia directa del medio ambiente.

Huo et al. (2017) realizaron la discriminación de 106 muestras de arroz de diferentes provincias geográficas de China utilizando espectroscopía ^1H RMN para la toma de huellas metabólicas del arroz chino. El PCA mostró una clara separación por localidad y el análisis discriminante lineal (LDA) extrajo las variables más discriminantes de esta separación, tales como sacarosa, fructosa, glucosa, succinato, polifenoles, trigonelina y asparagina. La discriminación se explicó sobre la base de variaciones en la temperatura, precipitación y radiación de las provincias muestreadas debido a la influencia sobre la dimensión relativa de hexosas libres acumuladas y sobre del ciclo del carbono que resulta en la partición de azúcares. Información que puede relacionarse al ión discriminado en Ramiriquí con mayor VIP, tentativamente asignado como O-isobutanol-O-(2-metilbutanol) sacarosa.

De acuerdo con lo citado anteriormente, la discriminación de iones de metabolitos por localidad se atribuye a las condiciones meteorológicas propias de cada zona productora. Así, en Ramiriquí los VIP discriminantes serán influenciados por condiciones de menor precipitación anual y mayor altitud que incrementa los niveles de radiación solar ultravioleta (Rivas et al., 2002). Según Valares (2011), el aumento de la altitud implica un descenso progresivo de las temperaturas y el aumento progresivo de la radiación ultravioleta, condiciones correlacionadas positivamente con la concentración de flavonoides y diterpenos en *Veronica chamaedrys* L. debido a la síntesis y almacenamiento de fenoles como compuestos de defensa. Mientras que la baja disponibilidad hídrica disminuye significativamente la concentración de flavonoides y diterpenos.

Las fincas muestreadas en Granada y Gama en Cundinamarca se caracterizaron por tener altitudes similares, con algunas diferencias en precipitación anual y temperatura, siendo Granada el municipio con mayor precipitación anual (1.653 mm) de todas las localidades muestreadas. Los frutos de uchuva de los tres genotipos cosechados en el municipio de Gama, Cundinamarca, presentaron mayor cantidad de biomarcadores discriminantes a comparación de las demás localidades. Esto posiblemente debido a condiciones de estrés a las que hubieran estado sometidas las plantas de uchuva. Gama, aunque no es la localidad con mayor altitud, tiene valores de temperatura muy similares

a Ramiriquí y Granada que suelen presentar deltas de temperatura de hasta 10 °C. Así mismo, las precipitaciones más copiosas tienen lugar en cortos periodos seguidos de días secos, lo que podría activar los mecanismos de defensa de las plantas, y por ende mayor producción de metabolitos.

3.3. Determinación del efecto del genotipo y el ambiente sobre las características fisicoquímicas y los principales biomarcadores discriminantes de frutos de uchuva de las var. Corpoica Dorada, Corpoica Andina y ecotipo Colombia en las localidades cosechadas

El análisis de varianza para las variables fisicoquímicas permitió detectar diferencias altamente significativas entre ambientes (A), entre genotipos (G) y en la interacción genotipo por ambiente (G x A). Para determinar la estabilidad de los genotipos en los ambientes muestreados se llevó a cabo un análisis de componentes principales para los efectos no aditivos de la interacción G x A, modelo denominado AMMI por Gauch y Zobel (1988), el cual no sólo permite estimar estabilidad, sino, también evaluar localidades y como consecuencia clasificar los ambientes (Crossa et al., 1990).

Los análisis individuales de varianza de las variables físicas y fisicoquímicas evaluadas en los frutos de uchuva de los tres genotipos en cada localidad, presentados en la **Tabla 7** del punto 3.1. del presente estudio, revelaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0,01$) entre genotipos, localidades y su interacción. El efecto significativo de la interacción G x A reveló que los genotipos tenían un comportamiento variable en las localidades evaluadas, es decir, se verificó un cambio en el rango promedio de los genotipos entre las localidades, lo que justificaba la realización de un análisis más sensible para aumentar la eficiencia de la discriminación de genotipos. En este sentido, el análisis AMMI representa una herramienta potencial que puede usarse para profundizar la comprensión de los factores involucrados en la manifestación de la interacción G x A.

En el modelo AMMI, el mayor porcentaje de explicación de la interacción G x A se retiene en el primer eje singular; en el eje posterior, este valor disminuirá gradualmente (Gauch y Zobel, 1988). Por lo tanto, para una mayor precisión en la información, es deseable

que la mayor parte del patrón estructural de la suma de cuadrados (SS) de la interacción se capture en el primer eje.

Se decidió evaluar cada grupo de variables físicas, fisicoquímicas y metabolitos discriminantes por separado, con el fin de obtener mayor claridad sobre la interacción G x A sobre la respuesta de dichas variables.

Los autovalores de la matriz de correlación del PCA realizado para las variables físicas (peso unitario, diámetro polar y ecuatorial, coordenadas L*, a*, b*, firmeza de fruto e índice de color), arrojaron tres componentes principales (CP) que explicaron la mayor variabilidad de los datos. El análisis AMMI de las variables físicas evaluadas en los frutos de uchuva de tres genotipos en tres departamentos mostraron que el 5,24% del SS total fue atribuible a los efectos ambientales, el 20,15% a los efectos genotípicos y el 74,61% a los efectos de interacción G x A (**Tabla 23**). Una gran SS para la interacción G x A y genotipo indicó que los genotipos eran diversos y al estar dispuestos en cada localidad causaban la mayor parte de la variación en la respuesta de las características físicas evaluadas.

Tabla 23. Resumen del análisis de varianza y partición de la interacción G x A por el método AMMI, la varianza explicada y su valor acumulado para las variables físicas evaluadas en los frutos de uchuva

Fuente	DF	SS	MS	Explicado	Acumulado
				----- % -----	
Localidad (A)	2	71,13	35,56***		
Genotipo (G)	2	273,78	136,89***		
G x A	4	1013,46	253,36***		
PCI1	3	91,86	30,62***	90,64	90,64
PCI2	1	9,48	9,48	9,35	100
PCI3	-1	0	0	0	100

Signif. Codes * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,0001

En la **Figura 6** se muestra el gráfico biplot generado para las variables físicas, considerando los efectos de los dos primeros CP, donde el primer componente explicó el 90,64% de la varianza total y el segundo componente el 9,35%. En la gráfica se diferencian cuatro sectores delimitados por líneas y círculos azules que representan las localidades muestreadas. En resumen, esta gráfica permite observar que, por la longitud de los vectores, el ambiente que mejor discrimina a los genotipos respecto a la evaluación de variables físicas del fruto es la localidad correspondiente a Granada, Cundinamarca, esto de acuerdo con lo reportado Yan et al. (2000).

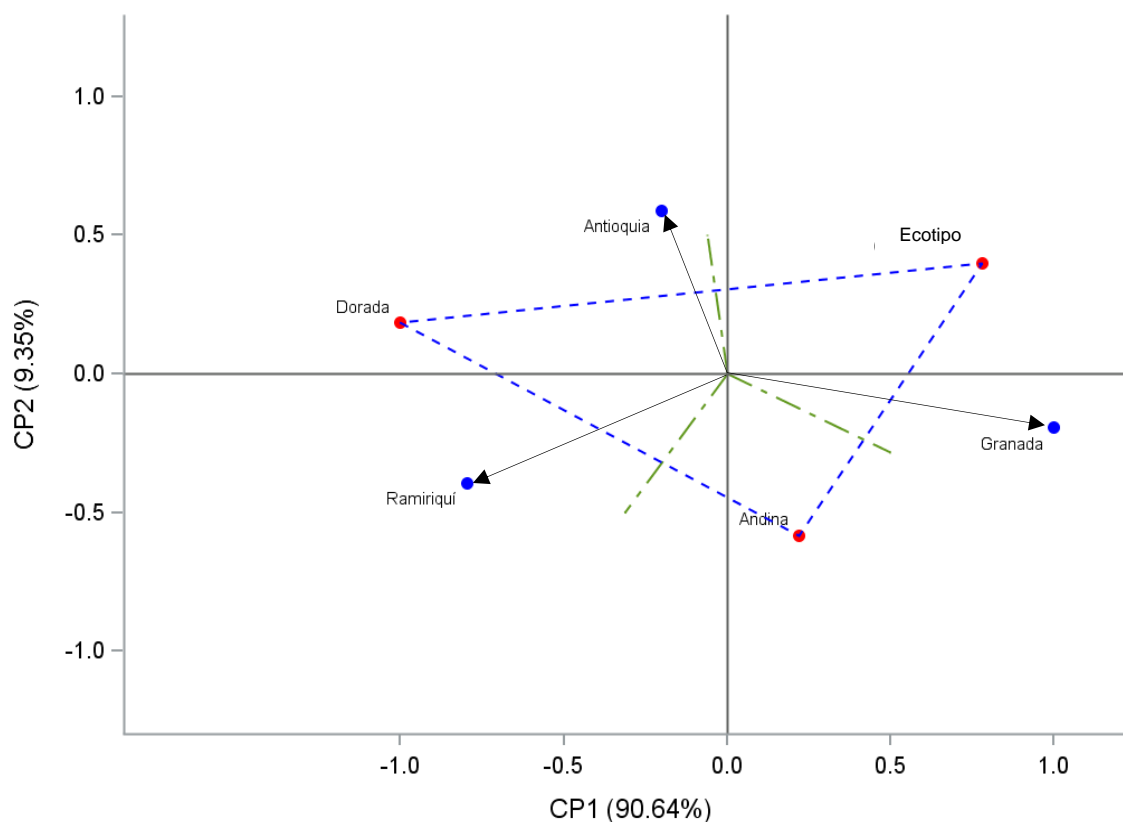


Figura 6. Representación gráfica biplot de la asociación de los genotipos con las localidades particulares respecto a los dos primeros ejes de componentes principales del análisis AMMI para las variables físicas evaluadas en los frutos.

Cada vértice del polígono representa un genotipo que a su vez se ubica entre las localidades señaladas con los vectores, por lo tanto, cada genotipo tiene mayor adaptación específica a los ambientes del sector correspondiente. Así, entre el sector superior e izquierdo correspondientes a las localidades San Vicente Ferrer y Ramiriquí se destaca la Var. Dorada, entre el sector izquierdo y derecho se adapta mejor la Var. Andina, y entre el sector derecho y superior se adapta mejor el ecotipo Colombia.

Los genotipos más cercanos al origen contribuyen poco a la interacción con relación a los que están más alejados, por lo cual son considerados más estables ya que interaccionan menos con los ambientes. Por lo tanto, la Var. Andina presentó mayor estabilidad a través de las localidades, seguido del ecotipo Colombia y Var. Dorada.

Por otra parte, los ambientes ubicados cerca al origen como San Vicente Ferrer (Antioquia) pueden ser considerados más representativos de las condiciones ambientales medias con respecto a factores importantes para la interacción y con muy baja contribución a la interacción. Cada localidad se ubicó en un cuadrante diferente, siendo notoria la diferencia entre departamentos, por lo cual se concluye que las localidades de evaluación fueron escogidas acertadamente para la evaluación de los genotipos ya que permiten una clara discriminación de los materiales genéticos.

Para las variables físicoquímicas evaluadas en los frutos de uchuva (pH, SST, acidez e IM) los autovalores del PCA arrojaron dos componentes principales que explicaron la mayor variabilidad de los datos. El análisis AMMI de las variables físicoquímicas evaluadas mostró que, al contrario de las variables físicas, el 54,76% del SS total fue atribuible a los efectos ambientales, el 11,03% a los efectos genotípicos y el 34,19% a los efectos de interacción $G \times A$ (**Tabla 24****Tabla 23**). Una gran SS para los efectos ambientales indicó que las localidades fueron lo necesariamente diferentes para causar la mayor parte de la variación en la respuesta de las características físicoquímicas evaluadas.

Tabla 24. Resumen del análisis de varianza y partición de la interacción G × A por el método AMMI, la varianza explicada y su valor acumulado para las variables físicoquímicas evaluadas en los frutos de uchuva

Fuente	DF	SS	MS	Explicado	Acumulado
				----- % -----	
Localidad (A)	2	38,12	19,06***		
Genotipo (G)	2	7,68	3,84***		
G x A	4	23,80	5,95***		
PCI1	3	22,30	7,43***	93,69	93,69
PCI2	1	1,50	1,50	6,30	100
PCI3	-1	0	0	0	100

Signif. Codes * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,0001

En la **Figura 7** correspondiente al biplot generado para las variables físicoquímicas evaluadas, los genotipos, dispuestos en los vértices del polígono, muestran que las variables físicoquímicas de los frutos de la Var. Andina se destacan en la localidad de San Vicente Ferrer, mientras que el ecotipo Colombia se adapta mejor a las condiciones de Granada y la Var. Dorada a la localidad de Ramiriquí.

Las variables físicoquímicas de la Var. Andina, así como en las físicas, presentaron mayor estabilidad a través de las localidades, seguido de la Var. Dorada y del ecotipo Colombia.

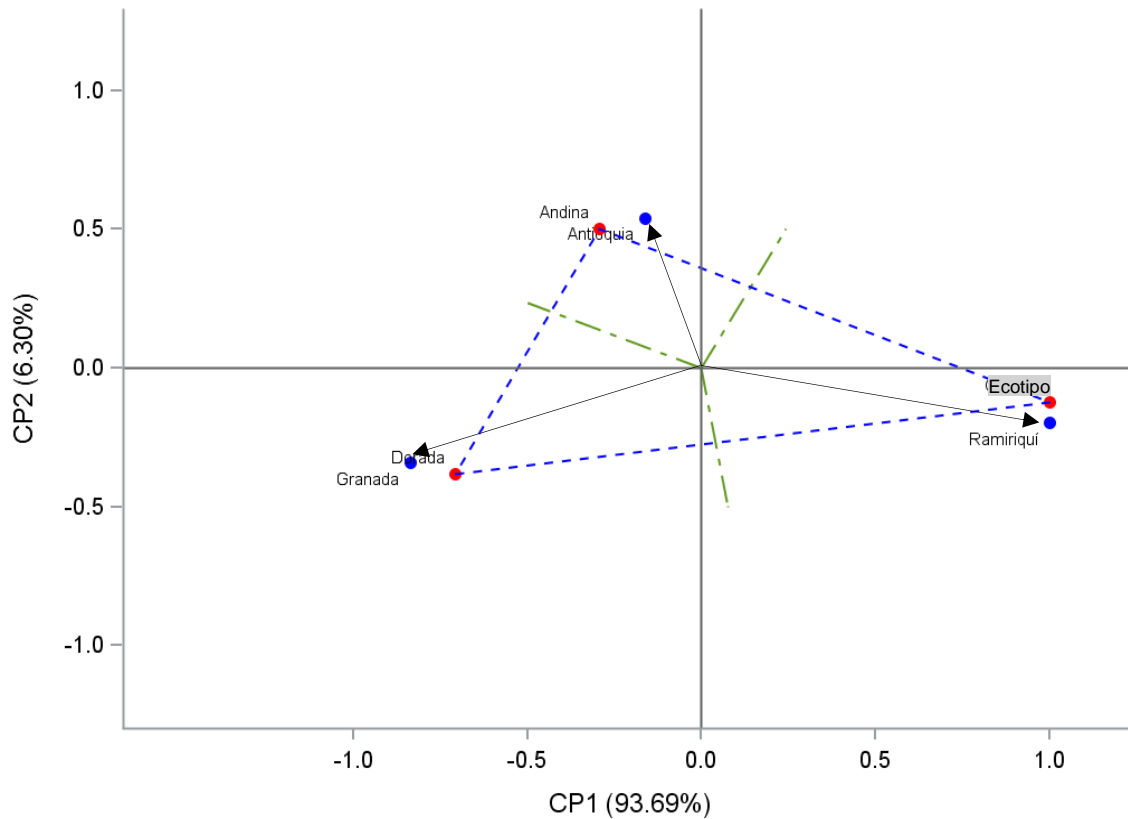


Figura 7. Representación gráfica biplot de la asociación de los genotipos con las localidades particulares respecto a los dos primeros ejes de componentes principales del análisis AMMI para las variables fisicoquímicas evaluadas en los frutos.

Con relación a los ambientes, Yan et al. (2000) señala que aquellos que exhiben entre ellos un ángulo cercano a los 180° tienden a ordenar de manera inversa los genotipos, dificultando la discriminación por ser tan contrastantes, caso que se observa en los tres ambientes. Por la longitud de los vectores el ambiente que mejor discrimina a los genotipos en la evaluación es la localidad de Ramiriquí.

Finalmente, los biomarcadores o iones de metabolitos discriminantes con mayor VIP analizados por UPLC-ESI (+)-QTOF-MS de los tres genotipos en las localidades de San

Vicente Ferrer, Ramiriquí y Granada fueron analizados mediante el modelo AMMI con el cual se obtuvo el biplot correspondiente (**Figura 8**).

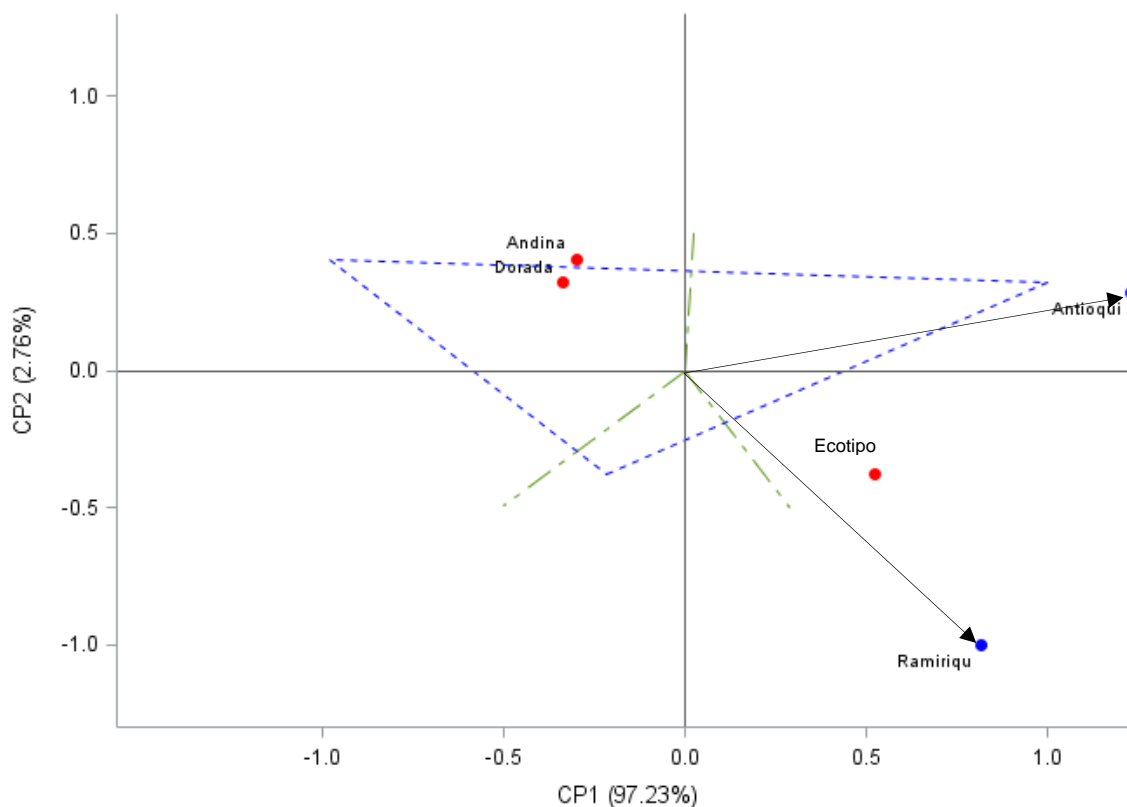


Figura 8. Representación gráfica biplot de la asociación de los genotipos con las localidades particulares respecto a los dos primeros ejes de componentes principales del análisis AMMI para los iones de metabolitos discriminantes con mayor VIP encontrados.

Se observa que el primer componente explica el 97,23% de la varianza total y el segundo componente el 2,76%. En resumen, esta gráfica permite observar que los vectores correspondientes a las zonas de muestreo se encuentran muy distantes una de la otra, ratificando la heterogeneidad de las zonas y la respuesta de las variedades a estas condiciones ambientales.

En cuanto a las diferencias entre genotipos, al igual que los resultados arrojados por el análisis PLS-DA, no se presentaron diferencias significativas (**Tabla 25**). Se puede

observar la cercanía de las variedades Andina y Dorada por lo que se podría inferir que comparten los mismos metabolitos a comparación del ecotipo Colombia. Por su distancia del origen, el ecotipo Colombia contribuiría un poco más a la interacción G x A.

Tabla 25. Anova para biomarcadores discriminantes de frutos de uchuva de tres genotipos en tres localidades diferentes

Origen	DF	Tipo IV SS	Cuadrado de la media	Valor F	Pr > F
Rep	3	5,24501455	1,74833818	0,94	0,4623
Localidad	2	58,63121111	29,31560555	15,71	0,0012**
Genotipo	2	2,50426106	1,25213053	0,67	0,5351
Localidad*Genotipo	4	43,17082949	10,79270737	5,78	0,0138**

Signif. Codes * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,0001

Al encontrarse entre los vectores de Ramiriquí y San Vicente Ferrer, el ecotipo Colombia podría presentar una mejor adaptación a un macroambiente. El vector correspondiente a Granada se encontró ubicado en las coordenadas (-2,52457; 0,94451), por lo que no se observa en el biplot. Debido a su distancia del origen, Granada sería la localidad con mayor discriminación entre genotipos.

4. Conclusiones generales

En el desarrollo del presente estudio, se logró determinar la relación directa entre los factores genotipo y condiciones climáticas de una localidad y los cambios en los parámetros fisicoquímicos de calidad poscosecha del fruto de uchuva. Se evidenció que el ecotipo Colombia en interacción con las condiciones ambientales de la localidad de Granada en Cundinamarca, obtuvo los valores más altos para las variables peso unitario y diámetro ecuatorial (10,07 g y 23,24 mm, respectivamente). Al respecto, el resultado pudo atribuirse en parte a la reciente renovación que había sufrido el cultivo del material genético que pudo influir sobre sus características físicas, ya que a menor edad de producción se obtienen frutos de mayor tamaño y peso, variables fundamentales para la comercialización en mercados internacionales o nacionales especializados.

El parámetro de firmeza, que es fundamental en el manejo poscosecha de este fruto, presentó mayor resistencia a la penetración en la variedad Corpoica Andina (4,08 N), que en conjunto con las condiciones climáticas del municipio de Ramiriquí favorecieron la conservación de la firmeza de los frutos de uchuva al presentarse menor temperatura promedio y menor humedad que evitaron posiblemente la pérdida de agua del fruto por transpiración.

A pesar de la cosecha de los genotipos en un mismo estado de madurez, se evidenció mayor coloración amarilla-naranja en frutos de uchuva recolectados en el municipio de San Vicente Ferrer, Antioquia; reafirmando el efecto de mayor cantidad de radiación absorbida sobre la pigmentación de frutos carnosos.

Los parámetros fisicoquímicos de calidad del fruto de uchuva también presentaron relación directa entre genotipos y condiciones ambientales al presentarse mayor contenido de azúcares reductores (15,44 °Brix) en el municipio de San Vicente Ferrer que presentó la temperatura media más alta a comparación del resto de localidades. A su vez, el ecotipo Colombia evidenció mayor dulzor de sus frutos seguido de la variedad Corpoica Dorada; este último presentó el mayor índice de madurez.

En la fracción analizada por metabolómica no dirigida, no se encontraron diferencias de biomarcadores discriminantes entre genotipos, siendo un resultado poco común de acuerdo con el origen de las variedades recientemente registradas. Se presentó una clara agrupación de iones de metabolitos discriminantes por localidad explicada sobre la base de variaciones en la temperatura, precipitación y radiación de las localidades muestreadas.

Los municipios de Ramiriquí y Gama, posiblemente debido a condiciones extremas de delta de temperatura diaria y precipitación acumulada, presentaron mayor presencia de iones de metabolitos discriminantes a comparación de las demás localidades. Es necesario analizar, en posteriores investigaciones, el efecto del suelo y demás factores precosecha sobre la acumulación de metabolitos secundarios en los genotipos de uchuva.

El modelo AMMI, permitió determinar la estabilidad de los genotipos en los ambientes muestreados. Así para el ecotipo Colombia y la variedad Corpoica Dorada, que fueron los materiales sobresalientes en cuanto a las variables físicas, establece que las localidades de Granada y Ramiriquí permiten expresar todo su potencial fisicoquímico, respectivamente.

Fue posible comprobar mediante el modelo AMMI que las variedades Corpoica Andina y Corpoica Dorada presentaron un comportamiento muy similar en cuanto a los iones de metabolitos discriminantes detectados, tal como se evidenció en la fracción analizada por metabolómica no dirigida

Recomendaciones

Es necesario realizar el fraccionamiento de los m/z detectados por UPLC-ESI-QTOF-MS para lograr la identificación de los biomarcadores con mayor influencia en la proyección.

Teniendo en cuenta la respuesta de las plantas de uchuva a los factores precosecha propios de cada localidad, es necesario evaluar el efecto de la fertilidad del suelo y el manejo agronómico del cultivo sobre la producción de metabolitos secundarios de interés.

5. Literatura citada

Albert, A., Sareedenchai, V., Heller, W., Seidlitz, H.K. & Zidorn, C. (2009). Temperature is the key to altitudinal variation of phenolics in *Arnica montana* L. cv. ARBO. *Oecologia*, 160, 1–8.

Almanza PJ. & Fischer G. (2012). Fisiología del cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). En: Anais II Reuniao Tecnica da Cultura da *Physalis*, UDESC, Lages, Brasil.

Anal dex. (2018). Comportamiento de la uchuva – Producción y comercio. Recuperado de <https://www.analdex.org/wp-content/uploads/2018/02/2018-02-08-Mercado-de-la-Uchuva.pdf>

Anal dex. (2019). Exportaciones de uchuva 2018. Recuperado de <https://www.analdex.org/wp-content/uploads/2019/03/2019-03-04-Informe-de-exportaciones-de-uchuvas-2018.pdf>

Areiza-Mazo, N., Maldonado, M.E. & Rojano, B. (2013). Extracto acuoso de uchuva (*Physalis peruviana*): actividades antiproliferativa, apoptótica y antioxidante. *Perspectivas En Nutrición Humana*, Vol. 15 (1), 41-55

Arakawa, O., Hori, Y. & Ogata, R. (1985). Relative effectiveness and interaction of ultraviolet-B, red and blue light in anthocyanin synthesis of apple fruit. *Physiol Plant.* 64, 323-7

Avila, J., Moreno, P., Fischer, G. & Miranda, D. (2006). Influencia de la madurez del fruto y del secado del cáliz en uchuva (*Physalis peruviana* L.), almacenada a 18 °C. *Acta Agron.* 55 (4), 29 - 38

Badr, A. N. & Naeem, M. A. (2019). Protective efficacy using Cape- golden berry against pre-carcinogenic aflatoxins induced in rats. *Toxicology Reports*, 6, 607–615.

Balaguera-López, H.E., Ramírez, L.V. & Herrera, A. (2014). Fisiología y bioquímica del fruto de uchuva (*Physalis peruviana* L.) durante la maduración y postcosecha. En: Carvalho, C.P. y D.A. Moreno (eds.). *Physalis peruviana: fruta andina para el mundo* (pp. 113-131). Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo-CYTED; Limencop.

Balaguera-López, H.E. (2015). Comportamiento poscosecha del fruto de uchuva (*Physalis peruviana* L.): efecto del 1-metilciclopropeno y de la refrigeración (tesis de Doctorado). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Ballesteros-Vivas, D., Alvarez-Rivera, G., Ibañez, E., Parada-Alfonso, F. & Cifuentes, A. (2019). multi-analytical platform based on pressurized-liquid extraction, in vitro assays and liquid chromatography/gas chromatography coupled to high resolution mass spectrometry for food by-products valorisation. Part 2: Characterization of bioactive compounds from goldenberry (*Physalis peruviana* L.) calyx extracts using hyphenated techniques. *J Chromatogr A*. 1584, 155-164.

Beckles, D. M. (2012). Factors affecting the postharvest soluble solids and sugar content of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology* 63 (1), 129-140.

Beckman, K.B. & Ames, B.N. (1998). The free radical theory of aging matures. *Physiol.* 78, 547-581.

-
- Benning, C. & Stitt, M. (2004). Physiology and metabolism: reacting to the full complexity of metabolic pathways in a postgenomic era. *Curr Opin Plant Biol.* 7, 231–234
- Bilger, W., Rolland, M. & Nybakken, L. (2007). UV screening in higher plants induced by low temperature in the absence of UV-B radiation. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 6, 190–195.
- Borchani, C., Besbes, S., Masmoudi, M., Blecker, C., Paquot, M. & Attia, M. (2011). Effect of drying methods on physico-chemical and antioxidant properties of date fibre concentrates. *Food Chemistry*, 125, 1194–1201.
- Boskou, D., G. Blekas & M. Tsimidou (2005). Phenolic compounds in olive and olives. *Current Topics in Nutraceutical Research.* 3, 125-136.
- Botella-Pavía, P. & Rodríguez-Concepción, M. (2006). Carotenoid biotechnology in plants for nutritionally improved foods. *Physiologia Plantarum*, 126 (3), 369–381.
- Bradshaw, A. D. (2006). Unravelling phenotypic plasticity – why should we bother? *New Phytol*, 170, 644–648
- Bravo, K. & Osorio, E. (2016). Characterization of polyphenol oxidase from Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) fruit. *Food Chem.*, 197 (A), 185–90.
- Brummell, D. A. (2006). Cell wall disassembly in ripening fruit. *Funct Plant Biol*, 33, 103-119.
- Carrasco, R. & Zelada, C. (2008). Determination of antioxidant capacity and bioactive compounds in native Peruvian fruits. *Journal of the Chemical Society Peru*, 74 (2), 108-124.
- Cartaya, O. & Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22 (2), 5-14.

Carvajal Carvajal, C. (2019). Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Medicina Legal de Costa Rica*, 36 (1), 91-100.

Castro, A., Rodriguez, L. & Vargas, E. (2008). Dry gooseberry (*Physalis peruviana*) with pretreatment of osmotic dehydration. *Journal of the Faculty of Chemistry Pharmaceutical*, 15 (2), 226-231.

Cedeño, M., & Montenegro, D. (2004). Plan exportador, logístico y comercialización de uchuva al mercado de Estados Unidos para FRUTEXPO SCI Ltda. Facultad de Ingeniería, vol. Ingeniero Industrial, Bogotá Pontificia Universidad Javeriana.

Césari, M., Stefanoni, M., Ventrera, N. & Gámbaro, A. (2016). Nuevo método de medida del color para alimentos vegetales. En 4° Congreso Internacional de Educación en Ciencias Empíricas en Facultades de Ingeniería ECEFI. Congreso llevado a cabo en Mendoza, Argentina.

Chan, L. K., Koay, S. S., Boey, P. L. & Bhatt, A. (2010). Effects of abiotic stress on biomass and anthocyanin production in cell cultures of *Melastoma malabathricum*. *Biol Res.*, 43, 127-35.

Chen, L. X., He, H. & Qiu, F. (2011). Natural withanolides: an overview [J]. *Nat Prod Rep.* 28 (4), 705-740.

Chernushevich, I. V., Loboda, A.V. & Thomson, B.A. (2001). An introduction to quadrupole-time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 36, 849-865.

Chitarra, M. I. & Chitarra, A. B. (2005). Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. Lavras: ESAL-FAEPE, 785 p.

Christians, U.; Albuissou, J.; Klawitter, J. & Klawitter, J. (2011). In: Biomarkers in Kidney Disease. Charles, L.E.; Md; PhD; Fahaa2 - Charles L. Edelstein, M.D.P.F., Eds.; Academic Press: San Diego, pp. 39-100 p.

Cook, D., Fowler, S., Fiehn, O., & Thomashow, M. F. (2004). A prominent role for the CBF cold response pathway in configuring the low-temperature metabolome of *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 15243–15248.

Corpoica, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. (2016a). Corpoica Andina: variedad de uchuva para Boyacá, Cundinamarca, Antioquia y Nariño. Recuperado de https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/11528/80387_66861.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

Corpoica, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. (2016b). Corpoica Dorada: variedad de uchuva para Boyacá, Cundinamarca y Antioquia. Recuperado de: <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/11565>.

Cortés Díaz, G., Prieto Suárez, G. & Roza Nuñez, W. (2015). Caracterización bromatológica y físicoquímica de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) y su posible aplicación como alimento nutracéutico. *Ciencia en Desarrollo*, 6(1), 87-97. Consulta: Julio de 2019, En: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-74882015000100011&lng=en&tlng=es.

Costa, J., Mafra, I. & Oliveira, M. B. (2012). Advances in vegetable oil authentication by DNA-based markers. *Trends in Food Science and Technology* 26, 43–55.

Crossa, I., Gauch, H. & Zobel, R. (1990) Additive main effect and multiplicative interaction analysis of two international maize cultivar trials. *Crop Sci.* 30, 493-500.

Cubero-Leon, E., De Rudder, O., & Maquet, A. (2018). Metabolomics for organic food authentication: Results from a long-term field study in carrots. *Food Chemistry*, 239, 760-770.

Das, H.P. (2012). Agrometeorology in extreme events and natural disasters. BS Publikations, Hyderabad, India.

Da Silveira, L.C., Kist, V., Mendes de Paula, T.O., Pereira Barbosa, M.H., Peternelli, L.A. & Daros, E. (2013). AMMI analysis to evaluate the adaptability and phenotypic stability of sugarcane genotypes. *Sci. Agric.* v.70 (1), 27-32

Davey, M. P., Burrell, M. M., Woodward, F. I., & Quick, W. P. (2008). Population-specific metabolic phenotypes of *Arabidopsis lyrata* ssp. *petraea*. *New Phytologist*, 177, 380–388.

Davis, V.W., Bathe, O.F., Schiller, D.E., Slupsky, C.M. & Sawyer, M.B. (2011). Metabolomics and surgical oncology: Potential role for small molecule biomarkers. *J. Surg. Oncol.* 103 (5), 451-459.

De Puente, L.A., Pinto-Muñoz, C.A., Castro, E.S. & Cortés, M. (2011). *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit. A review. *Food Research International*, 44, 1733-40.

Dettmer, K.; Aronov, P.A. & Hammock, B.D. (2007). Mass spectrometry-based metabolomics. *Mass Spectrom. Rev.*, 26 (1), 51-78.

Drozen, M., Harrison, T. (1998). Structure/function claims for functional foods and nutraceuticals. *Nutraceuticals World*, 1, 8–18.

Durrant, W. E. & Dong, X. (2004). Systemic acquired resistance. *Annual review of phytopathology* 42, 185-209

Encina Zelada, C. R., Ureña, M. O. & Repo Carrasco, R. (2012). Determinación de compuestos bioactivos del aguaymanto (*Physalis peruviana*, linnaeus, 1753) y de su conserva en almíbar maximizando la retención de ácido ascórbico. ECIPERU. http://guzlop-editoras.com/web_des/ing01/alimentaria/pld0292.pdf. Consulta: Julio 2019.

Ertürk O., Çol Ayvaz M., Can Z., Karaman Ü., Korkmaz K. (2017). Antioxidant, antimicrobial activities and phenolic and chemical contents of *Physalis peruviana* L. from Trabzon, Turkey. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 51(3), 213-216.

European Medicines Agency, EMEA. (2008). Reflection paper on markers used for quantitative and qualitative analysis of herbal medicinal, https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-reflection-paper-markers-used-quantitative-qualitative-analysis-herbal-medicinal-products_en.pdf. Consulta: octubre de 2019.

Evans, C. R. & Jorgenson, J. W. (2004). Multidimensional LC-LC and LC-CE for high-resolution separations of biological molecules. *Anal Bioanal Chem*, 378, 1952–1961.

Fancy, S. A. & Rumpel, K. (2008). In: *Biomarker Methods in Drug Discovery and Development*. Wang, F., Ed.; Humana Press. pp 317-340.

Fang, S. T., Liu, J.-K., & Li, B. (2012). Ten new withanolides from *Physalis peruviana*. *Steroids*, 77(1-2), 36-44.

Febles Fernández, C., Soto Febles, C., Saldaña Bernabeu, A. & García Triana, B. E. (2002). Funciones de la vitamina E: Actualización. *Revista Cubana de Estomatología*, 39(1), 28-32.

Ferreira, H.I. (2005). Atividade antitumoral (in vitro e in vivo) das fisalinas isoladas de *Physalis angulata* Lin. Dissertação (Mestrado em Farmacologia)- Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza.

Florez, V., Fischer, G. & Sora, A. (2000). Producción, poscosecha y exportación de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía.

Fiehn, O. (2002). Metabolomics--the link between genotypes and phenotypes. *Plant Mol. Biol.*, 48 (1-2), 155-171.

Fischer G., Ebert G., Ludders 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, 263-267.

Fischer G. (2005). El problema del rajado del fruto de uchuva y su posible control. pp. 55-82. En: Fischer, G., D. Miranda, W. Piedrahita y J. Romero (eds.). *Avances en cultivo, poscosecha y exportación de la uchuva (Physalis peruviana L.) en Colombia*. Unibiblos, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Fischer G., Ebert G. & Lüdders P. (2007). Production, seeds and carbohydrate contents of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) fruits grown at two contrasting Colombian altitudes. *Journal of Applied Botany and Food Quality*. 81 (1), 29-35.

Fischer, G., Herrera, A. & Almanza, P.J. (2011). Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) pp. 374-396. En: Yahia, E.M. (ed.) *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits*. Vol. 2. Acai to citrus. Woodhead Publishing, Oxford, U.K.

Fischer, G. & Miranda, D. (2012). Uchuva (*Physalis peruviana* L.). in: Fischer, G. (Ed.). *Manual para el cultivo de frutales en el trópico*. Bogotá: Produmedios, pp.851-873.

Fischer, G. & Orduz-Rodríguez, J.O. (2012). Ecofisiología en frutales. pp. 54-72. In: Fischer, G. (ed.). *Manual para el cultivo de frutales en el trópico*. Produmedios, Bogotá.

Fischer G., Almanza-Merchán J. P. & Miranda D. (2014). Importancia y cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(1): 1-15

Fraga, C. G., Mactino, U. S., Ferraro, G. E., Coussio, J. F. & Boveris, A. (1987). Flavonoids as antioxidants evaluated by in vitro and in situ liver chemiluminescence. *Biochem Med Metabol Biol.*, 36:717-720.

Fujita, M., Fujita, Y., Noutoshi, Y., Takahashi, F., Narusaka, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K. & Shinozaki, K. (2006) Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current

view from the points of convergence in the stress signaling networks. *Current Opinion in Plant Biology* 9 (4), 436-442.

Galvis J.A., Fischer, G. & Gordillo, O. (2005). Cosecha y poscosecha de la uchuva, En: Fischer G., Miranda D., Piedrahíta W. y Romero J. Avances en cultivo, poscosecha y exportación de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) en Colombia. Unibiblos, Universidad Nacional de Colombia, 165-190.

García, H.R., A. C. Peña & C. García. (2008). Manual de práctica de cosecha y acondicionamiento de la uchuva con fines de exportación, Corpoica, Bogotá.

García, M. C. (2013). Bioconversion des ellagitannins de la mure tropicale de montagne (*Rubus adenotrichos*) et relation avec l'écologie du microbiome intestinal. Tesis Doctoral, Ecole doctorale Sciences des Procédés – Sciences des Aliments Unité Mixte de recherche (UMR).

Gariglio, N.F., R.A. Pilatti, & Agustí, M. (2007). Requerimientos ecofisiológicos de los árboles frutales. pp. 41-82. In: Sozzi, G.O. (ed.). Árboles frutales. Ecofisiología, cultivo y aprovechamiento. Editorial Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Buenos

Gauch, H. & Zobel, R. (1996). AMMI analysis of yield trials. In: M.S. Kang y H.G. Gauch. (eds.). Genotype-by-Environment interaction. CRC Press, Boca Ratón. pp. 85-122

Gautier, H., Diakou-Verdin, V., Benard, C., Reich, M., Buret, M., Bourgaud, F., Poessel, J.L., Caris-Veyrat, C. & Genard, M., (2008). How does tomato quality (sugar, acid, and nutritional quality) vary with ripening stage, temperature, and irradiance?. *J. Agric. Food Chem.* 56, 1241–1250.

Glish, G.L. & Vachet, R.W. (2002). The basics of mass spectrometry in the twenty first century. *Nature Reviews.* 2, 140-150

Goodacre, R., Vaidyanathan, S., Dunn, W.B., Harrigan, G.G. & Kell, D.B. (2004). Metabolomics by numbers: acquiring and understanding global metabolite data. *Trends Biotechnol.*, 22 (5), 245-252.

Gouvea, D. R., Gobbo-Neto, L., & Lopes, N. P. (2012). The influence of biotic and abiotic factors on the production of secondary metabolites in medicinal plants. *Plant bioactives and drug discovery*, 419–452.

Granados-Conde, C., Torrenegra-Alarcón, M. & Tejada-Tovar, C. N. (2017). Caracterización de la pulpa de *Physalis peruviana* L. cultivada en el departamento de Norte de Santander – Colombia. *Bistua: Revista de la Facultad De Ciencias Basicas*, 15(1), 42-56.

Griffiths, W.J., Koal, T., Wang, Y., Kohl, M., Enot, D.P. & Deigner, H.P. (2010). Targeted metabolomics for biomarker discovery. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 49 (32), 5426-5445.

Gutiérrez, M.S., Trincherro, G.D., Cerri, A.M. Vilella, F. & Sozzi, G.O. (2008). Different responses of goldenberry fruit treated at four maturity stages with the ethylene antagonist 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biol. Technol.* Vol. 48, 199–205.

Halliwel, B. & Gutteridge, J.M.C. (1995). The Definition and Measurement of Antioxidants in Biological Systems. *Free Radical Biology and Medicinal*. 18, 125-126.

Halliwel B. (2007). *Biochemistry of Oxidative Stress* Biochemical Society Transactions, 35, 1147-1150.

Häkkinen, S. H., Kärenlampi, S. O., Heinonen, I. M., Mykkänen, H. M. & Törrönen, A. R. HPLC method for screening of flavonoids and phenolic acids in berries. *J. Sci. Food Agric.* 1998b, 77, 543-551.

Harborne, J. B. & Baxter, H. (1999). *The handbook of natural flavonoids*. Vol.1-2. New York: John Wiley and son.

Hassan, H. A., Seraga, H. M., Qadira, M. S., Ramadan, M. F. (2017). Cape gooseberry (*Physalis peruviana*) juice as a modulator agent for hepatocellular carcinoma linked apoptosis and cell cycle arrest. *Biomed. Pharmacother.*, 94, 1129–1137.

Hernandez, M. M. (2015). Actividad antioxidante y citotóxica de las fisalinas y de los flavonoides presentes en las hojas de *Physalis peruviana* L. Tesis para optar al Grado Académico de magíster en Recursos Vegetales y Terapéuticos. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad De Farmacia Y Bioquímica, Lima, Perú.

Hicks, J. J. (2001). *Bioquímica*. McGraw-Hill. México. 900 pp.

Huo, Y., Kamal, G.M., Wang, J., Liu, H., Zhang, G., Hu, Z., Anwar, F., & Du, H. (2017). 1H NMR-based metabolomics for discrimination of rice from different geographical origins of China. *Journal of Cereal Science*, 76, 243-252.

ICBF. (2015). Tabla de composición de alimentos colombianos. https://www.icbf.gov.co/sites/default/files/tcac_2015_final_para_imprimir.pdf. Consulta: septiembre de 2019.

Icontec. (1999). Norma Técnica Colombiana NTC 4580. Frutas frescas. Uchuva, especificaciones

Ismail, N. & Alam, M. (2001). A novel cytotoxic flavonoid glycoside from *Physalis angulata*. *Fitoterapia*, 72, 676-9.

Kaddurah-Daouk, R.; Kristal, B.S. & Weinshilboum, R.M. (2008). Metabolomics: a global biochemical approach to drug response and disease. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 48, 653-683.

Kaplan, F., Kopka, J., Haskell, D. W., Zhao, W., Schiller, K. C., Gatzke, N., et al., (2004). Exploring the temperature-stress metabolome of *Arabidopsis*. *Plant Physiology*. 136, 4159–4168.

Kariola, T., G. Brader, J. Li & T. Palva. (2005). Chlorophyllase 1, a damage control enzyme, affects the balance between defense pathways in Plants. *Plant Cell* 17, 282-294.

Khan, M. A., Khan, H., Khan, S., et al. (2009). Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of *Physalis minima* Linn. [J]. *J Enzym Inhib Med Ch*, 24(3), 632-637.

Khoo H.E., Prasad K.N., Kong K. W., Jiang Y. & Ismail A. (2011). Carotenoids and their isomers: Color pigments in fruits and vegetables. *Molecules*, 16(2), 1710-38

Kristensen, M. (2010). Potential disease prevention from apple intake, in Department of Human Nutrition/Preventive Nutrition. University of Copenhagen: Copenhagen. p. 62.

Labarca, V. B., Vicuna, C.G., Alvarez, P.F., Fuentes, I.Q. & Won, M. P. (2013). Extraction of β -carotene, vitamin C and antioxidant compounds from *Physalis peruviana* (Cape gooseberry) assisted by high hydrostatic pressure. *Journal of Food and Nutrition Science*, 4, 109-118.

Lan, Y. H., Chang, F. R., Pan, M. G., Wu, C. C., Wu, S. J., Chen, S. L., et al. (2009). New cytotoxic withanolides from *Physalis peruviana*. *Food Chemistry*, 116, 462-469.

Leterme, P., Buldgen, A., Estrada, F., Londoño, A.M. (2006). Mineral content of tropical fruits and unconventional foods of the Andes and the rain forest of Colombia. *Food Chemistry*, 95(4), 644-652

Legge, A.P. (1974). Notes on the history, cultivation and uses of *Physalis peruviana* L. *Journal of the Royal Horticultural Society, London*, 99 (7), 310- 314.

Lindon, J.C. & Nicholson, J.K. (2008). Analytical technologies for metabonomics and metabolomics, and multi-omic information recovery. *Trends Analyt. Chem.*, 27 (3), 194-204.

Liu, Y., Song, L. L., Yu, W. W., Hu, Y. Y., Ma, X. H., Wu, J. S. & Ying, Y. Q. (2015). Light quality modifies camptothecin production and gene expression of biosynthesis in *Camptotheca acuminata* Decne seedlings. *Industrial Crops and Products*, 66, 137-143.

Lorenzo, M. & Pico, Y. (2017). Gas Chromatography and Mass Spectroscopy Techniques for the Detection of Chemical Contaminants and Residues in Foods. En D. Srenk & A. Cartus. Chemical Contaminants and Residues in Food (pp. 15-50). Sawston, Cambridge: Woodhead Publishing.

Lucchese, C. I., Guruk, P. D. & Marczak, L. D. F. (2015). Osmotic dehydration of (*Physalis peruviana* L.): Evaluation of water loss and sucrose incorporation and the quantification of carotenoids. LWT-Food Science and Technology, 63, 1128-1136.

Machlin, L.J., Bendich, A. (1987). Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. Faseb J. 1, 441-445.

Magalhães, H. I., Veras, M. L., Torres, M. R., Alves, A. P., Pessoa, A. D. & Silveira, E. R., (2006). In vitro and in vivo antitumour activity of Physalins B and D from *Physalis angulata*. J Pharm Pharmacol, 58, 235-41.

Majumder, K. & Mazumdar. B. (2002). Changes of pectic substances in developing fruits of cape-gooseberry (*Physalis peruviana* L.) in relation to the enzyme activity and evolution of ethylene. Scientia Horticulturae. 96, 91-101.

Marín, Z. (2009). Viabilidad de desarrollo de uchuva (*Physalis peruviana* L.) mínimamente procesada enriquecida con microorganismos probióticos a partir de la Ingeniería de Matrices. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Maestría en Ciencia y Tecnología de alimentos. Universidad Nacional de Colombia, Medellín, pp. 152.

Marín A, Z. T., Cortés R, M., & Montoya C, O. I. (2010). Frutos de uchuva (*Physalis peruviana* L.) ecotipo 'Colombia' mínimamente procesados, adicionados con microorganismos probióticos utilizando la Ingeniería de Matrices. Rev. Fac. Nal. Agr. 63(1), 5395-5407.

Márquez, C. (2009). Caracterización fisiológica, físicoquímica, reológica, nutracéutica, estructural y sensorial de la guanabana (*Annona muricata* L.).

Maruenda, H., Cabrera, R., Cañari-Chumpitaz, C., Lopez, J. M., & Toubiana, D. (2018). NMR-based metabolic study of fruits of *Physalis peruviana* L. grown in eight different Peruvian ecosystems. *Food Chemistry*, 262, 94–101.

Mastuti, R. & Soryidah, M. (2019). In Vitro Environmental Stresses for Enhancing Withanolides Production in *Physalis angulata* L. IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 239p.

Matile, P., S. Hörtensteiner y H. Thomas. 1999. Chlorophyll degradation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50, 67-95.

Medina, P. 2012. Implementación de una metodología para la obtención de marcadores de frutos de *Physalis peruviana* L., y evaluación de actividad hipoglicemiante. Tesis Magister en Ciencias Farmaceuticas. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia. Bogotá, Colombia.

Membrillo Ortega, Agustín, Córdova Izquierdo, Alejandro, Hicks Gómez, Juan José, Olivares-Corichi, Ivonne María, Martínez Torres, Víctor Manuel, & Valencia Méndez, Javier de Jesús. (2003). Peroxidación lipídica y antioxidantes en la preservación de semen: Una revisión. *Interciencia*. 28(12), 699-704.

Mendoza Ch, J. H., Rodríguez de S, A., & Millán, P. (2012). Caracterización fisicoquímica de la uchuva (*Physalis peruviana*) en la región de Silvia Cauca. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 10(2), 188 - 196.

Mokhtar, S.M., Swailam, H.M., Embaby, H.E-S. (2017) Physicochemical Properties, Nutritional Value and Techno-functional Properties of Goldenberry (*Physalis peruviana*) Waste powder. *Food Chemistry*. 248, 1–7.

Monteiro, M.S., Carvalho, M., Bastos, M.L. y Guedes de Pinho, P. (2013). Metabolomics Analysis for Biomarker Discovery: Advances and Challenges. *Current Medicinal Chemistry*. 20, 257-271

Moon, Y., Morris, M. (2006). Dietary flavonoids: Effects on xenobiotic and carcinogen metabolism. *Toxicology in vitro*. 20, 187-210.

-
- Mora R., Peña A., López E., Ayala J.J., Ponce D. (2006). Agrofenología de *Physalis peruviana* L. en invernadero y fertirriego. Revista Chapingo, Serie Horticultura. 12 (1), 57-63.
- Morais, P.L.D.; Miranda, M.R.A.; Lima, L.C.O.; Alves, J.D.; Alves, R.E. y Silva. J.D. (2008). Cell wall biochemistry of sapodilla (*Manilkara zapota*) submitted to 1-methylcyclopropene, Braz. J. Plant Physiol. 20 (2), 85-94
- Moreno-González, J.; Crossa, J.; Cornelius, P.L. 2004. Genotype × environment interaction in multi-environment trials using shrinkage factors for AMMI models. Euphytica. 137, 119-127.
- Morison, J. I. L. & Lawlor, D. W. (1999). Interactions between increasing CO₂ concentration and temperature on plant growth. Plant Cell Environ. 22, 659-82.
- Naidu, K. (2003). Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. Nutritional Journal, 2(1) 1-10.
- Nordstrom, A.; Lewensohn, R. (2010). Metabolomics: moving to the clinic. J. Neuroimmune Pharmacol. 5 (1), 4-17.
- Oldiges, M.; Lutz, S.; Pflug, S.; Schroer, K.; Stein, N.; Wiendahl, C. (2007). Metabolomics: current state and evolving methodologies and tools. Appl. Microbiol. Biotechnol. 76 (3), 495-511.
- Olivares Tenorio, M., Dekker, M., Verkerk, R., & A.J.S van Boekel, M. (2016). Health-promoting compounds in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.): Review from a supply chain perspective. Trends in Food Science & Technology. 83-92.
- Osorio, C., Schreckinger, M.E., Bhargava, P., Bang, W. Y., Jacobo-Velázquez, D. A., & Cisneros-Zevallos, L. (2016). Golden berry and selected tropical (açai, acerola, and maqui) juices. En F. Shahidi & C. Alasalvar (Eds.), Handbook of Functional Beverages and Human Health (p. 890). Boca Raton: Taylor y Francis Group.

Osterloh, A., G. Ebert, W.H. Held, H. Schulz y E. Urban. 1996. Lagerung von Obst und Südfrüchten. Verlag Ulmer, Stuttgart. 253 p.

Parra-Coronado, A. & Miranda, D. (2016). La calidad poscosecha de los frutos en respuesta a los factores climáticos en el cultivo. Agron. Colomb. Supl. 1.

Patti, G.J.; Yanes, O.; Siuzdak, G. (2012). Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 13 (4), 263-269.

Patil, B., Jayaprakasha, G. Chidambara Murthy, K. y Vikram, A. (2009). Bioactive Compounds: Historical Perspectives, Opportunities, and Challenges. J. Agric. Food Chem. 57, 8142–8160.

Pinchao, Y., Osorio, O. & Ordoñez-Santos, L. (2016). Correlación del índice de madurez de uchuva (*Physalis peruviana*) y tomate de árbol (*Solanum betaceum*) con la concentración de carotenoides. Vitae 23 (Supl. 1), S260-S263.

Plou Gasca, F. J. & Torres Salas, P. (2019). Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). En M. Faraldos & C. Goberna (Ed.), Técnicas de análisis y caracterización de materiales (pp. 787-827). Madrid, España: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Puente L.A., Pinto-Muñoz C.A., Castro E.S., Cortés M. (2011). *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. Food Research International, 44, 1733-1740

Ramadan, M.F. and J.T. Moersel, (2003). Oil goldenberry (*Physalis peruviana* L.). J. Agric. Food Chem., 51, 969-974.

Ramadan, M. F. y Morsel, J. T. (2004). Goldenberry: A novel fruit source of fat soluble bioactives. Inform. 15, 130–131.

Ramadan, M.F. and J. Morsel, (2007). Kachnar seed oil. Inf. Champaign, 18, 13-15.

-
- Ramadan, M. F. (2011). Bioactive phytochemicals, nutritional value, and functional properties of cape gooseberry (*Physalis peruviana*): An overview. *Food Research International*, 44 (7), 1830-1836.
- Ramakrishna, A. y Aswathanarayana, G. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*; 6(11), 1720-1731
- Rao SR, Ravishankar GA. (2002). Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnol Adv.*; 20, 101-53.
- Rasmussen, L.; Savorani, F.; Larsen, T.; Dragsted, L.; Astrup, A.; Engelsen, S. (2011). Standardization of factors that influence human urine metabolomics. *Metabolomics*, 7 (1), 71-83.
- Ravisankar, P., Abhishekar Reddy, A., Nagalakshmi, B., Sai, O., Vijaya, B. y Sai P. (2015). The comprehensive review on fat soluble vitamins. *IOSR Journal Of Pharmacy*, 5(11), 12-28.
- Rehm, S.; Espig, G. (1991). *the cultivated plants of the tropics and subtropics*. Weihersheim: Verlag Margraf (Ed).
- Roessner, U.; Bowne, J. What is metabolomics all about? *Biotechniques*, (2009), 46 (5), 363-365.
- Rivas, M., Rojas, E., Cortés, J. & Santander, E. (2002). Efecto de la altura en la radiación solar ultravioleta en Arica norte de Chile. *Revista Facultad de Ingeniería, U.T.A.* 10, 59-62.
- Rodrigues, E., Rockenbach, I. I., Cataneo, C., Gonzaga, L.V., Chaves, E.S. and Fett, R. (2009). Minerals and essential fatty acids of the exotic fruit *Physalis peruviana*L. *Journal of Food Science and Technology*, 29(3): 2009.

- Rugkong, A., R. McQuinn, J.J. Giovannoni, J.K.C. Rose y C.B. Watkins. (2011). Expression of ripening-related genes in cold-stored tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology* 61, 1-14.
- Ryan, D.; Robards, K.; Prenzler, P.D.; Kendall, M. (2011). Recent and potential developments in the analysis of urine: a review. *Anal. Chim. Acta*, 684 (1-2), 8-20
- Salek, R., Steinbeck, C, Viant, R., Goodacre, R. y Dunn, W. (2013). The role of reporting standards for metabolite annotation and identification in metabolomic studies. *GigaScience*, 2:13.
- San Feliciano, A., Pérez, A.L., Del Olmo, E., Martínez, J.C., Pérez, C., Jiménez, C., Ravelo, A.G. (2008). Manual de determinación estructural de compuestos naturales. CYTED; organización del Convenio Andrés Bello, Bogotá Colombia.
- Scalbert, A.; Brennan, L.; Fiehn, O.; Hankemeier, T.; Kristal, B.; Ommen, B.; Pujos-Guillot, E.; Verheij, E.; Wishart, D.; Wopereis, S. (2009). Massspectrometry-based metabolomics: limitations and recommendations for future progress with particular focus on nutrition research. *Metabolomics*, 5 (4), 435-458.
- Semel, Y., Schauer, N., Roessner, U., Zamir, D., & Fernie, A. R. (2007). Metabolite analysis for the comparison of irrigated and non-irrigated field grown tomato of varying genotype. *Metabolomics*, 3, 289-295.
- Sherman, W.B. & Beckman, T.G. (2003). Climate adaptations in fruit crops. *Acta Hort.* 622, 411-428.
- Sitrit, Y. & Bennet, A. (1998). Regulation of Tomato Fruit Polygalacturonase mRNA Accumulation by Ethylene: A Re-Examination. *Plant physiology*, 116(3), 1145-50
- Son, H.-S., Hwang, G.-S., Kim, K.M., Ahn, H.-J., Park, W.-M., Van Den Berg, F., Hong, Y.-S. & Lee, C.-H. (2009). Metabolomic studies on geographical grapes and their wines using ¹H NMR analysis coupled with multivariate statistics. *J. Agric. Food Chem.* 57, 1481-1490.

Spratlin, J.L.; Serkova, N.J.; Eckhardt, S.G. (2009). Clinical applications of metabolomics in oncology: a review. *Clin. cancer res.* 15 (2), 431-440.

Suarez, M.H., Rodriguez, E.M.R. & Romero, C.D. (2008). Chemical composition of tomato (*Lycopersicon esculentum*) from Tenerife, the Canary Islands. *Food Chem.* 106, 1046-1056.

Sumner, L. W., Amberg, A., Barrett, D., Beale, M. H., Beger, R., Daykin, C. A., Fan, T. W. M., Fiehn, O., Goodacre, R., Griffin, J. L., Hankemeier, T., Hardy, N., Harnly, J., Higashi, R., Kopka, J., Lane, A. N., Lindon, J. C., Marriott, P., Nicholls, A. W., Reily, M. D., Thaden, J.J., & Viant, M. R. (2007). Proposed minimum reporting standards for chemical analysis chemical Analysis Working Group (CAWG) Metabolomics Standards Initiative (MSI). *Metabolomics: Official Journal of the Metabolomic Society*, 3(3), 211-221.

Sun CP, Qiu CY, Yuan T, et al. (2016). Antiproliferative and anti-inflammatory withanolides from *Physalis angulata* [J]. *J Nat Prod.* 79(6), 1586-1597.

Szefer, P., & Nriagu. J. (2007). *Mineral components in foods*. New York: CRC

Tandon, R.K. & Garg, P.K. (2011). Oxidative stress in chronic pancreatitis: pathophysiological relevance and management, *Antioxid. Redox Signal.* 15 (10), 2757-2766.

Tapas, A.R., Sakarkar, D. M. & Kakde, R. B. (2008). Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7 (3), 1089-1099

Theodoridis, G., H.G. Gika, & I.D. Wilson. Mass spectrometry-based holistic analytical approaches for metabolite profiling in systems biology studies. *Mass spectrometry*, 2011. 30: p. 884-906.

Tomassini, T.C.B., et al. (2000). Gênero *Physalis* – Uma revisão sobre witaesteróides. *Química Nova*, 23:47-57.

Tomoyoshi, S.; Maria, R. & Monton, N. (2009). In: *The Metabolic Pathway Engineering Handbook*; CRC Press. 14 (11),14-12.

Trincherro, G.; Sozzi, G.; Cerri, A.M.; Vilella, F. & Frascina, A. (1999). Ripening-related changes in ethylene production, respiration rate and cell-wall enzyme activity in goldenberry (*Physalis peruviana* L.), a solanaceous species. *Postharvest Biol. Technol.* 16, 139–145.

Ulaszewska, M. M. et al. Nutrimetabolomics: an integrative action for metabolomic analyses in human nutritional studies. *Molecular Nutrition and Food Research.* 63, 1800384.

U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service (2019) Food composition databases page. En: <https://ndb.nal.usdagov/ndb/nutrients>. Consulta: 17 July 2019

Valares, C. (2011). Variación del metabolismo secundario en plantas debida al genotipo y al ambiente. Tesis de Doctorado en Ciencias. Universidad de Extremadura, Badajoz, España.

Vallad G.E. & Goodman, R.M. (2004) Systemic Acquired Resistance and Induced Systemic Resistance in Conventional Agriculture. *Crop Science* 44 (6), 1920-1934.

Valladares, F., Gianolim E., Gomez, J.M. (2007) Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytol* 176: 749–763

Vallejo C., F. & Estrada, E. (2002) *Mejoramiento Genético de Plantas* Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, Palmira, Colombia. 402p.

Vallejo C., F., Espitia M., Estrada, E. & Ramírez, H. (2010) *Genética Vegetal* Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, Palmira, Colombia. 383p.

Valpuesta, V., M.A. Quesada & M.S. Reid. (1996). Senescencia y abscisión. pp. 479-492. En: Azcón-Bieto, J. y M. Talón (eds.). *Fisiología y bioquímica vegetal*. Interamericana McGraw-Hill, Bogotá.

-
- Viant, M. & Sommer, U. (2013). Mass spectrometry based environmental metabolomics: a primer and review. *Metabolomics*. 9, S144–S158.
- Vilar-Rojas, C., Guzmán-Grenfel, A.M. & Hicks, J.J. (1996). Participation of oxygen-free radicals in the oxido-reduction of proteins. *Arch Med Res*. 27, 1-6.
- Vincente, A.R., Manganaris, G.A., Ortiz, C.M., Sozzi, G.O. & Crisosto, C.H. (2014) Nutritional quality of fruits and vegetables. In: Florkowski WJ, Shewfelt RL, Brueckner B, Prussia SE (eds) *Postharvest Handling*, 3rd edn. Academic Press Elsevier, California, pp 69–122
- Walker, A.J. & Ho, L.C., (1977). Carbon translocation in tomato—effects of fruit temperature on carbon metabolism and rate of translocation. *Ann. Bot*, 41, 825–832.
- Wang, J.H.; Byun, J. & Pennathur, S. (2010). Analytical approaches to metabolomics and applications to systems biology. *Sem. Nephrol*. 30 (5), 500-511.
- Weckwerth, W. (2003). Metabolomics in systems biology. *Annu. Rev. Plant Biol*. 54, 669-689.
- Weiss, R.H. & Kim, K. (2012). Metabolomics in the study of kidney diseases. *Nat. Rev. Nephrol*. 8 (1), 22-33.
- Westwood, M.N. (1993). *Temperate-zone pomology: physiology and culture*. 3rd ed. Timber Press, Portland, OR.
- Wilson, I. D., Nicholson, J. K., Castro-Perez, J., Granger, J. H., Johnson, K. A., Smith, B. W., & Plumb, R. S. (2005). High resolution "ultra performance" liquid chromatography coupled to oa-TOF mass spectrometry as a tool for differential metabolic pathway profiling in functional genomic studies. *J Proteome Res*. 4(2), 591-598.
- Wolfender, J. L., Rudaz, S., Choi, Y. H. & Kim, H. K. (2013). Plant metabolomics: From holistic data to relevant biomarkers. *Current Medicinal Chemistry* 20, 1056–1090.

Yanes, O.; Tautenhahn, R.; Patti, G.J. & Siuzdak, G. (2011). Expanding Coverage of the Metabolome for Global Metabolite Profiling. *Anal. Chem.* 83 (6), 2152-2161.

Yan, W.L., Hunt, A., Sheng, Q. & Szlavnic, Z. (2000) Cultivars evaluation and mega-environment investigation based on GGE biplot. *Crop Sci.* 40, 597-605.

Zapata, J. E., Ciro, G. L. y Marulanda, P. (2016). Optimization of pulsed vacuum osmotic dehydration of the cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) using the response surface methodology. *Agronomía Colombiana* 34(2), 228-238.

Zhang W, Seki M, Furusaki S. (1997). Effect of temperature and its shift on growth and anthocyanin production in suspension cultures of strawberry cells. *Plant Sci.* 127, 207-14.

Zhang, Y.J., Deng, F.G., Xu, R.X., Wu, S., Li, S. & Li, H.B. (2013). Chemical Components and Bioactivities of Cape Gooseberry (*Physalis peruviana*). *IJFNS.* 3, 15-24.