



**TESIS DE MAESTRIA**

**“Elementos moleculares que determinan el desarrollo del fruto en especies de  
*Capsicum*”.**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS  
EN INGENIERÍA BIOQUÍMICA**

PRESENTA

**IBQ. Rossy Guadalupe Olán Villegas**

DIRECTORA DE TESIS

**Dr. Humberto Ramírez Medina**

CO-DIRECTOR DE TESIS

**Dra. Fabiola León Galván**



“2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria”

Celaya, Gto., 19/octubre/2020

**POSGRADO DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA**

OFICIO No. PIBQ/02/01/2020

**Asunto:** Autorización de Impresión Tesis

**ING. TERESA SÁNCHEZ PÉREZ**  
**JEFA DEL DEPTO. DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA**  
**P R E S E N T E**

De acuerdo con la convocatoria hecha por la jefatura a su digno cargo, para que en reunión de los miembros del comité tutorial de la tesis avalada por la Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica se examinara la tesis titulada:

**“Elementos moleculares que determinan el desarrollo del fruto en especies de *Capsicum*”**

Presentada por la alumna, **C. Rossy Guadalupe Olán Villegas**, con número de control **M1803117**, Aspirante al Grado de Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica. Después de intercambiar opiniones, los miembros del comité tutorial, manifestaron **APROBAR y AUTORIZAR LA IMPRESIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

**ATENTAMENTE**  
*La técnica por un México mejor ®*  
**EL COMITÉ TUTORIAL**

Humberto R. Medina

Dr. Humberto Ramírez Medina  
DIRECTOR DE TESIS

Dra. Fabiola León Galván  
CO-DIRECTOR DE TESIS

Dr. Guillermo Antonio Silva Martínez  
SECRETARIO

Dr. Leopoldo González Cruz  
VOCAL

COORDINADOR DE LA MAAESTRÍA EN  
CIENCIAS EN INGENIERÍA BIOQUÍMICA

Dr. Leopoldo González Cruz

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO  
en Celaya  
DPTO. DE INGENIERÍA  
BIOQUÍMICA

C.c. p. Dr. Gerardo Acosta García.- Presidente del Consejo de Posgrado  
LGC/mgg





TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO  
en Celaya



MAESTRIA EN CIENCIAS DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA  
Celaya, Gto., 19/Octubre/2020.  
Asunto: Carta de Cesión de Derechos.

C.M.E.D. IGNACIO LÓPEZ VALDOVINOS  
DIRECTOR DEL TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO EN CELAYA

PRESENTE

En la ciudad de Celaya, Guanajuato, México el día 19 del mes de octubre del año 2020, la que suscribe **Rossy Guadalupe Olán Villegas**, alumna de la **Maestría en Ciencias de Ingeniería Bioquímica** con número de control **M1803117**, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la **Dr. Humberto Ramírez Medina**, y cede los derechos del trabajo “**Elementos moleculares que determinan el desarrollo del fruto en especies de *Capsicum***” al **Instituto Tecnológico de Celaya** para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso del autor y directores del trabajo. Este podrá ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones de correo electrónico: [m1803117@itcelaya.edu.mx](mailto:m1803117@itcelaya.edu.mx), [humberto.ramirez@itcelaya.edu.mx](mailto:humberto.ramirez@itcelaya.edu.mx). Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

**Rossy Guadalupe Olán Villegas**  
Nombre y Firma

## **DEDICATORIA**

A Jesucristo, Porque el Señor da la sabiduría, y de su boca viene el conocimiento y la inteligencia (Proverbios 2:6).

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a Dios, por cada una de las bendiciones y misericordias diarias a mi vida.

Agradezco a mi hermosa y adorable familia, son lo mejor que tengo.

Agradezco a mi Comité de tesis, por sus observaciones y sugerencias.

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS .....	iv
ÍNDICE DE TABLAS .....	v
ÍNDICE DE GRÁFICAS .....	vi
ABSTRACT .....	vii
INTRODUCCIÓN .....	10
1. ANTECEDENTES.....	12
1.1 <i>Capsicum annuum</i> .....	12
1.1.1 Origen del cultivo.....	12
1.1.2 Taxonomía .....	12
1.1.3 Descripción de la planta .....	13
1.1.4 Variedades .....	14
1.1.5 Producción mundial .....	14
1.1.6 Producción nacional .....	15
1.2 <i>Capsicum annuum</i> variedad jalapeño .....	15
1.2.1 Generalidades.....	15
1.2.2 Taxonomía .....	16
1.2.3 Desarrollo de la planta.....	16
1.2.4 Morfología de la planta .....	16
1.2.5 Morfología del fruto .....	17
1.2.6 Distribución en México .....	18
1.3 Metabolismo vegetal.....	18
1.3.1 Metabolitos secundarios .....	19
1.3.2 Biosíntesis de metabolitos secundarios .....	20
1.3.3 Compuestos fenólicos.....	23
1.3.3.1 Biosíntesis de compuestos fenólicos.....	23
1.3.4 Carotenoides .....	24
1.3.4.1 Biosíntesis de carotenoides .....	24
1.3.5 Capsaicinoides .....	26
1.3.5.1 Biosíntesis de los capsaicinoides.....	26
1.3.6 Importancia de los metabolitos secundarios .....	28
1.3.6.1 Salud .....	28

1.3.6.2 Potenciador de propiedades sensoriales .....	29
1.3.6.3 Industrial .....	29
1.4 Factores que afectan el desarrollo de la planta.....	29
1.4.1 Fitohormonas .....	29
1.4.2 Ácido giberélico (giberelinas) .....	30
1.4.2.1 Biosíntesis del ácido giberélico .....	30
1.4.3 Ácido indolacético (auxinas) .....	32
1.4.3.1 Biosíntesis de las auxinas .....	32
JUSTIFICACIÓN .....	34
HIPÓTESIS .....	35
OBJETIVOS.....	36
Objetivo general .....	36
Objetivos específicos.....	36
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	37
2.1 Material vegetal y condiciones de crecimiento .....	37
2.2 Tratamiento con fitohormonas .....	37
2.3 Fruto.....	37
2.3 Diseño experimental .....	37
2.4 Actividad antioxidante.....	39
2.4.1 Preparación de la muestra.....	39
2.4.2 Prueba de DPPH (2,2-difenil-1-picrylhydrazyl) .....	39
2.4.3 Ensayo ABTS (2, 2'-Azinobis-3-etil- benzotiazolina-6-ácido sulfónico).....	39
2.4.4 Ensayo de FRAP (Capacidad antioxidante-reducción férrica) .....	40
2.5 Contenido total de compuestos fenólicos .....	40
2.6 Contenido total de carotenoides .....	40
2.7 Contenido de capsaicinoides .....	41
2.8 Extracción de proteínas.....	41
2.9 Cuantificación de proteínas.....	42
2.10 Electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) en una dimensión.....	43
2.11 Análisis in silico .....	43
2.12 Diseño de oligonucleótidos .....	43
2.13 Desarrollo experimental.....	45

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	46
3.1 Rendimiento de plantas y frutos.....	46
3.2 Secado de la muestra .....	48
3.3 Actividad antioxidante.....	49
3.4 Contenido de compuestos fenólicos .....	53
3.5 Contenido de carotenoides totales .....	56
3.6 Contenido de capsaicinoides .....	58
3.7 Electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE).....	60
3.8 Efecto de la aplicación exógena de fitohormonas en perfiles transcripcionales .....	69
CONCLUSIONES .....	73
PERSPECTIVAS.....	74
BIBLIOGRAFÍA .....	75



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de la República Mexicana donde señala Tehuacán.....	12
Figura 2. Flor de <i>Capsicum annuum</i> .....	13
Figura 3. Partes del fruto de <i>Capsicum annuum</i> .....	17
Figura 4. Recolección de chile jalapeño en Las Delicias.....	18
Figura 5. Rutas principales de metabolitos secundarios.....	20
Figura 6. Las diferentes rutas de metabolitos secundarios se derivan de precursores en la vía del ácido siquímico (shikimico).....	21
Figura 7. Biosíntesis de compuestos fenólicos simples.....	24
Figura 8. Biosíntesis de carotenoides en plantas.....	25
Figura 9. Biosíntesis de la capsaicina.....	27
Figura 10. Representación esquemática del flujo de gibelinas en la planta.....	31
Figura 11. La hormona vegetal auxina.....	32
Figura 12. Frutos cosechados de plantas bajo tratamientos diferentes.....	47
Figura 13. Perfil de proteína total de plantas control.....	61
Figura 14. Perfil electroforético de diferentes concentraciones de muestra control.....	61
Figura 15. Comparación de perfiles proteicos de extractos obtenidos de botones floral ....	63

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Países que ocupan los primeros lugares en producción de chiles. ....	14
Tabla 2. Principales Estados de la República Mexicana productores de chile.....	15
Tabla 3. Taxonomía de <i>Capsicum annuum</i> .....	16
Tabla 4. Número aproximado de metabolitos secundarios conocidos en plantas. ....	19
Tabla 5. Metabolitos secundarios principales (compuestos bioactivos) en chile jalapeño. .	22
Tabla 6. Genes involucrados en la biosíntesis de las giberelinas (GAs).....	30
Tabla 7. Características de los tratamientos (diseño factorial 22).....	38
Tabla 8. Selección de tejido.....	38
Tabla 9. Oligonucleótidos para Real-Time PCR. ....	44
Tabla 10. Efecto la aplicación de fitohormonas sobre el desarrollo y rendimiento de plantas de chile. ....	46
Tabla 11. Cantidad de muestra liofilizada necesaria para alcanzar el valor IC50 y EC20. .	51
Tabla 12. Cantidad de muestra secada mediante convección para alcanzar el valor IC50 y EC50.....	53
Tabla 13. Análisis de varianza en diferentes tejidos del chile jalapeño.....	54
Tabla 14. Contenido de fenoles totales (mg ácido gálico equivalente /g de muestra seca) en diferentes tejidos del fruto (chile jalapeño) de plantas tratadas con fitohormonas.....	54
Tabla 15. Análisis de varianza en diferentes tejidos del chile jalapeño.....	56
Tabla 16. Contenido de carotenoides totales (mg/g d.b. de $\beta$ -caroteno equivalentes) en el pericarpio fruto de chile jalapeño en plantas tratadas con fitohormonas. ....	57
Tabla 17. Análisis de varianza en diferentes tejidos del chile jalapeño.....	58
Tabla 18. Contenido de capsaicina (mg/g d.b.) en diferentes tejidos del fruto de chile jalapeño, secado por convección o liofilizado, de plantas tratadas con fitohormonas. ....	59
Tabla 19. Estimación de pungencia (Unidades Scoville, SHU). ....	60
Tabla 20. Número de bandas en el gel (separador) de poliacrilamida.....	62
Tabla 21. Masa molecular estimado (kDa) de las fracciones proteicas obtenidas a partir de la electroforesis SDS-PAGE para evaluar el efecto de los diferentes tratamientos con fitohormonas. ....	62
Tabla 22. Proteínas reportadas en hojas y botones florales de <i>Capsicum annuum</i> . ....	64
Tabla 23. Efectos de ácido indolacético exógeno sobre el proteoma de <i>Arabidopsis t.</i> .....	68
Tabla 24. Efectos de ácido giberélico exógeno sobre el proteoma de <i>Oryza sativa</i> .....	68

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Estimación del contenido de algunos compuestos bioactivos en muestras de <i>C. annuum</i> secadas mediante dos métodos diferentes. Abreviación, LF, proceso de secado por liofilización y SC, proceso de secado por convección.....	49
Gráfica 2. Valor IC50 (ABTS Y DPPH) y EC50 (FRAP) en muestras liofilizadas de plantas de chile tratadas con fitohormonas. ....	50
Gráfica 3. Valor IC50 (ABTS Y DPPH) y EC50 (FRAP) en muestras secadas por convección de plantas de chile tratadas con fitohormonas. ....	51

## ABSTRACT

*Capsicum annuum* is a crop of agricultural and economic importance in Mexico and other countries. The fruit (pepper) contains bioactive components such as carotenoids, phenolic compounds, and capsaicinoids that improve health. However, pepper cultivation is affected by biotic and abiotic factors that decrease yield. Some phytohormones like gibberellins and auxins induce the formation and development of fruit in several plants. In this study, we evaluated the effect of the exogenous application of phytohormones like gibberellic acid and indolbutyric acid on fruit development of jalapeno pepper plants, protein profile of plant tissues, accumulation of bioactive compounds, and antioxidant activity in the pericarp and seeds. For that, plants were sprinkled with these phytohormones. The fruit collection for the control, indolbutyric acid, and gibberellic acid treatments was 7 pepper per plant; however, for the treatment that combines indolbutyric acid and gibberellic acid, a fruit with the shortest length ( $1.52 \pm 1.00$  cm) and weight ( $0.41 \pm 1.0$  g) was collected compared to fruits of plants grown under other treatments. The length ( $4,179 \pm 0,130$  cm) and weight of the fruit ( $8,949 \pm 0.583$  g) increased in plants treated with indolbutyric acid, but these characteristics decreased with the application of GA<sub>3</sub> (length of  $3,349 \pm 0.127$  cm and a weight  $4,429 \pm 0.144$  g).

The content of carotenes and phenolic compounds increased in plants treated with GA<sub>3</sub> ( $1,733 \pm 0.092$  and  $1,449 \pm 0.009$  mg / g, respectively) or indoleacetic acid ( $1,164 \pm 0.042$  and  $0.970 \pm 0.003$  mg / g). However, this effect was not observed in plants treated with both phytohormones ( $0.238 \pm 0.021$  and  $0.218 \pm 0.004$  mg / g). Capsaicin content was higher in all treatments; but it was more noticeable in plants treated with both phytohormones, the value being  $0.913 \pm 0.001$  mg / g (three times greater in amount). The antioxidant activity was measured by 3 different assays, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), antioxidant power of ferric reduction (FRAP) and 2,2'-Azinobis-3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) to find the minimum inhibitory concentration of the reducing radical (IC<sub>50</sub> and EC<sub>50</sub>). Significant differences were observed from the application of the phytohormone, being the fruits treated with gibberellins, which had a greater accumulation of bioactive compounds. Our results suggest that the application of phytohormones modifies the development of fruit and its content of bioactive compounds.

## INTRODUCCIÓN

*Capsicum annuum* var. jalapeño sintetiza compuestos fitoquímicos importantes que ofrecen beneficios para la salud, como vitaminas C y E, provitamina A, carotenoides, capsaicinoides y compuestos fenólicos. El contenido de estos fitoquímicos cambia con condiciones ambientales que modifican procesos metabólicos, por lo tanto, la cosecha y almacenamiento deben controlarse para producir un semilla, planta y fruto de alta calidad para su caracterización y uso posterior (Padilha *et al.*, 2015). Además, se ha observado que la aplicación de fitohormonas también influye sobre la síntesis y acumulación de los compuestos fitoquímicos diversos. Se ha reportado que muchas fitohormonas participan en diferentes procesos y, dependiendo de su concentración, pueden funcionar como activador o inhibidor de una misma respuesta, presentándose en un tejido u órgano específico (Sairam *et al.*, 2002).

Las fitohormonas como la giberelina GA<sub>3</sub> (ácido giberélico) regulan el crecimiento y el desarrollo de la planta a lo largo de su ciclo de vida; mientras que las auxinas, como el ácido indolacético controlan numerosos aspectos del desarrollo de la planta en coordinación con las respuestas al medio ambiente. En los meristemas, la auxina regula la división celular, el alargamiento y la diferenciación, que conduce a la organogénesis logrando la formación de los brotes y las raíces. La función de auxinas en el crecimiento y desarrollo de las plantas se ha establecido e interpretado como el producto de la acción combinada de transporte, señalización y respuesta (Binenbaum *et al.*, 2018; Brumos *et al.*, 2018).

El uso de fitohormonas se ha extendido, su incremento durante el desarrollo de la planta induce el tamaño de los tejidos y la morfología. Sin embargo, los niveles de giberelinas son bajos en semillas maduras secas, sin embargo, la aplicación de giberelinas exógenas y exposición a la luz (Graeber *et al.*, 2012) promueven su germinación, al estimular división celular y expansión radicular (Holdsworth *et al.*, 2008). Lo anterior, pone de manifiesto la importancia que las fitohormonas tienen durante el desarrollo de las plantas.

Se han identificado compuestos bioactivos como flavonoides (Materska *et al.*, 2003), cuya concentración tiende a incrementarse a medida que avanza la maduración y, en consecuencia, modifican la capacidad antioxidante (Howard *et al.*, 2000). Los carotenoides (pigmentos) presentes en el chile se producen a partir de la ruta del mevalonato, siendo el geranil pirofosfato un intermediario de la ruta biosintética. El principal compuesto que se acumula en chiles maduros (color rojo) es la capsantina, responsable de dicho color, este tetraterpeno representa 40-60% del total de pigmentos en chiles de las diferentes variedades de chile. Otros carotenoides presentes en los chiles color rojo o naranja son  $\beta$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina y zeaxantina (Ha *et al.*, 2011).

El objetivo de este trabajo es evaluar el contenido de compuestos bioactivos en frutos de plantas de *Capsicum annuum* tratadas con ácido giberélico y ácido indolacético e identificar genes implicados en el desarrollo del fruto.

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1 *Capsicum annuum*

#### 1.1.1 Origen del cultivo

El género *Capsicum* agrupa al menos 30 especies, cinco están ampliamente domesticadas: *C. annuum*, *C. chinenses*, *C. frutescens*, *C. pubesce* y *C. baccatum* (Csilléry *et al.*, 2006, Perry *et al.*, 2007, Carrizo *et al.*, 2016).

El chile (nombre en castellano derivado del lenguaje náhuatl) es una planta que pertenece al género *Capsicum* (alrededor de 30 especies), se cultivó inicialmente en América y después en Europa, donde comenzó la distribución a nivel mundial (Eshbaugh, 1993). Debido a su diversidad en cuanto a pungencia, color, textura y tamaños, es conocido por nombres diferentes como “chile”, “pimiento”, “aji”, “chile rojo”, “habanero”, “paprika” o “cayenne”; pero el nombre botánico es *Capsicum* (Krishna *et al.*, 2003).

La evidencia más antigua de la domesticación de chiles se encontró en una cueva en el Valle de Tehuacán, Puebla (centro de México), aproximadamente 6000 a. C. (Perry *et al.*, 2007; Pickersgill, 2007). Este fruto se utilizaba como fuente de alimento y condimento siendo cultivado en chinampas (Byers, 1967). En la **Figura 1** se señala el Estado de Puebla, primer sitio de domesticación.



**Figura 1.** Mapa de la República Mexicana donde señala Tehuacán (Puebla), sitio donde se encontró la evidencia más antigua de domesticación del chile (Tomado de Long, 2009).

#### 1.1.2 Taxonomía

Las variedades y cultivares de *Capsicum annuum* son clasificadas en función de sus formas frutales, que son resultado del desarrollo y diferenciación del gineceo, modificando los órganos femeninos de la flor después de la fertilización. Debido a esto, el producto sufre de modificaciones morfológicas y estructurales tardías en los carpelos (Cutler *et al.*, 2008).

La clasificación taxonómica del género *Capsicum* incluye alrededor de 30 especies y 10 variantes, diferenciándose principalmente de las características fenotípicas como la morfología de la flor o del fruto (Alonso *et al.*, 2008; Martínez *et al.*, 2010, Castañón *et al.*, 2010). La especie *C. annuum* es la más ampliamente distribuida en México y la que presenta amplia variabilidad morfológica en tamaño, forma, y color de frutos (Pozo *et al.* 1991, Baltazar, 1997) y la mayor variabilidad genética (Hernández *et al.* 2001).

La taxonomía de la planta de chile que corresponde al filo *magnoliophita*; clase, *magnoliopsida*; orden *solanales*; familia, *solanaceae*; y género *Capsicum*, donde *Capsicum* incluye 30 especies silvestres y 5 especies domesticadas (Moscone *et al.*, 2007).

### 1.1.3 Descripción de la planta

La planta de *Capsicum* es una angiosperma dicotiledónea, cada flor produce gametos masculinos y femeninos, tiene de cinco a ocho pétalos, entre cinco y ocho estambres y de dos a cuatro pistilos. En la base está el ovario que contiene a los óvulos, cuya fecundación produce semillas. Los óvulos están unidos a través de un funículo llamado placenta; esta estructura es el sitio donde se produce y acumula capsaicina (Zhigila *et al.*, 2014). Las hojas son ovaladas y de extremo puntiagudo, su superficie es lisa; sus flores se desarrollan solas o en grupos en cortos tallos; son pequeñas con pétalos que muestran un color blanco a amarillo. Comienzan a florecer en la axila del nodo de la primera ramificación, con flores posteriores en la formación en cada nodo adicional. El número básico de flores es uno, con algunas variaciones entre especies.



**Figura 2.** Flor de *Capsicum annuum* (Tomado de Naresh *et al.*, 2018).

La diferenciación floral es afectada por la temperatura del aire, especialmente por la noche (Zewdie *et al.*, 2000); la flor es hipógina, pentámera (cinco pétalos y sépalos), con el cáliz, corola, y órganos sexuales masculinos y femeninos.



El inicio de la antesis está controlado por la duración del día, la corola abre en las tres primeras horas después del amanecer, y los pétalos permanecen abiertos al menos un día, también puede haber un pequeño período de antesis por la tarde. Las anteras abren una hora después de la apertura floral, incluso permanecen abiertas 10 horas después (Aleemullah *et al.*, 2000).

#### 1.1.4 Variedades

En México, las principales variedades de chiles que se cultivan de *Capsicum annuum* son jalapeño, chilaca, anaheim, poblano, serrano y pimientos dulces, teniendo diferencias en pungencia y morfología (tamaño, forma y color de frutos). La clasificación se da a partir del nivel tecnológico empleado, teniendo tres categorías: variedades de polinización, híbrida y criolla (Bobadilla *et al.*, 2017).

#### 1.1.5 Producción mundial

Según estadísticas de 2018, la producción global de chile alcanzó 36,800,783 toneladas; esta cifra incluye los pimientos como el chile verde fresco. México ocupa el segundo lugar en la producción de *Capsicum annuum* con 3.3 millones de toneladas, superado por República Popular de China (China), que logra producir un total de total de 18.2 millones de toneladas anuales (**Tabla 1**).

**Tabla 1.** Países que ocupan los primeros lugares en producción de chiles.

Posición	País	Producción (Toneladas)
1°	China	18 214 018
2°	México	3 379 289
3°	Turquía	2 554 974
4°	Indonesia	2 542 358
5°	España	1 275 457
6°	Nigeria	747 367
7°	Egipto	713 752
8°	Estados Unidos Americanos	705 790
9°	Argelia	651 045
10°	Túnez	426 503

Producción de chile verde fresco (*Capsicum annuum*) reportada en el 2018 (FAO, 2018).

### 1.1.6 Producción nacional

El cultivo de chile ocupa el 8° lugar en la producción agrícola nacional, logrando generar cerca de 13 mil millones de pesos anualmente, con un volumen de producción promedio de 1.1 millones de toneladas. Se exportan alrededor de 900 mil toneladas como chiles frescos, secos y procesados (Sagarpa, 2015), donde los Estados de Chihuahua y Sinaloa tienen una mayor producción de chile reportada en el año 2019 (**Tabla 2**).

**Tabla 2.** Principales Estados de la República Mexicana productores de chile.

Posición	Estados	Producción (ton)
1°	Chihuahua	168, 211
2°	Sinaloa	153,537
3°	Sonora	140,446
4°	Baja California Sur	51,890
5°	San Luis Potosí	50,793
6°	Jalisco	47,148
7°	Zacatecas	38,839
8°	Guanajuato	30,117
9°	Tamaulipas	15,505
10°	Michoacán	8,860
	Resto de Estados	33,163
	Total nacional	1,147,298

El Estado de Chihuahua ocupa el primer lugar a nivel nacional en producción (Siap, 2019).

## 1.2 *Capsicum annuum* variedad jalapeño

### 1.2.1 Generalidades

El fruto del chile jalapeño es bajo en calorías, colesterol y sal, pero presenta una alta concentración de fibras y vitaminas. El contenido de vitaminas C y A son similares a los de la naranja valencia y zanahoria, respectivamente. El grado de pungencia se ubica entre 2 500 y 10 000 unidades Scoville (Dewitt, 2018).

Las sustancias fitoquímicas presentes son favorables para la planta y para el ser humano, por ejemplo, actividades antioxidantes de los polifenoles, como los flavonoides y el derivado del ácido cinámico, mejorando su respuesta al medio ambiente y la nutrición del humano (Badia, et al., 2007).

### 1.2.2 Taxonomía

La taxonomía de la planta de *C. annuum* fue actualizada por Eshbaugh (2012), la cual se describe a continuación (**Tabla 3**).

**Tabla 3.** Taxonomía de *Capsicum annuum*

Taxonomía	
Reino	Plantae
División	Angiosperma
Clase	Dicotyledonea
Orden	Tubiflorales
Familia	Solanacea
Género	Capsicum
Especie	<i>C. annuum</i>
Nombre común	Chile jalapeño

Clasificación en la variedad jalapeño (Eshbaugh *et al.*, 2012).

### 1.2.3 Desarrollo de la planta

El cultivo del chile tiene varios estados de desarrollo los cuales son el crecimiento vegetativo, floración, desarrollo del fruto y maduración. La fase vegetativa comienza a partir de la producción de la sexta o la octava hoja y la tasa de crecimiento del sistema radicular se reduce gradualmente. El follaje y el tallo se incrementan, las hojas alcanzan el tamaño máximo y el tallo principal se bifurca (9-12 hojas). Después comienza la floración, cuando el brote ha terminado por una flor o vástago florar (botón floral), la planta crece y se ramifica. La floración ocurre a los 50 días después del trasplante, periodo que finaliza en el desarrollo del fruto. La fase reproductiva empieza alrededor de los 60 días después del trasplante. Los primeros frutos empiezan a madurar para ser cosechados a los 100-120 días (chile verde) (Martínez *et al.*, 2010; Eshbaugh *et al.*, 2012).

### 1.2.4 Morfología de la planta

La planta del chile jalapeño tiene un tallo ramificado, con hojas oblongas, lanceoladas y de flores blancas, cuya raíz cuenta con un sistema radicular pivotante y profundo que puede llegar a medir de 70 hasta 120 cm de largo. El tallo es el órgano de la planta que sirve como soporte de la flor y el fruto, este puede variar de 0.5 a 1.5 cm en diámetro.

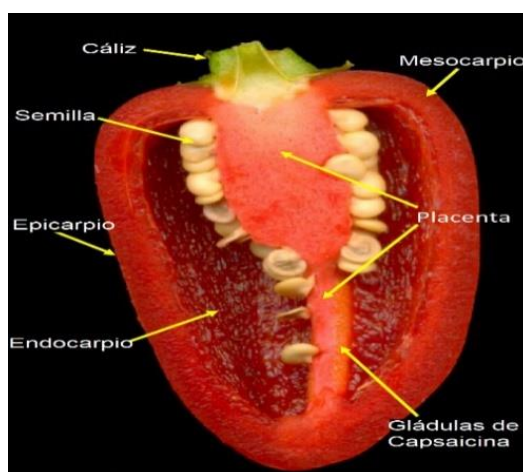
Las hojas varían en tamaño, aproximadamente de 1.5 a 12 cm de largo y 0.5 a 7.5 de ancho, el ápice es acuminado, la base es cuneada o aguda, y el pedicelo es largo. La flor tiene una ramificación en forma axial, los pedicelos miden más de 1.5 cm de longitud, el cáliz es ligeramente dentado, aproximadamente 2 mm de longitud, alargado y cubre la base del fruto.

La corola es rotada, dividida en 5 a 6 partes, mide 8 a 15 mm de diámetro (blanca o verde), con 5-6 estambres insertados en la base de la corola. Las anteras son angulosas, el ovario es bilocular, blanco o púrpura, y el estigma es capitado (Russo, 2012).

### 1.2.5 Morfología del fruto

El chile es un fruto carnoso en forma de cápsula y lleno de aire, en cuyo interior se encuentran las semillas, que puede alcanzar distintos tamaños, desde 01 cm hasta 30 cm de largo, 2 a 3 cm de ancho y pedúnculo de 3 cm. El cuerpo del fruto es oblongo y termina con un ápice puntiagudo y su color es verde, cambia a rojo cuando madura. En la **Figura 3**, se muestran las principales características del fruto. Su forma va de redondo a lo alargado, en colores que oscilan de distintos tonos de amarillo y verde en estado inmaduro a rojo y hasta café al madurar. La raíz es voluminosa y profunda, formada por una ramificación principal pivotante, dispone de numerosas raíces adventicias que en horizontal llegan a alcanzar 0.5 m o incluso 1 m de longitud. Esta estructura le permite a la planta un mejor aprovechamiento de la humedad porque aumenta la superficie de contacto (Ronco *et al.*, 2008; Khan *et al.*, 2011).

Las semillas son abundantes y miden de 3 a 5 mm de longitud, presentan un color amarillo pálido. Contienen agua en baja cantidad, lecitina abundante, no producen capsaicina, aunque pueden absorber un poco de la placenta. Finalmente, el pericarpio, conjunto de capas que envuelve y protegen a las semillas, se divide en tres partes; exocarpio, mesocarpio y endocarpio (Naves *et al.*, 2019).



**Figura 3.** Partes del fruto de *Capsicum annuum* (Tomado de Naves *et al.*, 2019).

### 1.2.6 Distribución en México

El Estado de Chihuahua ocupa el primer lugar a nivel nacional en producción de chiles verdes, lo que genera una derrama económica de alrededor de 6 millones de jornales. El 70 por ciento del chile que se siembra es jalapeño, que se cultiva en una superficie de 156, 799 hectáreas aprox. El rendimiento es 215, 517 hg/ha y la producción alcanza 337, 9289 toneladas anuales (FAO, 2018). En la **Figura 4**, se muestran una plantación de chile en Las Delicias, Chihuahua.



**Figura 4.** Recolección de chile jalapeño en Las Delicias, Chihuahua (Meléndez, Jesús. “Recolectando chile”. Periódico Inforural).

### 1.3 Metabolismo vegetal

La célula vegetal produce dos tipos de metabolitos: primarios y secundarios. Los primeros se relacionan con el crecimiento y desarrollo de la planta (nucleotidos, carbohidratos, lípidos y proteínas), mientras que los segundos está involucrado con defensa, supervivencia y adaptación al medio ambiente (alcaloides, fenoles, esteroides, esteroides, carotenoides, etc.) (Seigler, 1998).

Los metabolitos primarios de las plantas participan en las funciones básicas de la vida, como división celular y crecimiento, respiración, almacenamiento y reproducción. Estos incluyen los componentes de procesos como la glucólisis, el ciclo de Krebs o ácido cítrico, la fotosíntesis y fijación el carbono a partir del ciclo de Calvin, donde el producto final es un compuesto de tres carbonos llamado gliceraldehído 3-fosfato, entre otros.

Los metabolitos primarios incluyen moléculas pequeñas como azúcares, aminoácidos, ácidos tricarbónicos, proteínas, ácidos nucleicos y polisacáridos. Estas moléculas son similares en todas las células vivas (Seigler, 1998).

### 1.3.1 Metabolitos secundarios

Las plantas producen compuestos con funciones especializadas relacionadas con el sabor, olor, defensa, supervivencia y reproducción en el medio ambiente llamados metabolitos secundarios (compuestos bioactivos). En la **Tabla 4**, se enlistan el número aproximado de los metabolitos conocidos en plantas (Kumar, 2015).

Los metabolitos secundarios derivan de los componentes básicos sintetizados en el metabolismo primario e intermedio. Entre ellos, los aminoácidos aromáticos de la vía del ácido shikímico, pirofosfato de isopentenilo (IPP) y difosfato de dimetilalilo (DMAPP) de la vía los isoprenoides (Hilpold *et al.*, 2012; Shinh *et al.*, 2020).

**Tabla 4.** Número aproximado de metabolitos secundarios conocidos en plantas.

<b>Tipo de metabolito secundario</b>	<b>Número</b>
<i>Contienen nitrógeno</i>	
Alcaloides	21 000
Aminoácidos no proteicos	700
Aminas	100
Glucósidos	60
Glucosinolatos	100
Alcamidas	150
Lectinas, péptidos, polipéptidos	2 000
<i>No contienen nitrógeno</i>	
Monoterpenos (C10)	2 500
Sesquiterpenos (C15)	5 000
Diterpenos (C20)	2 500
Triterpenos, esteroides, saponinas (C30, C27)	5 000
Tetraterpenos (C40)	500
Flavonoides, taninos	5 000
Fenilpropanoides, lignina	2 000
Poliacetilenos, ácidos grasos, ésteres	1 500

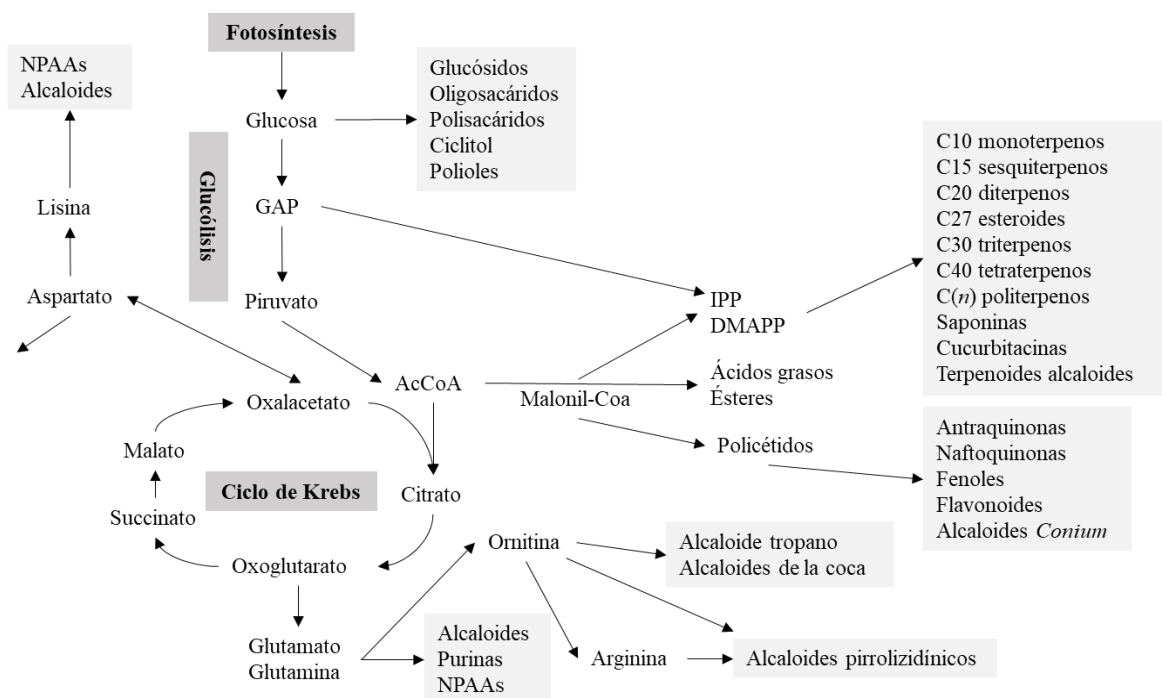
El valor representado en la Tabla es el número de estructuras químicas conocidas, caracterizadas y aisladas (Wlik, 2010).

La mayoría de las plantas resisten el estrés ambiental biológico, físico y químico al regular la acumulación de metabolitos secundarios en largos períodos de adaptación al medio ambiente (Falcone *et al.*, 2012; Kliebenstein, 2013;).

Los factores ecológicos modifican la síntesis de metabolitos secundarios de las plantas (Ncube *et al.*, 2012). En el metabolismo secundario de la planta, existe un alto grado de compartimentación a nivel tisular y celular; agrupaciones de metabolitos y enzimas en múltiples ubicaciones y vías paralelas en diferentes orgánulos. Todo esto que aumenta la flexibilidad metabólica (Allen *et al.*, 2009).

### 1.3.2 Biosíntesis de metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios son precursores de las principales rutas metabólicas como glucólisis, ciclo de Krebs o el ácido siquímico (shikímico). En las **Figuras 5 y 6**, se representa de forma general, la formación de metabólicos secundarios a partir de precursores comunes.

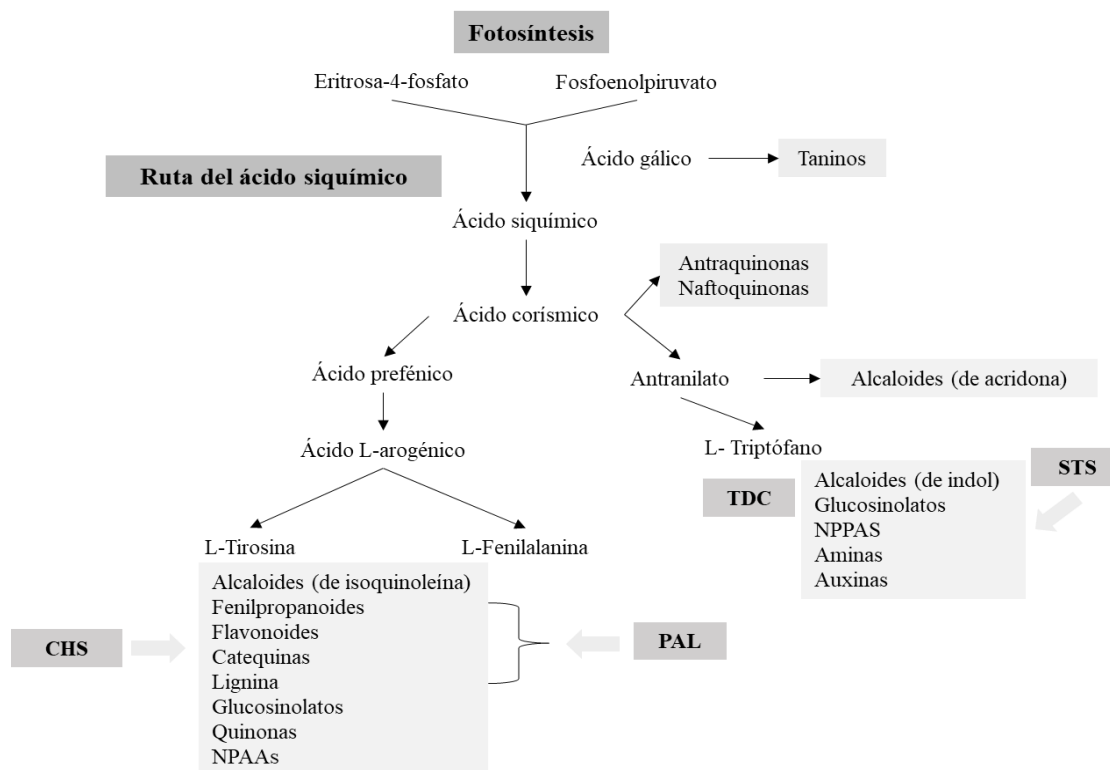


**Figura 5.** Rutas principales que conducen a la formación de metabolitos secundarios.. Abreviaturas: IPP, isopentenil difosfato; DMAPP, dimetil alil difosfato; GAP, gliceraldehído-3-fosfato; NPAA, aminoácidos no proteicos; AcCoA, acetil coenzima A (Wink, 2010).

Los metabolitos secundarios se producen en todos los tejidos, órganos y células, por ejemplo, los alcaloides (cafeína), furanocumarinas y algunos terpenos (monoterpenos, diterpenos, y carotenoides), que se forman en la vía del piruvato/gluceraldehído, se sintetizan en el cloroplasto. Los sesquiterpenos, esteroides y dolicoles se pueden producir en el retículo endoplásmico (ER) o citosol (Kutchan, 2005; Zenk *et al.*, 2007).

En las rutas que conducen a glucosinolatos, algunos alcaloides y aminoácidos no proteicos (NPAA), aminas, flavonoides y varios terpenos, se han identificado los genes, que codifican para las correspondientes enzimas (Schäfer, 2009); por ejemplo, la actividad de la proteína capsaicina sintasa codificada por el gen *Pun1*, determina la acumulación de la capsaicina en los chiles o pimientos y, la actividad de fitoeno sintasa codificado por *PSY* y la fitoeno desaturasa por *PDS* determinan la acumulación de carotenoides durante la maduración del fruto (Tuan *et al.* 2011; Ogawa *et al.*, 2015).

La biosíntesis de los metabolitos secundarios es un proceso altamente coordinado, que incluye la síntesis de enzimas y la canalización metabólica, involucrando diferentes tipos de células y compartimentación celular. Esto, garantiza la biosíntesis específica y evitan las interferencias metabólicas (Winkel, 2004; Jörgensen *et al.*, 2005).



**Figura 6.** Las diferentes rutas de metabolitos secundarios se derivan de precursores en la vía del ácido siquímico (shikímico). Abreviatura: NPAA, aminoácidos no proteicos; PAL, fenilalanina amoniaco liasa; TDC, triptófano descarboxilasa; STS, strictosidina sintasa; CHS, calcona sintasa (Wink, 2010).



*C. annuum* var. jalapeño produce importantes metabolitos secundarios, llamados compuestos fitoquímicos ó bioactivos porque proporcionan beneficios para la salud. Entre ellos, vitaminas C y E, provitamina A, carotenoides, compuestos fenólicos y capsaicinoides (**Tabla 5**). El contenido de estos fitoquímicos cambia debido a las condiciones de crecimiento, que modifican procesos metabólicos y químicos, deficiencia de oxígeno y ausencia de luz (Padilha *et al.*, 2015).

**Tabla 5.** Metabolitos secundarios principales (compuestos bioactivos) en chile jalapeño.

Compuestos bioactivos	mg/ 100 g peso fresco
<i>Carotenoides (provitamina A)</i>	
$\alpha$ -caroteno	0.020
$\beta$ -caroteno	0.5–1.64
$\beta$ -criptoxantina	0.5–1.2
<i>Carotenoides (no provitamina A)</i>	
Luteína + zeaxantina	6–51
Total	15–320
<i>Flavonoides</i>	
Luteolina	0.6
Quercetina	0.2
Total	5-20
<i>Derivados del ácido fenólico</i>	
Total	50-500
<i>Antocianinas</i>	
Total	0.5–28
<i>Capsaicinoides</i>	
Capsaicina	0.07–0.1
Dihidrocapsaicina	0.07–0.1
Total	0.1–0.3

(Tomado de Asnin *et al.*, 2015; Padilha *et al.*, 2015; Singh *et al.*, 2009).

El contenido de los compuestos bioactivos en el fruto varía según el tejido (placenta, pericarpio y semillas), el cultivar o la variedad, la etapa de maduración, las condiciones

climáticas y de almacenamiento, así como las prácticas de procesamiento (Jayaprakasha *et al.*, 2012).

### 1.3.3 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios, los cuales se clasifican en compuestos solubles en agua (ácidos fenólicos, fenilpropanoides, flavonoides y quinonas) y compuestos insolubles en agua (taninos condensados, ligninas y ácidos hidroxicinámicos unidos a la pared celular) (Rispaill *et al.*, 2005). La característica principal se debe al número de anillos de fenol que contienen (ácidos fenólicos, estilbenos, flavonoides, lignanos y taninos). Estas sustancias tienen uno o más grupos hidroxilo directamente unidos a un anillo aromático que caracteriza así la estructura fenólica. Los principales compuestos bioactivos que se encuentran en las frutas se distribuyen en seis subclases: flavonoles, flavanonas, isoflavonas, flavonas y antocianinas. (Vermerris *et al.*, 2006).

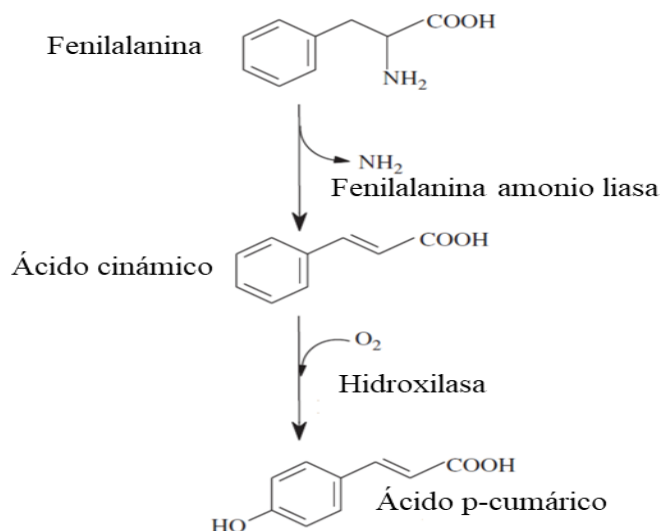
En el género de *Capsicum annuum* se han identificado flavonoides, como quercetina y luteolina (Lee *et al.*, 1995). Además, Materska (2003), identificó dos flavonoides específicos trans-p-ferulilalcohol-4-O-6-(2-metil-3-hidroxiopropionil) glucopiranosido y luteolin-7-O-(2-apiofuranosil-4-glucopiranosil-6-malonil-glucopiranosido) encontrados por primera vez en el pericarpio del fruto de chile picante.

Los glucósidos fenólicos y el ácido cafeico son derivados de ácidos fenólicos característicos en frutos de chiles, como *trans*-p-feruloil- $\beta$ -D-glucopiranosido y *trans*-p-sinapoyl- $\beta$ -glucopiranosido, cuya capacidad antioxidante ha sido corroborada mediante ensayos *in vitro* (Materska *et al.*, 2005). Estos ácidos hidroxicinámicos se encuentran como componentes principales en el pericarpio y la placenta, con un contenido total de 50 a 500 mg en fresco, según la variedad, etapa de madurez y condiciones de crecimiento (Sakakibara *et al.*, 2003).

#### 1.3.3.1 Biosíntesis de compuestos fenólicos

En la **Figura 7**, se muestra la biosíntesis de compuestos fenólicos regulada por la enzima fenilalanina amonio liasa, que cataliza una reacción que genera ácido cinámico. Las hidroxilasas conducen a la formación de otros fenoles simples como el ácido p-cumárico (Robbins, 2003).

Los compuestos fenólicos en las plantas están fuertemente involucrados en la interacción planta-patógeno, siendo tóxicos para organismos. El ácido clorogénico, el ácido cafeico y el ácido p-cumarico son ejemplos de estos compuestos (Petkovsek *et al.*, 2007).



**Figura 7.** Biosíntesis de compuestos fenólicos simples (Moreno et al., 2012).

### 1.3.4 Carotenoides

Los carotenoides son tetraterpenoides con un esqueleto de unidades de isopreno (5 carbonos) con una variedad de estructuras de anillo en uno (caroteno gama) o ambos extremos (caroteno beta). Contienen dobles enlaces conjugados alternados (cromóforo), estos pueden estar libres de oxígeno (carotenos), llevar grupos -OH, -OR, -O-COR, -C=O, -CHO, -COOH, -COOR ó epóxido (xantofilas) (Arimboor *et al.*, 2015). Carotenos y xantofilas forman el amplio grupo conocido como carotenoides; al menos 34 carotenoides, se relacionan con el metabolismo en las variedades de *Capsicum*.

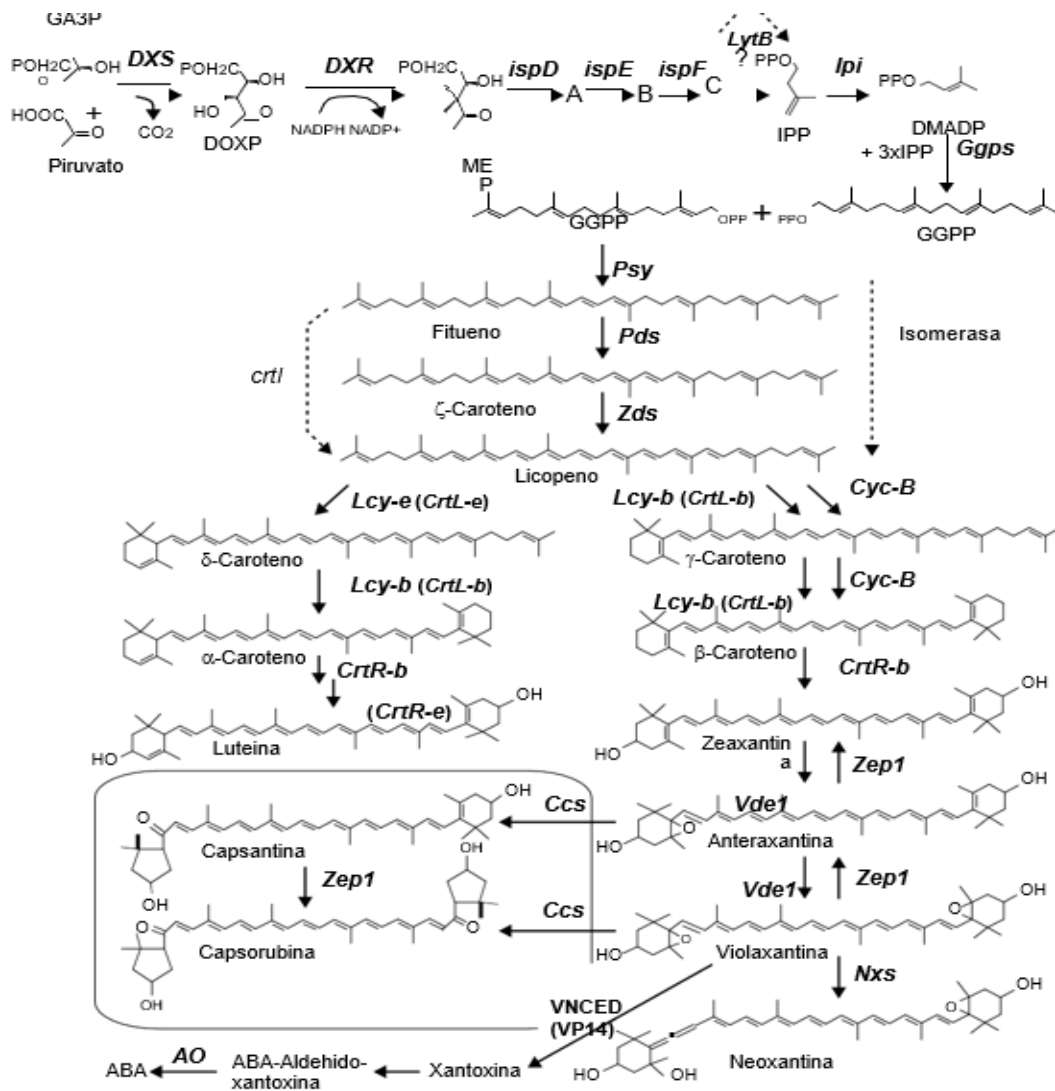
Los pigmentos contienen capsantina y capsorrubina (exclusivos del género *Capsicum*), estos se producen al final de la ruta biosintética, por lo que solo se acumulan en chiles maduros. La capsantina proporciona el color rojo, que representa un 40–60% del total de carotenoides. Otros carotenoides en chiles rojos y naranjas son  $\beta$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina y zeaxantina (Ha *et al.*, 2007). El resultado del metabolismo de los carotenoides y su acumulación en los cromoplastos genera el color verde de la fruta. Debido a la presencia de clorofila, que cambia a amarillo-naranja, y resulta en diferencias del contenido de violaxantina (37% -68% del total de carotenoides) y luteína. y  $\beta$ -caroteno (5%-14%), como carotenoides principales (de Azevedo *et al.*, 2009).

#### 1.3.4.1 Biosíntesis de carotenoides

Los carotenoides se sintetizan a partir de isopentenil difosfato (IPP) en plástidos. El IPP se produce a través de la vía metileritritol fosfato (DOXP) a partir de piruvato y gliceraldehído-3-fosfato, señalados en la **Figura 8** (Lichtenthaler *et al.*, 1997). La primera enzima en esta vía es la 1-desoxi-D-xilulosa-5-fosfato sintasa (DXS) que convierte 2-C-metil-D-eritritol 2,4-

ciclodifosfato vía 2-C-metileritritol 4-fosfato, 4-difosfocitidil-2C-metil-D-eritritol (DPME) y 4-difosfocitidil-2C-metil-D-eritritol-2-fosfato. Estas conversiones son catalizadas por las enzimas DOXP reductoisomerasa (DXR) (Schwender *et al.*, 1999), DPME sintasa (ispD), DPME quinasa (ispE) y 2C-metil-D-eritritol 2,4-ciclodifosfato sintasa (ispF), respectivamente (Eisenreich *et al.*, 2001).

IPP se isomeriza a difosfato de dimetilalilo por la enzima IPP isomerasa, el primer paso en la ruta de los carotenoides es la condensación de dos moléculas de GGPP para producir fitoeno, que es catalizado por una la enzima fitoeno sintasa (PSY). Dos enzimas, estructural y funcionalmente similares, fitoeno desaturasa (PDS) y ζ-caroteno desaturasa (ZDS), convierten fitoeno en licopeno a través de ζ-caroteno (Norris *et al.*, 1995). Desde este carotenoide se producen ciclaciones y otras modificaciones que conducen a otros carotenoides, como α-caroteno, β-caroteno, luteína, crocetina, etc. (Hirschberg *et al.*, 2001).



**Figura 8.** Biosíntesis de carotenoides en plantas (Hirschberg *et al.*, 2001).

### 1.3.5 Capsaicinoides

Estos compuestos son un grupo de amidas ácidas derivadas de la vainillilamina que contienen de 8 a 13 carbonos, se sintetizan y acumulan en el tejido de la placenta (Kobata *et al.*, 2013). Los principales capsaicinoides presentes en los pimientos son capsaicina (8-metil-*N*-vainillil-6-nonenamida) y dihidrocapsaicina (8-metil-*N*-vainillil-nonenamida). Ambos a menudo están presentes en cantidades mayores al 80% del total de capsaicinoides, mientras que los otros derivados aparecen en cantidades mucho más pequeñas (Perucka *et al.*, 2001). Otros capsaicinoides, aislados de los pimientos picantes, son nordihydrocapsaicina, norcapsaicina, homocapsaicina, homodihydrocapsaicina, nornorcapsaicina, nornornorcapsaicina y nonivamida (Barbero *et al.*, 2006).

Los capsaicinoides son metabolitos responsables de la pungencia en las especies de *Capsicum*; siendo la capsaicina y la dihidrocapsaicina, los compuestos más picantes con un valor de  $16.1 \times 10^6$  SHU (Scoville Heat). Estos capsaicinoides se sintetizan mediante la vía del ácido cinámico, en las glándulas de la placenta del chile (Topuz *et al.*, 2007). Los niveles de capsaicinoides son diferentes durante el desarrollo de la fruta. Estos comienzan a acumularse a partir de las etapas iniciales (10 días después de la polinización) del desarrollo de la fruta, hasta alcanzar un máximo de alrededor de 40 días después de la polinización, y luego disminuye (Barbero *et al.*, 2014). Su disminución tardía es el resultado de la actividad de una peroxidasa, que oxida los capsaicinoides en presencia de  $H_2O_2$  (Bernal *et al.*, 1993; Díaz *et al.*, 2004). Por lo tanto, la cantidad final de capsaicinoides depende de factores que regulan su metabolismo, como pueden ser ecológicos y fisiológicos.

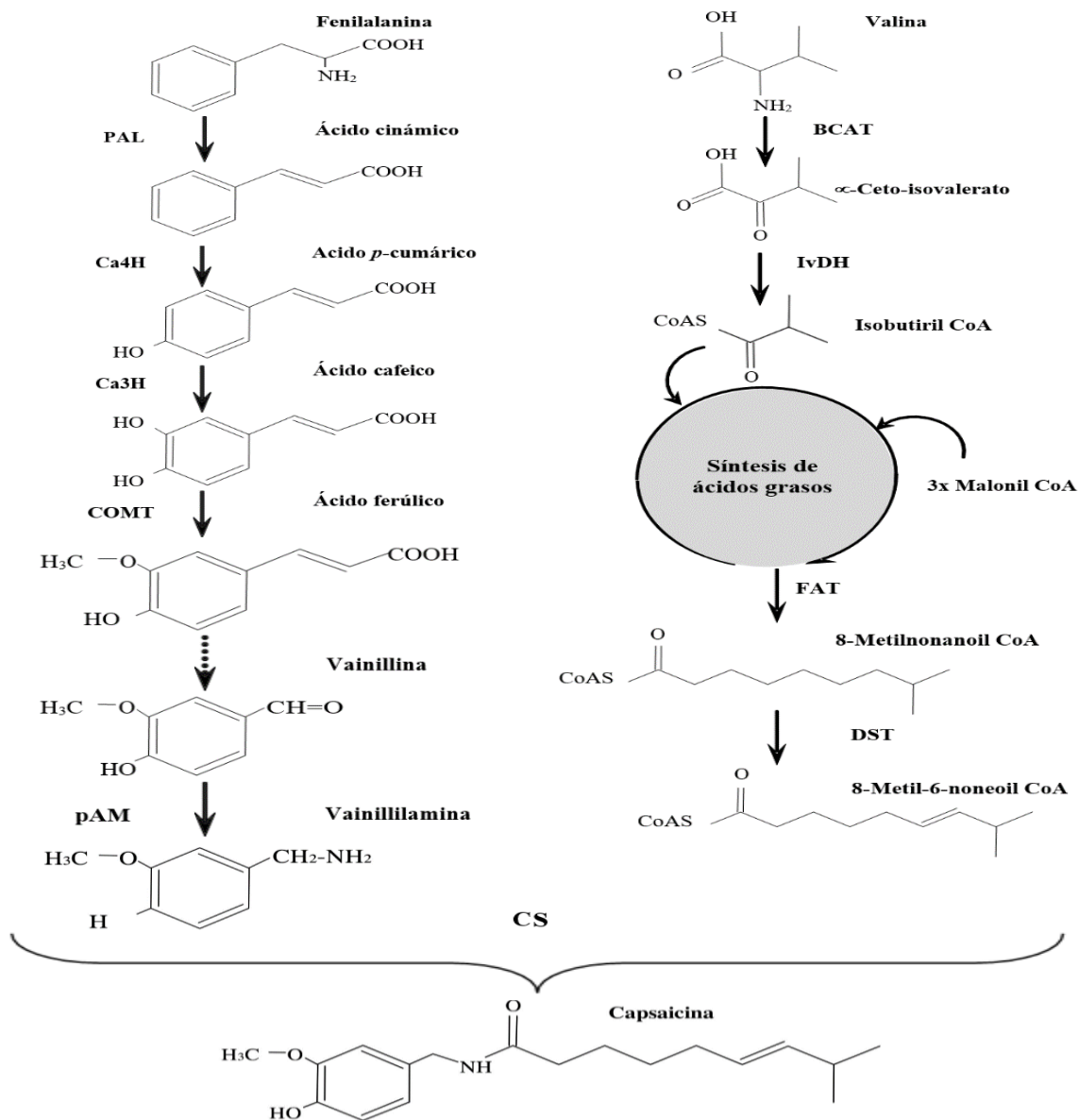
#### 1.3.5.1 Biosíntesis de los capsaicinoides

El sitio de síntesis y acumulación de los capsaicinoides son las células epidérmicas de la placenta, donde se secretan en receptáculos, entre la capa de la cutícula y la capa epidérmica (Suzuki *et al.*, 1980; Hwang *et al.*, 2000). En la **Figura 9**, se muestra la síntesis de capsaicinoides mediante la condensación de vainillilamina con un ácido graso ramificado de cadena corta.

La producción de vainillilamina ocurre mediante la vía del fenilpropanoide y el ácido graso que se sintetiza a partir de un aminoácido de cadena ramificada (valina o leucina) por el complejo de ácido graso sintasa. La vainillilamina se forma mediante conversiones sucesivas de la fenilalanina en los ácidos *trans*-cinámico, cumárico, cafeico y ferúlico, por acción de las enzimas fenilalanina amonio liasa (PAL), cinamato 4-hidroxilasa (Ca4H), cumarato 3-hidroxilasa (Ca3H) y ácido cafeico metiltransferasa (COMT).

La vainillina es un intermediario que, por acción de una transaminasa, da lugar a la vainillilamina la cual, con una aciltransferasa llamada capsaicinoide sintasa (CS), se

condensa con el derivado acil-graso para dar lugar a los capsaicinoides (Vazquez *et al.*, 2007). Finalmente, la capsaicina sintasa combina la cadena de vanililamina y ácido graso para producir capsaicina (Keyhaninejad *et al.*, 2014). Los cuatro genes que controlan la actividad de estas rutas biosintéticas son *Pal* en la ruta fenilpropanoide (Curry *et al.*, 1999), *Kas* y *FatA* en la ruta FAS y *Pun* para capsaicina sintasa (Stewart *et al.*, 2005; Kobata *et al.*, 2013; Ogawa *et al.*, 2015).



**Figura 9.** Biosíntesis de la capsaicina. PAL, fenilalanina amonio liasa; Ca4H, ácido cinámico 4 hidroxilasa; Ca3H cumarato 3 hidroxilasa; COMT, ácido cafeico O-metiltransferasa; pAMT, presunta aminotransferasa de la vainillina; BCAT, aminotransferasa de los aminoácidos ramificados, IvDH-isovalerato deshidrogenasa; Kas -cetoacil sintasa; ACL, proteína acarreadora de grupos acilo; FAT, tioesterasa; DST, desaturasa y CS, capsaicina sintasa. (Tomado de Vázquez *et al.*, 2007; Aza *et al.*, 2011).

### 1.3.6 Importancia de los metabolitos secundarios

#### 1.3.6.1 Salud

Numerosos estudios epidemiológicos sugieren una asociación entre la absorción de ácidos fenólicos y flavonoides en la disminución de trastornos coronarios, diabetes, cáncer, osteoporosis y enfermedades neurodegenerativas (Pandey *et al.*, 2009). La presencia de altas concentraciones de clorofila y carotenoides en la alimentación puede ejercer diferentes efectos protectores (Elliott *et al.*, 2005). El consumo de carotenoides y clorofila se ha asociado con efectos protectores contra la aterosclerosis, algunos tipos de cáncer, osteoporosis, cataratas, enfermedades neurodegenerativas y estrés oxidativo (Ferruzzi *et al.*, 2007).

Los compuestos de *Capsicum annuum* han demostrado tener actividad antiproliferativa *in vitro* contra líneas celulares de cáncer de pulmón, mama, estómago y próstata humano (Morré *et al.*, 2003, Jeon *et al.*, 2012). Los terpenoides como  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno y  $\beta$ -criptoxantina, son precursores de vitamina A, retinol y ácido retinoico (Baenas *et al.*, 2019). Otros carotenoides, como la luteína y la zeaxantina, pueden alcanzar la retina humana y se les atribuye la prevención de enfermedades oculares, como las cataratas (Eggersdorfer *et al.*, 2018). Por otro lado, la estructura de los carotenoides, como las xantofilas ( $\beta$ -criptoxantina, zeaxantina, luteína y capsantina), mejora su solubilidad y, por lo tanto, aumenta la bioaccesibilidad (Fernández *et al.*, 2012). Una vez que circulan en el plasma sanguíneo, estos compuestos se distribuyen en varios tejidos y órganos (Bohn *et al.*, 2017).

La capsaicina se considera un principio activo con propiedades farmacéuticas, se ha utilizado como analgésico contra el dolor de artritis y la inflamación (Deal *et al.*, 1991). Además, es un compuesto activo contra la inflamación neurogénica (ardor de manos, boca y ojos) (Szolcsányi *et al.*, 2003).

Las vitaminas C y E ayudan a mejorar la actividad antioxidante, reduciendo los niveles de radicales libres y controlando las reacciones de peroxidación en el cuerpo humano y, por lo tanto, reduciendo el riesgo de enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (Navarro *et al.*, 2006).

Se ha reportado que los extractos de *C. annuum* (habanero, serrano y variedades de morrón) muestran actividad antimicrobiana, inhibiendo el crecimiento de bacterias como *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella enterica Typhimurium* (Dorantes *et al.*, 2000). *Capsicum annuum* var. jalapeño muestra una potente actividad antimicrobiana contra *L. monocytogenes* (Bacon *et al.*, 2017), una concentración mínima (1.5 mL 100 g<sup>-1</sup>) inhibe el crecimiento de *S. typhimurium* (Careaga *et al.*, 2003).

### **1.3.6.2 Potenciador de propiedades sensoriales**

El uso del chile (también conocido como paprika) como especie o condimento, se utiliza para mejorar el color, sabor y picor en los alimentos (Halikowski-Smith *et al.*, 2015). La oleorresina proveniente de la paprika es utilizada como sustituto de la paprika molida, debido a su concentrado (Tepic *et al.*, 2008) y el extracto se clasifica como un aditivo alimentario (colorante natural) (EFSA, 2015). El polvo de paprika se utiliza para reducir el contenido de nitritos en la carne, mejorando su color porque disminuye la rancidez oxidativa, lo que resulta en un retraso de la formación de mal olor (Bazan *et al.*, 2012).

### **1.3.6.3 Industrial**

Los extractos provenientes de los chiles se utilizan en cosméticos y productos para la salud, donde usualmente se encuentran como antioxidante, analgésicos, tratamiento para daños en la piel, como quemaduras (Telang *et al.*, 2013).

## **1.4 Factores que afectan el desarrollo de la planta**

Las plantas durante su desarrollo interactúan con el entorno, donde entran en contacto con diferentes componentes abióticos como el agua, la luz, radiación ultravioleta, la temperatura, el suelo, la salinidad y los productos químicos como fitohormonas. Todos son factores determinantes para la biosíntesis y acumulación de compuestos bioactivos de las plantas (Verma *et al.*, 2015).

La células, tejidos y órganos de plantas sintetizan compuestos bioactivos cuya acumulación depende de la etapa de desarrollo (Bartwal *et al.*, 2013), debido a factores que modifican la diferenciación de estructuras celulares involucradas en la biosíntesis y el almacenamiento de compuestos (Broun *et al.*, 2006). Además, el crecimiento y el desarrollo de las plantas generalmente son regulados por diferentes condiciones ambientales. La adaptación de la morfología de la planta, la anatomía y las funciones fisiológicas a los cambios en bióticos y abióticos puede influir en la acumulación de metabolitos secundarios (Ma *et al.* 2010).

### **1.4.1 Fitohormonas**

Las fitohormonas se caracterizan por participar en varias respuestas morfogénicas y de crecimiento de manera pleiotrópica. Esto quiere decir, que una misma hormona participa en diferentes procesos y, además, dependiendo de su concentración puede ser estimuladora o inhibitoria de una misma respuesta. Cada respuesta se puede presentar solamente en un tejido específico u órgano (Srivastava, 2002).



El uso de fitohormonas está relacionado con el desarrollo de la planta, e inducción y crecimiento del fruto. De acuerdo con su estructura y función fisiológica, las fitohormonas han sido clasificadas en varios grupos que incluyen auxinas, citoquininas (CK), ácido abscísico (ABA), ácido giberélico (GA), etileno, ácido jasmónico (JA) y ácido salicílico (SA) (Kamiya *et al.*, 2010).

#### 1.4.2 Ácido giberélico (giberelinas)

Las fitohormonas de la familia de las giberelinas regulan el crecimiento y el desarrollo a lo largo del ciclo de vida de la planta. El mecanismo de las fitohormonas de giberelinas se descubrió cuando se observaba la interacción de *Fusarium fujikuroi*, un hongo patógeno de la planta de arroz, que afecta el crecimiento de la planta infectada, aumentando su longitud (Hedden *et al.*, 2015). Se han identificado más de 130 GA en plantas, hongos y bacterias, pero solo las subunidades GA<sub>1</sub>, GA<sub>3</sub>, GA<sub>4</sub> y GA<sub>7</sub>, funciona como hormonas bioactivas (Binenbaum *et al.*, 2018).

##### 1.4.2.1 Biosíntesis del ácido giberélico

La biosíntesis de las giberelinas activas ocurre mediante diversas etapas intermedias; por ello, que resulta difícil localizar el tejido u órgano en el que se sintetizan y localizan estas fitohormonas (Hedden *et al.*, 2012). En la **Figura 10**, se observa que la biosíntesis de giberelinas en plantas se desarrolla en tres etapas definidas por los órganos celulares: plastos, retículo endoplásmico (RE) y citoplasma (Yamaguchi *et al.*, 2008). En el citoplasma, las enzimas que pertenecen a la familia de giberelina 20 oxidasa (GA20ox) y giberelina 3 oxidasa (GA3ox) promueven la conversión de GA<sub>1</sub> y GA<sub>4</sub> a forma activa (Salazar *et al.*, 2018; Rizza *et al.*, 2019). Los genes involucrados en la biosíntesis de GA se listan en la **Tabla 6**.

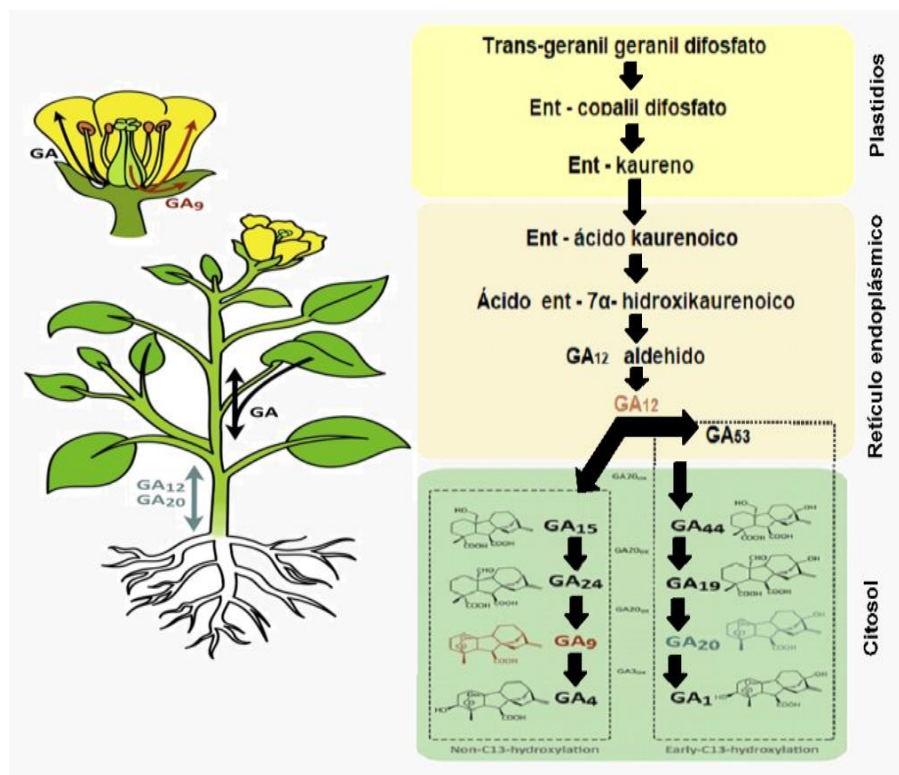
**Tabla 6.** Genes involucrados en la biosíntesis de las giberelinas (GAs).

Enzima	Genes	
	<i>A. thaliana</i>	<i>Oryza sativa</i>
<i>ent</i> -Copayl difosfato sintasa	<i>CPS</i>	<i>OsCPS1</i>
<i>ent</i> -Kaureno sintasa	<i>KS</i>	<i>OsKS1</i>
<i>ent</i> -kauren oxidasa	<i>KO</i>	<i>OsKO2</i>
Ácido <i>ent</i> -Kaurenoicooxidasa	<i>KAO1, KAO2</i>	<i>OsKAO</i>

GA 20-oxidasa	<i>GA20ox1, GA20ox2, GA20ox3, GA20ox4, GA20ox5</i>	<i>OsGA20ox1, OsGA20ox2, OsGA20ox3, OsGA20ox4</i>
GA 3-hidroxilasa	<i>GA3ox1, GA3ox2, GA3ox3, GA3ox4</i>	<i>OsGA3ox1, OsGA3ox2</i>
GA 2-oxidasa	<i>AtGA2ox1, AtGA2ox2, AtGA2ox3, AtGA2ox4, AtGA2ox6,</i>	<i>OsGA2ox1, OsGA2ox2, OsGA2ox3, OsGA2ox4, OsGA2ox5, OsGA2ox6, OsGA2ox7, OsGA2ox8, OsGA2ox9, OsGA2ox10</i>

Los genes involucrados en la biosíntesis del ácido giberélico fueron encontrados, caracterizados y aislados en *Arabidopsis thaliana* y arroz (*Oryza sativa*)- (Nagel *et al.*, 2017; Salazar *et al.*, 2018).

Los genes de la biosíntesis de las giberelinas se expresan diferencialmente entre los tejidos, tipos de células y etapas de desarrollo (Mitchum *et al.*, 2006).

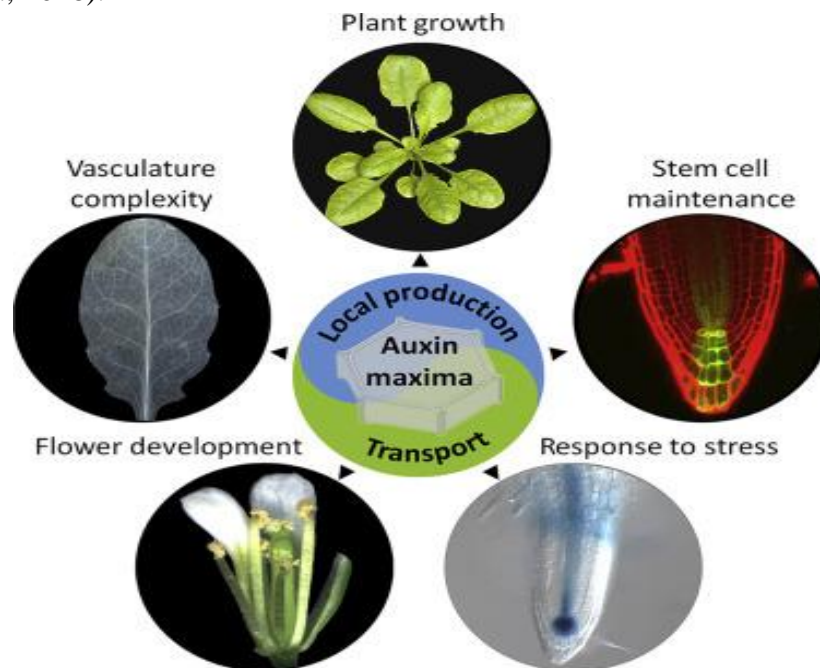


**Figura 10.** Representación esquemática del flujo de giberelinas en la planta (Izquierda) y ruta biosintética, proteínas y estructuras (derecha) (Tomado de Binenbaum *et al.*, 2018).

La familia GA3ox, que catalizan el paso final en la síntesis, se expresan en brotes y órganos radiculares en crecimiento y alargamiento (Yamaguchi *et al.*, 2001). La expresión de los genes de la biosíntesis de la etapa tardía *AtGA3ox1* y *AtGA3ox2*, en embriones en germinación, difiere (espacialmente) de la del gen de la biosíntesis en etapa temprana *AtCPS* (Binenbaum *et al.*, 2018).

### 1.4.3 Ácido indolacético (auxinas)

La auxina controla numerosos aspectos del desarrollo de la planta y coordina las respuestas al medio ambiente, como se observa en la **Figura 11**. En los meristemos, la auxina regula la división celular, el alargamiento y la diferenciación, que conduce a la organogénesis que da forma a la arquitectura de los brotes y las raíces. Los roles vitales de la síntesis y acumulación (gradientes de concentración) de auxina en el crecimiento y desarrollo de las plantas se han establecido e interpretado, principalmente, como el producto de la acción combinada de transporte, señalización y respuesta de auxinas (Cheng *et al.*, 2006, Cheng *et al.*, 2007, Stepanova *et al.*, 2008, Tao *et al.*, 2008, Mashiguchi *et al.*, 2011, Stepanova *et al.*, 2011; Brumos *et al.*, 2018).



**Figura 11.** La hormona vegetal auxina es un regulador clave del crecimiento y desarrollo de las plantas (Tomada de Brumos *et al.*, 2018).

#### 1.4.3.1 Biosíntesis de las auxinas

La auxina mejor caracterizada en las plantas, el ácido indol-3-acético (IAA), se produce predominantemente a partir del aminoácido aromático L-triptófano (Trp), a través del ácido indol-3-pirúvico (IPyA), en una ruta de dos pasos (Brumos *et al.*, 2014). L-triptófano (Trp) se convierte primero en IPyA, por una pequeña familia de triptófano aminotransferasas. En

en *A. thaliana*, está representada por aminotransferasa de triptófano1 (TAA1), también conocida como insensible de etileno débil8 (WEI8) (stepanova *et al.*, 2008), shade avoid (tao *et al.*, 2008), respuesta del inhibidor de transporte2 (TIR2) (yamada *et al.*, 2009) y citoquinina1 (CKRC1) (zhou *et al.*, 2011) y sus parálogos relacionados con la aminotransferasa de triptófano1 (TAR1) y TAR2 (Stepanova *et al.*, 2008). El IPyA se convierte en IAA por la familia de flavina monooxigenasas (YUC), que en *A. thaliana* consta de 11 miembros, YUC1 a YUC11 (Zhao, 2010).

La mayoría de las auxinas en las plantas se produce en los meristemos apicales del brote, las hojas jóvenes y los capullos y se distribuye rápidamente por toda la planta a través del floema (Teale *et al.*, 2006). Además, la auxina puede moverse más lentamente de una célula a otra a través del transporte de auxina polar con la ayuda de los transportadores de entrada de auxina auxin1 (AUX1) / like-aux (LAX), los de flujo de auxina formados (PIN) y abcb/multidrug resistance (MDR)/phosphoglycoprotein (PGPs) (Adamowski *et al.*, 2015).

## JUSTIFICACIÓN

Uno de los productos de origen vegetal que más se cultiva y consume en México es el chile, fruto de la planta de *Capsicum annuum*. La aplicación exógena de ácido giberélico y ácido indolacético induce el desarrollo de plantas. Sin embargo, el mecanismo molecular que controla dicho efecto no está del todo esclarecido. Además, se desconoce si dichas fitohormonas modifican la acumulación de compuestos fenólicos, carotenoides y capsaicinoides.

Este trabajo de investigación pretende evaluar el efecto de dichas fitohormonas sobre la acumulación de compuestos fenólicos, carotenoides y capsaicinoides en el fruto de plantas de *Capsicum annuum* y generar conocimiento sobre genes y proteínas involucrados en el desarrollo del fruto.

## **HIPÓTESIS**

El ácido giberélico (giberelina) y el ácido indolacético (auxinas) modifican la acumulación de compuestos fenólicos, carotenoides y capsaicinoides en el fruto de plantas de *Capsicum annuum*.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Evaluar el contenido de compuestos fenólicos, carotenoides y capsaicinoides en frutos de plantas de *Capsicum annuum* tratadas con ácido giberélico y ácido indolacético e identificar genes implicados en el desarrollo del fruto.

### **Objetivos específicos**

1. Cuantificar el contenido de carotenoides, capsaicina y compuestos fenólicos en el pericarpio y semillas del fruto de plantas de chile crecidas bajo diferentes tratamientos.
2. Determinar la actividad antioxidante de los compuestos contenidos en el pericarpio del fruto de plantas de chile crecidas bajo diferentes tratamientos.
3. Identificar mediante bioinformática secuencias de genes y proteínas involucradas la pigmentación y pungencia del fruto.
4. Realizar un perfil electroforético de proteínas en hojas y botones florales de la planta y semillas y pericarpio del fruto.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1 Material vegetal y condiciones de crecimiento**

Las semillas de *Capsicum annuum* var. jalapeño fueron proporcionadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (Campo experimental Bajío). La siembra se realizó el 6 de junio del 2018 y 26 de enero del 2019 en macetas de 30 cm de altura con un diámetro de 16 cm. Se añadió una mezcla de arena conformada por 900 g de sustrato peat most, 300 g perlita y 300 g vermiculita (Hydro Environment, México). Las plantas se crecieron en invernadero del Tecnológico Nacional de México en Celaya con una temperatura entre 28 a 32 °C y una humedad relativa entre 35.7 y 41.8 %. El riego con agua (100 mL/planta) se llevó cabo cada tercer día y con fertilizante (0.5 g/L) (Miracle grow, EE UU) una vez a la semana durante todo su desarrollo.

### **2.2 Tratamiento con fitohormonas**

Para evaluar el efecto sobre la acumulación de compuestos fenólicos, carotenoides y capsaicinoides a partir del uso de fitohormonas, se realizaron cuatro tratamientos, cada uno incluyó 42 plantas (14 plantas/repetición). Tratamiento 1, control (agua); tratamiento 2, ácido indolacético (auxinas) (2 mL/L) (Azoo, EE UU); tratamiento 3, ácido giberélico (giberélica) (5 µM) (Biogib, EE UU); y tratamiento 4, combinación de auxinas (2 mL/L) y ácido giberélico (5 µM).

La aspersión de estas fitohormonas se llevó a cabo a los 30 y 45 días después de la germinación de la semilla; donde las plántulas median entre 5-7 cm de altura y constaban con la formación de dos hojas. En todos los tratamientos se adicionó fertilizante (0.5 g/L) una vez a la semana durante todo el desarrollo de la planta.

### **2.3 Fruto**

La recolección del fruto se llevó a cabo a los 40 días después de la antesis de las plantas (Pesaresi *et al.*, 2014 y Dubey *et al.*, 2019). La semilla se separó del pericarpio, que se cortó en piezas pequeñas (1 cm aprox.). Las muestras fueron deshidratadas mediante liofilización (-61°C, 1 hPa por 72 h) y secado por convección (50 °C durante 48 h), hasta obtener una humedad relativa del 5%. Las muestras se maceraron y tamizaron (malla número 40 con una apertura 0.425 mm). La muestra se almacenó a temperatura ambiente en frascos de vidrio hasta su extracción y análisis espectrofotométrico.

### **2.3 Diseño experimental**

El diseño experimental que se utilizó para evaluar el efecto del ácido giberélico y ácido indolacético sobre el desarrollo de la planta e inducción de la formación del fruto fue un



diseño factorial tipo 2<sup>2</sup> que consistió en 4 experimentos; la relación para evaluar el crecimiento de la planta está en función las variables (ácido giberélico y auxinas), a esto se le denominó tratamiento (**Tabla 7**).

**Tabla 7.** Características de los tratamientos (diseño factorial 2<sup>2</sup>).

<b>Parámetros</b>	<b>Variables</b>	<b>Especificación (Concentración)</b>
Tratamiento 1	-	-
Tratamiento 2	Ácido indolacético	2 mL/L
Tratamiento 3	Ácido giberélico	5 µM
Tratamiento 4	Ácido indolacético	2 mL/L
	Ácido giberélico	5 µM

El fertilizante de adición en todos los tratamientos.

Los análisis para medir el crecimiento de la planta y desarrollo del fruto se realizaron de manera fenotípica. Las variables que fueron medidas (**Tabla 8**) incluye la comparación de los diferentes tipos de tratamiento y las respuestas mostradas en el desarrollo de hojas, tallo, botones y fruto (color, tamaño, diámetro, altura y número).

**Tabla 8.** Selección de tejido.

<b>Tejido</b>	<b>Respuestas en el crecimiento</b>	
	<b>Cualitativas</b>	<b>Cuantitativas</b>
Hoja	Área	Número
Tallo	-	Altura
Botón	Perfil electroforético	Número
Fruto		Número Peso (fresco) Cont. de capsaicina Cont. de carotenoides Cont. de comp.fenólicos Act. antioxidante

Variables para medir el crecimiento en plantas y frutos de Chile a partir de la aplicación exógena de fitohormonas.

## 2.4 Actividad antioxidante

### 2.4.1 Preparación de la muestra

La preparación de muestras del pericarpio y semilla para medir la actividad antioxidante de compuestos bioactivos se realizó de acuerdo con Campos *et al.* (2018). Se prepararon muestras de diferente concentración (1, 5, 10, 20, 30, 40 y 50 mg/mL) en metanol al 80% (v/v). Las muestras fueron sonicadas en un baño de ultrasonido por 15 min a 30 °C.

### 2.4.2 Prueba de DPPH (2,2-difenil-1-picrylhydrazyl)

El procedimiento se llevó a cabo como describe Brad-Williams *et al.* (1995), con algunas modificaciones. La solución de DPPH fue preparada al 0.1 mM, la curva estándar se realizó con diferentes concentraciones (0.1, 0.08, 0.06, 0.04 y 0.02 mM) cuya absorción se midió a una longitud de onda de 514 nm. Se tomó una alícuota de 0.05 mL de extracto, al cual se le agregó 2.0 mL de DPPH. El tiempo de la reacción fue tomada en el espectrofotómetro (Genesys versión 20.0, EMYR, EE UU) cada 10 min por 1 h en oscuridad. Los resultados se expresaron en g de extracto seco/g DPPH. El porcentaje de DPPH inhibido (% DPPH) se calculó mediante la ecuación:

$$\%DPPH = \left( \frac{A_{control} - A_{muestra}}{A_{control}} \right) \times 100$$

Se ensayaron diferentes concentraciones de muestra para obtener curvas de eliminación del radical para calcular los valores de IC<sub>50</sub>.

### 2.4.3 Ensayo ABTS (2, 2'-Azinobis-3-etil- benzotiazolina-6-ácido sulfónico)

La actividad antioxidante total de la muestra se midió mediante el ensayo de decoloración de cationes del radical ABTS (Re *et al.*, 1999). El radical, catión 2,2'-azino-bis ácido 2,2'-azino-bis ((3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) (Sigma-Aldrich, EE UU) se preparó a una concentración de 7 mM en agua destilada y 2.45 mM de persulfato de potasio (Sigma-Aldrich, EE UU), dejando que la reacción se lleve a cabo a temperatura ambiente por 16 h en oscuridad previo a su uso. El reactivo se ajustó con etanol absoluto al 99 % (v/v) hasta obtener una absorbancia de 0.70 (± 0.02) a 734 nm. Para la determinación de la actividad antioxidante, se mezclaron 0.9 mL del reactivo ABTS con 0.1 mL de alícuotas de muestra a diferentes concentraciones (1.00–25.00 mg/mL). Se midió la absorbancia a 734 nm después de 6 minutos de reacción a temperatura ambiente y se calculó el porcentaje del efecto barrido de ABTS (Sim *et al.*, 2008):

$$\%scavenging = \left( \frac{1 - \text{absorbancia a 734 nm en presencia de la muestra}}{\text{absorbancia a 734 nm en ausencia de la muestra}} \right) \times 100$$

Las mediciones a partir de muestras con diferente concentración se utilizaron para obtener curvas y calcular los valores de IC<sub>50</sub>.

#### 2.4.4 Ensayo de FRAP (Capacidad antioxidante-reducción férrica)

La capacidad antioxidante de la reducción férrica se calculó usando la metodología descrita por Benzie (1996). El reactivo FRAP, se preparó con 10 mmol L<sup>-1</sup> de 2,4,6-tripiridil-S-triazina (TPTZ) (Sigma-Aldrich, EE UU) en 40 mmol L<sup>-1</sup> HCl, 20 mmol L<sup>-1</sup> cloruro férrico (Golden Bell, México) y 300 mmol L<sup>-1</sup> de tampón de acetato de sodio (Fermont, México) a pH 3.6 en relación de 1:1:10 (v/v). Se añadió un extracto (muestra) de 100 µL a 3 mL del reactivo FRAP y se agito. Después se incubó a una temperatura de 30 °C durante 4 min, y la absorbancia se midió a 593 nm con respecto al blanco de reactivo. Se utilizó una curva patrón de ión hierro (50–1000 mmol L<sup>-1</sup>) producida por la adición de sulfato ferroso recién preparado. Los resultados se expresaron como mol L<sup>-1</sup> FRAP g<sup>-1</sup> de peso seco de la muestra. La evaluación del FRAP se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$Fe^{2t} = \left( \frac{4 \text{ min Abs. } 593 \text{ nm muestra}}{4 \text{ min Abs. } 593 \text{ nm estandar de } Fe^{2+}} \right) (Fe^{2t} \text{ concentración estándar (mmol/l)})$$

Muestras de diferente concentración se usaron para obtener curvas ión hierro producido para calcular los valores de EC<sub>50</sub>.

#### 2.5 Contenido total de compuestos fenólicos

La extracción de compuestos fenólicos se realizó como describe Álvarez *et al.* (2011). A una muestra de 0.5 g se le adicionó metanol al 80 %, seguido de una sonicación (Jeken PS-30, EE UU) a 60 °C durante 30 minutos. El sobrenadante se separó, y al precipitado se le adicionó 10 mL de metanol al 80% en las mismas condiciones. Ambos extractos fueron combinados y colocados en un secador por convección (Binder, serie FD Classic, Alemania) para evaporar el metanol. El extracto se resuspendió en 10 mL en agua destilada.

El contenido de compuestos fenólicos totales se estimó como equivalentes de ácido gálico con el reactivo de Folin-Ciocalteu como describe Vega *et al.* (2009). A una alícuota (0,5 mL) de la solución del extracto se añadió 0,5 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu. Después de 5 min, se añadió 2 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (200 g/L) y se agitó. Finalmente, la absorbancia se midió en un espectrofotómetro (genesys versión 20.0, EMYR, EE UU) a 725 nm. Se realizó una curva de calibración de ácido gálico (0.1, 0.2, 0.3, 0.4 y 0.5 mg/mL) (Sigma-Aldrich, EE UU).

#### 2.6 Contenido total de carotenoides

La extracción de carotenoides se llevó a cabo siguiendo la metodología propuesta por Campos *et al.* (2018). Una muestra de 0.3 g se añadió 30 mL de acetona manteniendo en agitación a 100 rpm por 1 h. La mezcla se filtró (Whatman, 100 mm) y el residuo se

resuspendió en 20 mL de acetona en las mismas condiciones. Ambos extractos fueron transferidos a 30 mL de éter de petróleo; posteriormente, el extracto fue saponificado con 1 mL al 10% KOH en metanol por 1 h. Finalmente, fue lavado con agua destilada hasta obtener un pH neutro y secado con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

La concentración de carotenoides se cuantificó a partir de la absorbancia, utilizando un espectrómetro (genesys versión 20.0, EMYR, EE UU), a una longitud de onda específica de 450 nm. Una serie de diluciones (0.2, 0.1, 0.08, 0.06, 0.04, 0.02 y 0.01 mg/mL) de un estándar de β-caroteno 93% (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania) fueron preparadas para obtener la curva estándar y calcular la regresión.

## **2.7 Contenido de capsaicinoides**

Los extractos del pericarpio y la semilla se prepararon usando etanol al 96 % (v/v) como disolvente (Maksimova *et al.*, 2016). A una muestra seca de 0.2 g se le adicionó 25 mL del disolvente, posteriormente, la muestra se colocó en un mezclador termostato de circulación (Brabender T150 Electronic, UK) durante 1 h a 40 ° C. Los extractos fueron filtrados (Whatman, 100 mm). Finalmente, la solución fue colocada en un secador por convección (Blinder versión FD Classic, Alemania) a 50° C por 180 min para eliminar el etanol. El extracto seco se almacenó a 4 °C hasta su uso.

La cuantificación de capsaicinoides (capsaicina) en los extractos se realizó por el método de espectrofotometría UV/VIS (Perucka *et al.*, 2001). La concentración de capsaicina se calculó a partir de la absorbancia, utilizando un espectrómetro (genesys versión 20.0, EMYR, EE UU) a una longitud de onda máxima específica de 280 nm. Una solución se preparó con un estándar de capsaicina 63% (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania) y de esta se prepararon una serie de diluciones (1.00, 0.80, 0.60, 0.40 y 0.20 mg/mL) para obtener una curva y calcular la regresión. La conversión de miligramos de capsainaa número de unidades de Scoville (SHU, Scoville Heat Units) se realizó como lo sugiere Wall *et al.* (1998) y Othman *et al.* (2011).

## **2.8 Extracción de proteínas**

Para la extracción de proteína a partir de tejido de hoja, botón floral, semilla y pericarpio, se ensayaron cuatro métodos diferentes:

Método A.- Extracción por TCA/C como describe Curto *et al.* (2006). Se pesó 200 mg de tejido, seguido de una trituración en un mortero con nitrógeno líquido hasta que se formó un polvo fino. Se agregó 1 mL TCA-acetona (10% TCA en acetona que contiene 0.07% DTT), se agitó y se incubó por 2 h a -20 °C. Después, de transcurrir el tiempo, se centrifugó (Hermle Z200A, EE UU) a 13 000 r.p.m. durante 30 minutos a -4° C. El precipitado se lavó dos veces

con acetona-DTT, y una vez con acetona, y se secó a temperatura ambiente. Se solubilizó en urea 6 M.

Método B.-Extracción con buffer de PEB siguiendo el método propuesto por Kohli *et al.* (2012). Las muestras se congelaron en nitrógeno líquido y el tejido fue pulverizado en mortero. El tejido pulverizado fue transferido a un tubo redondo de polipropileno de 14 mL (Tubo Falcon), y se añadió 6 mL de PEB (50mM Tris-HCl pH 8.0, 10mM NaCl, 1% SDS (Dibco BRL, EE UU), 0.1mM DTT y 0.5%  $\beta$ -mercaptoetanol) por cada 1.4 g de tejido y 1.2  $\mu$ L de PMSF (Fluoruro de fenilmetilsulfonilo) (Sigma, St. Louis, EE UU) a 0.1 M. Finalmente, se centrifugó a 12.000 x g por 15 min a 4 ° C y el sobrenadante se llevó en un nuevo tubo.

Método C.- Extracción con etanol al 70% siguiendo la metodología propuesta por Zellner *et al.* (2005). Las muestras se congelaron en nitrógeno líquido y se trituraron. Se pesaron 200 mg de tejido y se añadieron 800 mL de Etanol al 70% (v/v). Se incubaron durante 2 horas a -20 °C, y se centrifugó a 10 000 r.p.m. durante 20 minutos a 4°C, finalmente se eliminó el sobrenadante. El sedimento se lavó una vez con etanol desechando de nuevo el sobrenadante, el pellet se secó a temperatura ambiente. La solubilización de proteínas se realizó con urea al 6 M.

Método D.- Se siguió el protocolo propuesto por Wang *et al.* (2005). Las muestras se congelaron en nitrógeno líquido y se trituraron. El tejido fue transferido a un tubo de 1.5 mL con 200 mg de muestra, se añadió 1 mL de 10% TCA/acetona y se mezcló por inversión. Se centrifugó a 16 000 x g durante 3 min a 4°C y se descartó el sobrenadante. Se añadió 1 mL de metanol al 80% (v/v) conteniendo acetato de amonio al 0.1 M. Se mezcló por inversión y se centrifugó a 16 000 x g durante 3 min a 4°C, el sobrenadante se desechó. Se añadió 1 mL de acetona al 80% (v/v), se mezcló por inversión y se centrifugó a 16 000 x g durante 3 min a 4°C, el sobrenadante se desechó. El pellet se dejó secar a temperatura ambiente durante 15 min. Se añadió 0.8 mL de fenol estabilizado a un pH de 8, se incubó por 5 min, y se centrifugó a 16 000 x g durante 3 min a 4°C. La fase superior se transfirió a un nuevo tubo (0.4 mL) y se añadieron 1 mL de metanol conteniendo acetato de amonio al 0.1 M, dejando incubarse por 2 h a -20°C. Finalmente, se centrifugó a 16 000 x g durante 3 min a 4°C, el sobrenadante se desechó y el pellet se solubilizó en urea al 6 M.

## **2.9 Cuantificación de proteínas**

La cuantificación de proteínas se llevó a cabo mediante la técnica de Bradford (Bradford, 1976). Para ello, se preparó reactivo de Bradford, a partir de 100 mg de azul de Coomassie G-250 (Sigma, St. Louis, EE UU) en 50 mL de etanol al 95 % (v/v) y 100 mL de ácido o-fosfórico al 85 %. La mezcla resultante se aforó con agua destilada a 1 L. La medición se llevó a cabo de la siguiente manera: a 100  $\mu$ L de muestra se le añadió 3 mL de reactivo de

Bradford, y la absorbancia fue medida a 595 nm, después de 10 minutos. Se tomó como referencia la absorbancia del reactivo de Bradford. Se realizó una curva patrón con concentraciones conocidas de proteína albúmina de suero bovino (Sigma, St. Louis, MO, EE UU) de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.00 mg/mL y se calculó la regresión.

## **2.10 Electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) en una dimensión**

Se fraccionaron proteínas mediante electroforesis vertical en gel de poliacrilamida SDS-PAGE (Laemmli *et al.*, 1970). Se añadieron 3.75 mL del regulador del gel separador, 5 mL de acrilamida/Bis-acrilamida 30% (19:1) y 6.25 mL de agua destilada estéril en un matraz Erlenmeyer de 50 mL. Se adicionaron 75 µL de persulfato de amonio al 10% y 20 µL de TEMED, la solución se mezcló suavemente y se vertió en el molde (7.2 cm X 10cm X 1.5mm). Después, se añadió 1.25 mL del regulador del gel compactador, 0.65 mL de Acrilamida/Bis-acrilamida 30% (19:1) y 3.05 mL de agua destilada estéril en un matraz Erlenmeyer de 50 mL. Además, se añadió, 50 µL de persulfato de amonio al 10% y 15 µL de TEMED, y la solución se vertió en molde, sobre el gel separador. Se colocó el peine con 10 pocillos sobre el gel compactador, tratando de no introducir aire (burbujas), y se esperó 20 min, para que los geles polimericen a temperatura ambiente. Los geles colocados en un soporte se llevan a la cubeta de electroforesis, que se llena con buffer de corrida hasta un nivel que cubra los geles. Las alícuotas de la muestra se colocan en los pozos de los geles, y se aplica un voltaje de 120 V durante 120 minutos.

Después de la electroforesis, se retiran los geles de la cámara, y el gel se coloca en un contenedor con la solución azul brillante de coomassie durante toda la noche. Finalmente, se lava el gel con agua destilada estéril para su digitalización.

## **2.11 Análisis in silico**

Para la identificación de genes y proteínas involucrados en la pigmentación y pungencia del fruto se usaron dos bases de datos, TAIR (The Arabidopsis Information Resource) (García *et al.*, 2002) y NCBI (National Center For Biotechnology information). TAIR provee secuencias de *Arabidopsis thaliana*, que se compararon con el proteoma de *Capsicum annuum* en NCBI para identificar homólogos con ayuda del algoritmo Blastp (Altschul *et al.*, 1990).

## **2.12 Diseño de oligonucleótidos**

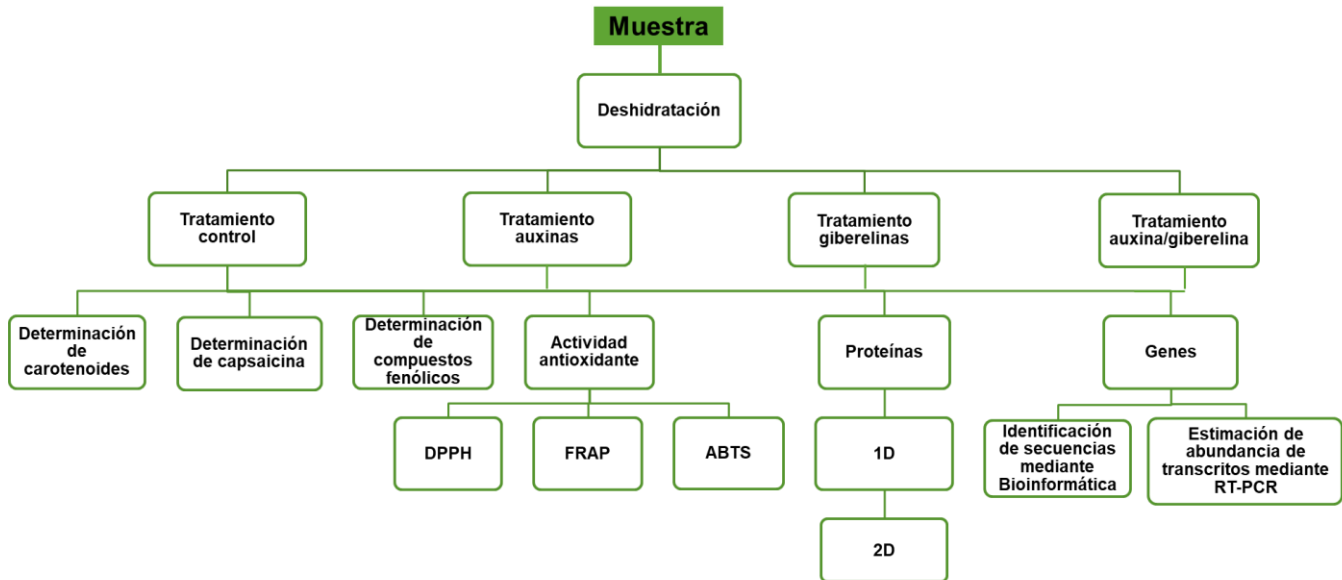
A partir de la secuencia de varios genes que codifican para proteínas que participan en la pigmentación y pungencia del chile, se diseñaron oligonucleótidos usando el programa Benchling (Almonacid, *et al.*, 2017). En la **Tabla 9** se muestra la secuencia de los primers.

**Tabla 9.** Oligonucleótidos para Real-Time PCR.

<b>Gen</b>	<b>Primer 5'-3'</b>
<b>Capsaicina sintasa</b> <i>Capsicum annuum</i> cultivar Thai Hot acyltransferase ( <i>Pun1</i> gene)	<i>AGGGCTGAAGTTGTTAGCGCTCT</i> <i>ACGTTGGCAACTCCATGTCCTGC</i>
<b>Fitoeno sintasa</b> <i>Capsicum annuum</i> (bifunctional 15- <i>cis</i> -phytoene synthase)	<i>TGCTCGATGCTGCTTTGTCCGA</i> <i>AACCCAACCGTACCAGCAACGT</i>

La expresión de los genes de estimó mediante PCR en tiempo real. Para ello, ARN total se extrajo e diferentes tejidos de planta y llevó cabo la síntesis de ADNc. El gen que codifica para gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH), cuya expresión se supone constitutiva, se usó como control endógeno. Los niveles de ARNm se estimaron siguiendo el método comparativo  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  propuesto por Livak *et al.*, (2001).

## 2.13 Desarrollo experimental





### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Rendimiento de plantas y frutos

El efecto de la aplicación exógena de fitohormonas sobre el desarrollo de la planta y su rendimiento se observa en la **Tabla 10**, en fenotipo de la planta y la forma del fruto están mostradas en la **Figura 12**.

El tratamiento con auxinas incrementó el número de botones y longitud y peso del fruto, el tratamiento con giberelinas mostró mayor efecto en la longitud con 4.21 cm, 0.04 cm de diámetro del tallo y 49 hojas más que el control. La combinación de giberelinas y auxinas no modificó la longitud y diámetro del tallo; el fenotipo de las plantas fue similar al de las plantas control (no se agregó ninguna fitohormona). Sin embargo, el rendimiento del fruto disminuyó con un total de 6 chiles menos por planta. No hubo cambios significativos en el número de frutos por plantas entre el tratamiento control, auxinas y giberelinas, pues los tres tratamientos mostraron 7 chiles por planta.

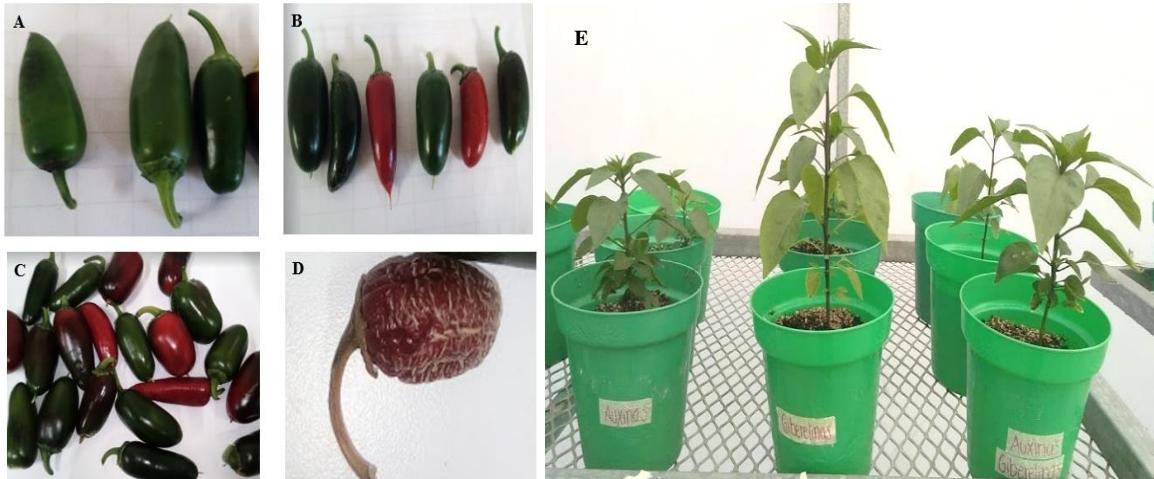
**Tabla 10.** Efecto la aplicación de fitohormonas sobre el desarrollo y rendimiento de plantas de chile.

Tratamiento	Longitud del tallo (cm)	Diámetro del tallo (cm)	No. Hojas	No. botones
Control	14.40 ± 0.89 <sup>c</sup>	0.47 ± 0.04 <sup>b</sup>	59.00 ± 4.96 <sup>b</sup>	12.00 ± 1.11 <sup>c</sup>
Auxinas	13.42 ± 1.16 <sup>d</sup>	0.42 ± 0.04 <sup>b</sup>	55.00 ± 3.77 <sup>c</sup>	34.00 ± 2.29 <sup>a</sup>
Giberelinas	18.61 ± 1.14 <sup>a</sup>	0.51 ± 0.06 <sup>a</sup>	108.00 ± 5.33 <sup>a</sup>	20.00 ± 1.98 <sup>b</sup>
Auxina-Giberelinas	14.91 ± 0.88 <sup>c</sup>	0.44 ± 0.05 <sup>b</sup>	33.00 ± 1.39 <sup>d</sup>	05.00 ± 0.90 <sup>d</sup>

	No. Fruto	Longitud del fruto (cm)	Peso del fruto (g)
Control	7.00 ± 2.19 <sup>a</sup>	4.00 ± 0.23 <sup>a</sup>	7.86 ± 0.67 <sup>b</sup>
Auxinas	7.00 ± 1.52 <sup>a</sup>	4.17 ± 0.13 <sup>a</sup>	8.94 ± 0.58 <sup>a</sup>
Giberelinas	7.00 ± 3.13 <sup>a</sup>	3.34 ± 0.12 <sup>b</sup>	4.42 ± 0.14 <sup>c</sup>
Auxina-Giberelinas	1.00 ± 1.00 <sup>b</sup>	1.52 ± 1.00 <sup>c</sup>	0.41 ± 1.00 <sup>d</sup>

Letras diferentes entre columnas indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$  y  $n = 3$ ), prueba de Tukey.



**Figura 12.** Frutos cosechados de plantas bajo tratamiento control (A), auxina (B), ácido giberélico (C) o auxina-ácido giberélico (D) y plantas con los diferentes tratamientos (E).

Las auxinas son la clase principal de fitohormonas que controlan la división celular y el crecimiento de raíces, tallos y frutos (Kazan, 2013). El desarrollo de las plantas, desde el embrión hasta la flor depende de la acumulación (gradientes locales) de auxina. En *Arabidopsis thaliana*, el incremento en la acumulación local de auxina conduce a diversos fenotipos, incluidos los cotiledones epinásticos, el aumento de la dominancia apical del brote, los pecíolos alargados, las raíces más cortas y tricomas. Mientras que la disminución de la acumulación de auxinas lleva a hipocótilos cortos y ramificación de raíz reducida (Mashiguchi *et al.*, 2011).

La producción metabólica, el almacenamiento y las vías de degradación contribuyen a regular los niveles de auxina celular y, por lo tanto, al desarrollo de la planta. Los niveles de ácido indolacético (IAA) en las células vegetales son el resultado de un equilibrio entre transporte, síntesis, almacenamiento, y mecanismos de degradación, donde hasta el 25% está presente en los tejidos vegetales (Casanova *et al.*, 2019).

El uso de fitohormonas, particularmente el ácido giberélico ( $GA_3$ ), conocida como una hormona de crecimiento, es esencial para controlar diversas actividades fisiológicas como floración, esto se observó al aumentar el número de botones florales y hojas. Además, permitió la regulación de la planta a la hoja, la estimulación de la expansión del área de la hoja y la germinación (Gupta *et al.*, 2001; Ouzounidou *et al.*, 2005; Ramesh *et al.*, 2006).

La aplicación exógena de  $GA_3$  retrasa la maduración de varias especies de árboles frutales; por ejemplo, el rociado con giberelina en frutos de palosanto (*Diospyros kaki*), 2 semanas antes de la cosecha, retrasa maduración de frutos en el árbol y el ablandamiento de los frutos después de la cosecha (Ben *et al.*, 1996). En la fruta defresa (*Fragaria ananassa*), se observa disminución en actividad respiratoria, retraso en síntesis de antocianinas y degradación de

clorofila. Además, se observa un efecto inhibitor en la maduración del fruto (Sharma *et al.*, 2008). De forma contraria a investigaciones, el uso del ácido giberélico aceleró la maduración de los frutos de jalapeño, obteniendo el estado maduro en menos tiempo que el control.

La manipulación de las vías de ácido giberélico en plantas *Capsicum annuum* modifica fenotipo y floración; se observó una mayor longitud en el tallo y un aumento en el número de botones florales, pero no hubo cambios significativos en el número de frutos, dando el mismo valor que el control. El efecto de la sobreexpresión del gen *G20-oxidasa* en plantas transgénicas se explica de dos maneras, en *Citrus sinensis* el mayor contenido de giberelinas activas que sobreexpresó el gen, dio como resultado un tallo alargado, pero no afectó la floración (Vidal *et al.*, 2001).

Por el contrario, la reducción en el nivel de giberelina activa en plantas transgénicas que sobreexpresan el mismo gen *GA20-oxidasa* resultó en un retardo en la floración de *Nerium oleander* (Ubeda *et al.*, 2006).

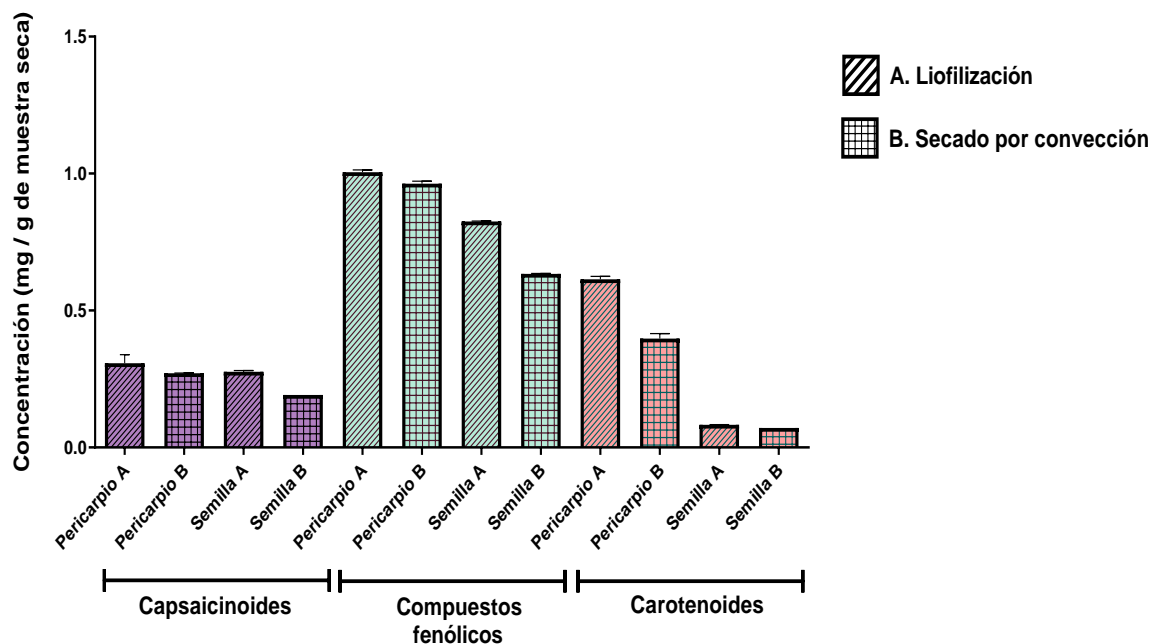
La aplicación de giberelinas y auxinas produce un efecto antagónico.  $GA_3$  induce el desarrollo del brote de la planta y la longitud del tallo, pero la adición de ácido 1-naftalenacético (auxina) en el mismo lugar, inhibe el desarrollo del brote. Sin embargo, la longitud del tallo se mantiene de manera similar que en el tratamiento control. Esto fue corroborado en pino silvestre (*Pinus sylvestris*) y abeto (*Picea glauca*) (Little *et al.*, 2003). El desarrollo del fruto no mostró cambios significativos en kiwi chino (*Actinidia chinensis*) (Hopping, 1976).

### **3.2 Secado de la muestra**

Se compararon los dos métodos de secado. Ambos, secado por convección y secado por liofilización, se aplicaron en frutos del tratamiento control donde se mantuvo la relación 1:1 (en gramos usados) para cada proceso (**Gráfica 1**). En el proceso de liofilización, los compuestos fenólicos, carotenoides y capsaicinoides se conservan hasta un 12% más en el pericarpio y semillas, debido a que el proceso se realiza al vacío y baja temperatura, evitando el paso por su fase líquida.

En consecuencia, los cambios enzimáticos, biológicos y químicos se controlan, manteniendo la composición cuantitativa. En el proceso de convección, se usa un horno que eleva la temperatura, esto elimina entre el 12 % en capsaicinoides y 34 % en compuestos fenólicos del contenido de compuestos bioactivos. El incremento en la temperatura funciona como un acelerador en la degradación, modificando la estructura de los compuestos (Sagar *et al.*, 2010).

## Compuestos bioactivos en *Capsicum annuum*



**Gráfica 1.** Estimación del contenido de algunos compuestos bioactivos en muestras de *C. annuum* secadas mediante dos métodos diferentes. Abreviación, LF, proceso de secado por liofilización y SC, proceso de secado por convección.

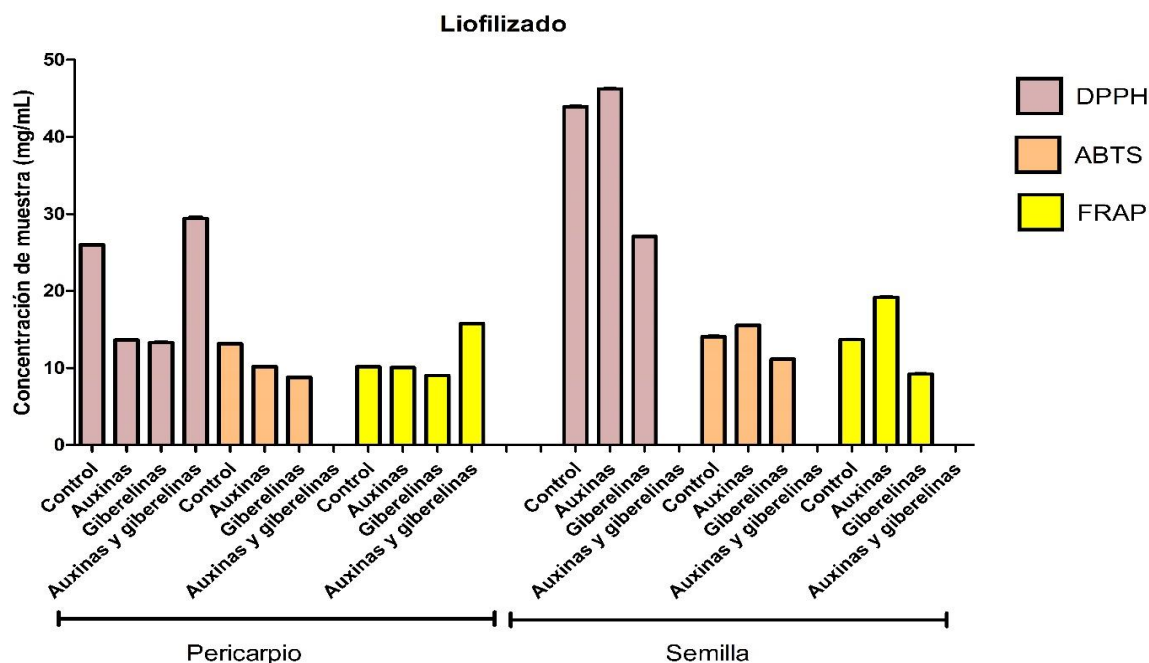
La reducción de compuestos bioactivos es mayor en el secado por convección que en el secado por liofilización, presentándose una pérdida mayor de 6% en compuestos fenólicos, 46.2% en carotenoides y 15.3 % en capsaicinoides, en comparación con el otro método. Esto también se observa con otras investigaciones donde el contenido de ácido ascórbico se reduce del 50 al 90 % después de usar temperaturas entre 50 y 90°C (Daood *et al.*, 2006; Vega *et al.*, 2009). El contenido del caroteno capsantina es mayor en muestras secadas mediante liofilización (Topuz *et al.*, 2011) en comparación con muestras secadas por convección. Este método induce degradación de carotenoides debido a la formación de isómeros *cis* por temperaturas elevadas (Minguez-Mosquera *et al.*, 1994). Los capsaicinoides como capsaicina y dihidrocapsaicina presentan una menor degradación en muestras liofilizadas en las condiciones -70°C, 40 mm Hg, con respecto a muestras secadas por convección, que puede reducirlos desde 21 al 24 % (Topuz *et al.*, 2011).

### 3.3 Actividad antioxidante

Ensayos como DPPH, ABTS y FRAP permiten determinar la capacidad antioxidante que tienen los compuestos bioactivos presentes en el pericarpio y semilla del fruto (vitaminas, carotenoides, polifenoles, otros), que actúan como una mezcla. El valor de IC<sub>50</sub> y EC<sub>50</sub> representa la concentración mínima inhibitoria que requiere una muestra en términos de

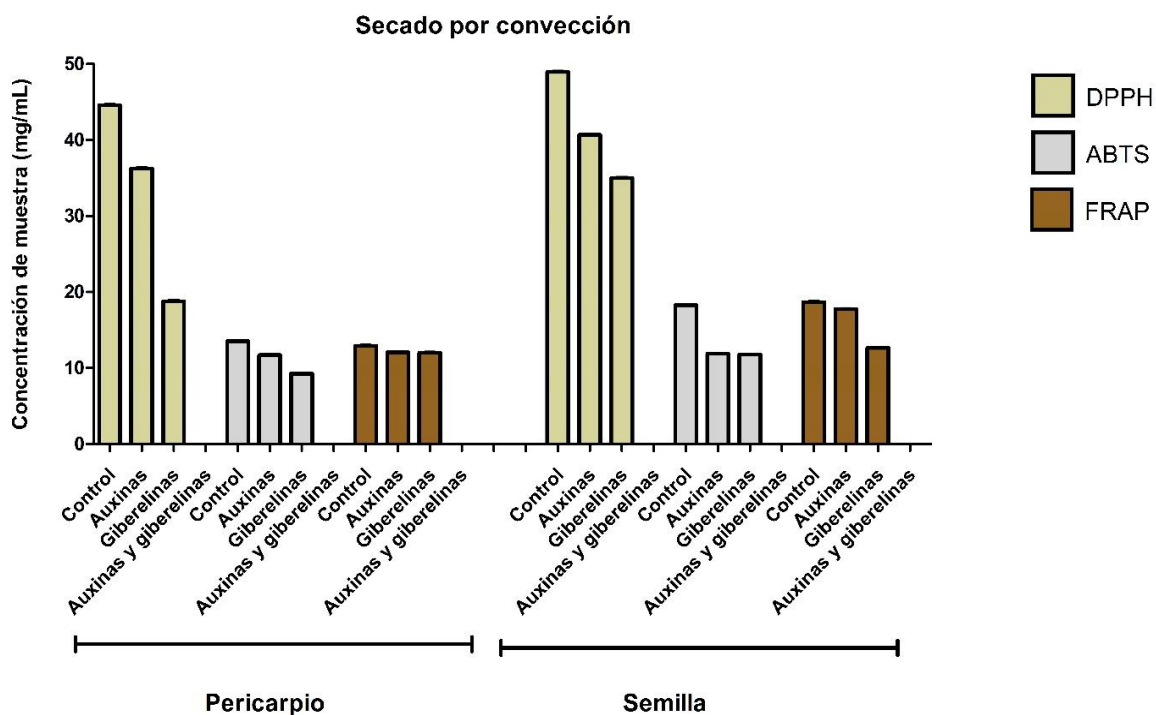
concentración para reducir al 50% el radical o un complejo formado entre iones Fe (III) y el reactivo TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina).

En este estudio, se siguieron los tres métodos para evaluar la actividad antioxidante de compuestos bioactivos; encontrar una concentración mínima (mg/mL) que permita reducir el 50% de la actividad de un radical o un complejo en el menor tiempo. Para ello, se ensayaron, tejidos de pericarpio y semillas del fruto de *Capsicum annuum* variedad jalapeño. Se observó muestras liofilizadas (**Grafica 2**) y muestras secadas mediante convección (**Grafica 3**). En el pericarpio del fruto existe una mayor acumulación de los compuestos bioactivos, siendo el promedio de 5 mg/g más en este tejido, de tal manera que la cantidad de muestra (mg/mL) que se requiere para alcanzar la concentración mínima inhibitoria es menor comparada con la de semilla.



**Grafica 2.** Valor IC50 (ABTS Y DPPH) y EC50 (FRAP) en muestras liofilizadas de plantas de chile tratadas con fitohormonas.

En el ensayo DPPH, es conveniente para el análisis de capacidad antioxidante de cisteína, glutatión, ácido ascórbico, tocoferol, compuestos aromáticos polihidroxilados (Masahiro *et al.*, 2005), incluyendo compuestos tanto hidrófilos como lipófilos (Prior *et al.*, 2005). El ensayo ABTS, permite medir principalmente la actividad antioxidante de polifenoles (Olszewska *et al.*, 2009), ácidos fenólicos (Ma *et al.*, 2011) y flavonoides (Khanama *et al.*, 2012). El ensayo de (FRAP) permite medir la capacidad antioxidante como los polifenoles, flavonoides, vitaminas y enzimas como glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa (Hidalgo *et al.*, 2017).



Gráfica 3. Valor IC<sub>50</sub> (ABTS Y DPPH) y EC<sub>50</sub> (FRAP) en muestras secadas por convección de plantas de chile tratadas con fitohormonas.

El IC<sub>50</sub> y EC<sub>50</sub> en muestras de plantas tratadas con auxinas fue menor que el control. Esto indica un aumento en actividad antioxidante. 52 % y 19 % para DPPH, 23 % y 13 % para ABTS, y 0.8% y 0.6% para FRAP en muestras de pericarpio liofilizadas y secadas por convección, respectivamente (Tabla 11 y 12).

**Tabla 11.** Cantidad de muestra liofilizada necesaria para alcanzar el valor IC<sub>50</sub> y EC<sub>50</sub>.

Tratamiento con fitohormonas	IC <sub>50</sub> DPPH (mg/mL)	IC <sub>50</sub> ABTS (mg/mL)	EC <sub>50</sub> FRAP (mg/mL)
<i>Pericarpio</i>			
Control	25.98±0.06 <sup>a</sup>	13.13±0.09 <sup>a</sup>	10.14±0.01 <sup>a</sup>
Auxinas	13.62±0.07 <sup>b</sup>	10.16±0.03 <sup>b</sup>	10.05±0.01 <sup>b</sup>
Giberelinas	13.31±0.06 <sup>c</sup>	8.78±0.07 <sup>c</sup>	9.01±0.00 <sup>c</sup>
Auxina-giberelinas	100.0 ± *	100.0 ± *	100.0 ± *
<i>Semilla</i>			
Control	43.92±0.05 <sup>b</sup>	14.06±0.07 <sup>b</sup>	13.68±0.03 <sup>b</sup>
Auxinas	46.22±0.06 <sup>a</sup>	15.53±0.01 <sup>a</sup>	19.16±0.08 <sup>a</sup>

Giberelinas	27.06±0.08 <sup>c</sup>	11.15±0.03 <sup>c</sup>	9.20±0.04 <sup>c</sup>
Auxina-Giberelinas	n.d	n.d	n.d

n.d.: muestra no analizada. Letras diferentes entre columnas indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$  y  $n = 3$ ), con prueba de Tukey. \*El tratamiento en combinación con auxinas y giberelinas no alcanzó el IC<sub>50</sub> y EC<sub>50</sub>, porcentaje de inhibición del radical fue 18.02 % DPPH y 31.66 % ABTS, y para la formación del complejo de ión Fe<sup>+2</sup> en FRAP 40.76 %.

La aplicación de auxinas incrementa la concentración de compuestos bioactivos, que eleva la actividad antioxidante presente en el fruto. En el caso de la semilla liofilizada, existe una pérdida de compuestos bioactivos como lo demuestra el IC<sub>50</sub> y EC<sub>50</sub>; se requiere más cantidad de tejido que el control. Es decir, hubo una disminución que va desde el 5.2 % hasta el 40.05 % de compuestos que reaccionan con los diferentes radicales. En semilla secada por convección se observó mayor actividad antioxidante que en el control, el incremento va desde 4.8 % hasta 35%.

El adicionar auxinas en plantas con fruto disminuye la maduración, tanto en frutas climatéricas (Zaharah *et al.*, 2012) como no climatéricas (Symons *et al.*, 2012; Teribia *et al.*, 2016). Sin embargo, promueven el aumento en la actividad de las enzimas con capacidad antioxidante como superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa. Estas proteínas regulan los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Sergiev *et al.*, 2019) en *Arabidopsis thaliana* (Pasternak *et al.*, 2005) y trigo (*Triticum aestivum* L.) (Skrzypek *et al.*, 2007). En microalgas verdes, aumentan los niveles de ascorbato total (53 al 70%) y glutatión (20 al 35%) (Piotrowska *et al.*, 2014).

El tratamiento de giberelinas incrementó la actividad antioxidante del fruto (pericarpio y semillas); el 50 % de la inhibición del radical se alcanza con una menor cantidad de muestra que el control (**Tabla 11** y **12**). En el pericarpio liofilizado o secado por convección, el porcentaje de actividad antioxidante aumentó un 48.7 % y 57.2 % en DPPH, 33.1 % y 20.6 % en ABTS, y 11.14 % y 7.05 % para FRAP, respectivamente. En semilla liofilizada o secada por convección, el porcentaje aumentó un 38.3 % y 28.4 % en DPPH, 20.6 % y 35.7 % en ABTS, y 32.0 % y 32.33 % en FRAP, respectivamente.

Se han reportado modificaciones cuantitativas de los compuestos bioactivos en frutos al adicionar ácido giberélico a las plantas antes de la antesis. Sin embargo, no siempre se obtiene la misma respuesta; en algunas investigaciones se reporta un incremento de actividad antioxidante en frutos como búgula (*Ajuga integrifolia*) (Abbasi *et al.*, 2020), mora (*Rubus ulmifolius*) (Colak, 2018), fruta del bosque (Alrashdi *et al.*, 2017). Otros estudios reportan disminución de actividad antioxidante en cerezas (*Prunus avium*) (Ozkan *et al.*, 2016) y ciruelas japonesas (*Prunus salicina Lindl*) (Erogul *et al.*, 2015).

**Tabla 12.** Cantidad de muestra secada mediante convección para alcanzar el valor IC<sub>50</sub> y EC<sub>50</sub>.

Tratamiento con fitohormonas	IC <sub>50</sub> DPPH (mg/mL)	IC <sub>50</sub> ABTS (mg/mL)	EC <sub>50</sub> FRAP (mg/mL)
<i>Pericarpio</i>			
Control	44.59±0.07 <sup>a</sup>	13.55±0.08 <sup>a</sup>	12.90±0.09 <sup>a</sup>
Auxinas	36.27±0.04 <sup>b</sup>	11.70±0.03 <sup>b</sup>	12.08±0.04 <sup>b</sup>
Giberelinas	18.79±0.09 <sup>c</sup>	9.26±0.08 <sup>c</sup>	11.99±0.09 <sup>b</sup>
Auxina-Giberelinas	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Semilla</i>			
Control	48.95±0.08 <sup>a</sup>	18.30±0.05 <sup>a</sup>	18.68±0.05 <sup>a</sup>
Auxinas	40.69±0.07 <sup>b</sup>	11.90±0.00 <sup>b</sup>	17.77±0.05 <sup>b</sup>
Giberelinas	35.01±0.05 <sup>c</sup>	11.76±0.01 <sup>c</sup>	12.64±0.01 <sup>c</sup>
Auxina-Giberelinas	n.d.	n.d.	n.d.

n.d.: muestra no analizada. Letras diferentes entre columnas indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$  y  $n = 3$ ), con prueba de Tukey.

La literatura sugiere que los carotenoides y las clorofilas están involucrados en la actividad antioxidante de los pimientos (Álvarez *et al.*, 2011; Ornelas *et al.*, 2013). Sin embargo, la actividad antioxidante de los pimientos también se ha atribuido a otros compuestos, principalmente compuestos fenólicos (Yamaguchi *et al.*, 2001).

Varios estudios han demostrado que los pimientos completamente maduros muestran mayor actividad antioxidante (Howard *et al.*, 2000; Cervantes *et al.*, 2014).

### 3.4 Contenido de compuestos fenólicos

Las muestras de plantas tratadas con fitohormonas mostraron diferencias en la cantidad de compuestos fenólicos (mg equivalentes de ácido gálico), el pericarpio y semilla de plantas tratadas con ácido giberélico presentaron mayor contenido. De forma contraria, las muestras de plantas tratadas con ácido indolacético o con ácido giberélico e indolacético mostraron cambios significativos en la acumulación de estos compuestos, mostrando en la **Tabla 13** el análisis de varianza (ANOVA) y en la **Tabla 14** el contenido total de fenoles presentes en el fruto.



**Tabla 13.** Análisis de varianza en diferentes tejidos del chile jalapeño.

Tipo de Muestra	Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	P evaluado
Pericarpio liofilizado	Modelo	3	2.345	0.7817	18178	<.0001
	Error	8	0.0003440	0.00004300		
	Total	11	2.345			
Pericarpio secado por convección	Modelo	3	2.261	0.7537	34388	<.0001
	Error	8	0.0001753	0.00002192		
	Total	11	2.261			
Semilla liofilizada	Modelo	3	1.356	0.4522	27968	<.0001
	Error	8	0.0001293	0.00001617		
	Total	11	1.357			
Semilla secada por convección	Modelo	3	1.199	0.3998	311	<.0001
	Error	8	0.0001027	0.00001283		
	Total	11	1.200			

Anova para la medición del efecto de tratamientos con fitohormonas.

Después de aplicar un diseño factorial uno, el uso de una fitohormona (como variable) tiene significancia para el experimento, ya que F-valor es alto (valor mayor que 1), quiere decir que la varianza entre los tratamientos es mayor que la varianza del error que se ha establecido de 0.05, con lo cual se puede afirmar que el uso de fitohormonas exógenas modifica la acumulación de compuestos fenólicos.

**Tabla 14.** Contenido de fenoles totales (mg ácido gálico equivalente /g de muestra seca) en diferentes tejidos del fruto (chile jalapeño) de plantas tratadas con fitohormonas.

Tratamiento	Secado por liofilizado	% Distribución	Secado por convección	% Distribución
<i>Pericarpio</i>				
Control	1.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	3.48	0.96 ± 0.00 <sup>b</sup>	8.52
Auxina	0.97 ± 0.00 <sup>c</sup>	5.04	0.91 ± 0.00 <sup>c</sup>	11.92
Giberelinas	1.44 ± 0.00 <sup>a</sup>	90.40	1.09 ± 0.00 <sup>a</sup>	79.55
Giberelinas-auxinas	0.21 ± 0.00 <sup>d</sup>	1.07	n.d.	0
<i>Semilla</i>				
Control	0.82 ± 0.00 <sup>b</sup>	12.64	0.63 ± 0.00 <sup>c</sup>	2.96
Auxina	0.60 ± 0.00 <sup>c</sup>	4.00	0.74 ± 0.00 <sup>b</sup>	20.35
Giberelinas	0.98 ± 0.00 <sup>a</sup>	80.05	0.78 ± 0.00 <sup>a</sup>	76.38

0.09 ± 0.09

3.30

n.d.

0

#### Giberelinas-auxinas

---

d.b.: Peso en base seca; n.d.: muestra no analizada. Letras diferentes entre columnas indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$  y  $n = 3$ ), prueba de Tukey.

Las especies del género *Capsicum* son ricas en compuestos fenólicos, metabolitos secundarios que se encuentran en las plantas como resultado de su adaptación al estrés biótico y abiótico (Hallmann *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2014; Mokhtar *et al.*, 2015; Días *et al.*, 2016). La importancia de los compuestos fenólicos recae en su actividad antioxidante, sugiriendo que estos compuestos son los principales responsables de dicha actividad en los pimientos.

La diversidad de los compuestos fenólicos se ha investigado ampliamente, en términos de sus propiedades medicinales, como la prevención del cáncer, la aterosclerosis y la actividad antiinflamatoria (Jeong *et al.*, 2011; Díaz *et al.*, 2016).

En la literatura se reporta que los flavonoides son la principal clase de compuestos fenólicos presentes en chiles (Mudric *et al.*, 2017). Existen factores que pueden influir en la acumulación de estos compuestos en frutos de *Capsicum*, como la deficiencia de nutrientes, el tipo cultivar, la radiación UV o un aumento en los niveles de estrés causados por los patógenos (Howard *et al.*, 2000; Rao *et al.*, 2000; Meckelmann *et al.*, 2015).

La clasificación basada en el contenido de flavonoides clasifica los alimentos como bajos (0.1-39.9 mg/kg), moderados (40-99.9 mg/kg) y altos (> 100 mg/kg) (Nascimento *et al.*, 2014). En comparación con otras frutas como la menta silvestre (*Mentha longifolia*) y uvas (*Vitis vinifera*), que generalmente presentan concentraciones altas, los polifenoles presentes en pimientos picantes contienen un nivel moderado (Nagy *et al.*, 2015).

La aplicación de ácido giberélico tiene un efecto sobre el contenido de compuestos fenólicos de *Chlorella minutissima*, un alga verde. Los cultivos tratados con esta fitohormona (10, 6, 10 y 5 M) tuvieron un mayor contenido de ácido p-hidroxibenzoico (Stirk *et al.*, 2019). Esto también, se observó en cultivos de *Ajuga integrifolia*, una planta que pertenece a la familia Lamiaceae; una mayor concentración de GA<sub>3</sub> (5.0 mg/L induce acumulación de flavonoides (Abbasi *et al.*, 2020).

En las semillas de lenteja (*Lens culinaris*), los tratamientos con GA<sub>3</sub> y ácido indolacético aumentaron significativamente el contenido de ácido gálico en comparación con el tratamiento control (Giannakoula *et al.*, 2012). En guisantes (*Pisum sativum* L.), la aplicación de la auxina ácido naftalenacético no presenta incrementos significativos de los compuestos fenólicos (Sergiev *et al.*, 2019).

La aplicación de auxina exógena en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*) aumenta la acumulación de compuestos fenólicos volátiles, como fenilacetaldehído (1,57 veces), 2-feniletanol (1,56 veces) y benzoato de metilo (1,75 veces). Además, se inhibe la producción de 1-hexanol (56,59%), 1-nitro -2-feniletano (23.74%), cianuro de bencilo (45.69%) y 2-isobutiltiazol (35.18%), entre otros (Wu *et al.*, 2018).

### 3.5 Contenido de carotenoides totales

El contenido de carotenoides totales se estimó por medio de un análisis de varianza (**Tabla 15**) en dos tejidos diferentes del fruto del chile: pericarpio y semillas (**Tabla 16**). La aplicación de fitohormonas como el ácido indolacético y ácido giberélico, incrementó la acumulación de carotenos totales en ambos tejidos; dos y tres veces en cuantía que el control, respectivamente. La combinación de las dos fitohormonas reduce hasta cerca de 2.5 veces el contenido de carotenos totales en el pericarpio y 4.6 en la semilla, con respecto al control.

**Tabla 15.** Análisis de varianza en diferentes tejidos del chile jalapeño.

Tipo de Muestra	Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	P evaluado
Pericarpio liofilizado	Modelo	3	3.83873958	1.27957986	464.30	<.0001
	Error	8	0.02204731	0.00275591		
	Total	11	3.86078689			
Pericarpio secado por convección	Modelo	3	1.33835745	0.44611915	575.52	<.0001
	Error	8	0.00620127	0.00077516		
	Total	11	1.34455872			
Semilla liofilizada	Modelo	3	0.25389979	0.08463326	1131.02	<.0001
	Error	8	0.00059863	0.00007483		
	Total	11	0.25449842			
Semilla secada por convección	Modelo	3	0.25166384	0.08388795	69233.5	<.0001
	Error	8	0.00000969	0.00000121		
	Total	11	0.25167353			

Anova para la medición del efecto de tratamientos con fitohormonas.

Después de aplicar un diseño factorial uno, el uso de una fitohormona (como variable) tiene significancia para el experimento, ya que F-valor es alto (valor mayor que 1), quiere decir que la varianza entre los tratamientos es mayor que la varianza del error que se ha establecido de 0.05, con lo cual se puede afirmar que el uso de fitohormonas exógenas modifica la acumulación de carotenoides.

**Tabla 16.** Contenido de carotenoides totales (mg/g d.b. de  $\beta$ -caroteno equivalentes) en el pericarpio fruto de chile jalapeño en plantas tratadas con fitohormonas.

Tratamiento	Secado por liofilizado	% Distribución	Secado por convección	% Distribución
<i>Pericarpio</i>				
Control	0.61±0.01 <sup>c</sup>	16.37	0.39±0.01 <sup>c</sup>	21.36
Auxina	1.16±0.04 <sup>b</sup>	31.05	0.52±0.03 <sup>b</sup>	28.34
Giberelinas	1.73±0.09 <sup>a</sup>	46.23	0.93±0.03 <sup>a</sup>	50.00
Giberelinas-auxinas	0.23 ± 0.02 <sup>d</sup>	3.35	n.d.	0
<i>Semilla</i>				
Control	0.08 ± 0.00 <sup>c</sup>	10.77	0.07 ± 0.00 <sup>c</sup>	10.25
Auxina	0.30 ± 0.00 <sup>b</sup>	39.09	0.26 ± 0.00 <sup>b</sup>	37.95
Giberelinas	0.36 ± 0.01 <sup>a</sup>	47.81	0.36 ± 0.00 <sup>a</sup>	51.80
Giberelinas-auxinas	0.01 ± 0.00 <sup>d</sup>	2.32	n. d.	0

d.b.: Peso en base seca; n.d.: muestra no analizada. Letras diferentes entre columnas indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$  y  $n = 3$ ), con prueba de Tukey.

La estabilidad de los carotenos en el proceso de deshidratación del pericarpio es menor en el secado por convección que en el proceso de liofilización, pero los niveles de reducción difieren. En el tratamiento control, la reducción es del 35%, en el tratamiento con auxinas es 55.3 o giberelinas es 46.2 %. En la semilla, los valores se reducen en 14.4 % en el tratamiento control, 12 % en auxinas y 1.6 % en giberelinas.

Los compuestos que confieren pigmentación a los frutos de *Capsicum* son carotenoides, pero estos también pueden estar relacionados con el contenido de glucosa durante la maduración (Thuphairo *et al.*, 2019). El perfil y su acumulación difieren en las especies debido a las condiciones de crecimiento, parte del fruto, maduración, prácticas de cosecha y postcosecha (Carvalho *et al.*, 2015; Bernstein *et al.*, 2016; Olivares *et al.*, 2016).

El contenido de carotenos en pimientos rojos es 1,310 mg/100 g aprox. siendo la mayor fuente de  $\beta$ -caroteno reportado; comparado con otros frutos. La cúrcuma (*Curcuma longa*) contiene 60  $\mu$ g/100 g y el clavo (*Syzygium aromaticum*) 70  $\mu$ g/100g, siendo bajas cantidades de  $\beta$ -caroteno (Kandlakunta *et al.*, 2008). En chiles jalapeños, el contenido de neoxantina, capsantina, violaxantina, zeaxantina y  $\beta$ -criptoxantina es 0.7-9.3 veces mayor que en pimientos no pungentes (Deli *et al.*, 2001). La acumulación de carotenoides reportada es  $68 \pm 3$   $\mu$ g/g (capsantina),  $34 \pm 3$   $\mu$ g/g (violaxantina),  $29 \pm 0$   $\mu$ g/g (zeaxantina),  $11 \pm 1$   $\mu$ g/g ( $\beta$ -criptoxantina), y provitamina A  $161 \pm 2$   $\mu$ g/g (Silveira *et al.*, 2017).

Se ha reportado que la aplicación de auxinas exógenas en tomate (*Solanum lycopersicum*) inhibe degradación de clorofila y producción de etileno, pero aumenta la acumulación de carotenoides (Wu *et al.*, 2018). La aplicación del ácido indolacético en té (*Camellia sinensis*) (Zhanget *al.*, 2020) es efectiva contra la toxicidad causada por cadmio disminuyendo su contenido. Además, aumenta el contenido de clorofila a, clorofila b y carotenos hasta un 39.8%, 33.6% y 29.4%, respectivamente. Este comportamiento se observó en alimentos como trigo (*Genus triticum*) (Agami *et al.*, 2013), fenogreco (*Trigonella foenum graecum*) (Bashri *et al.*, 2016) y tomate (*Solanum lycopersicum*) (Khan *et al.*, 2019).

La aplicación de GA<sub>3</sub> en la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* aumentó el crecimiento y mejoró la absorción de nitrógeno, la acumulación de proteínas, pigmentos y el contenido de la toxina microcistina (Pan *et al.*, 2008). En *Nostoc linckia*, una cianobacteria de agua dulce o terrestre, se observa una reducción en el contenido de carotenos, clorofila a y b (Mansouri *et al.*, 2016).

### 3.6 Contenido de capsaicinoides

En este estudio, el contenido de capsaicinoides, en el pericarpio y semilla, se analizó la varianza (**Tabla 17**) para determinar el cambio en su acumulación, a partir de la aplicación de fitohormonas y su estabilidad durante el secado (**Tabla 18**) Los resultados muestran que la combinación de ácido giberélico y ácido indolacético induce la acumulación de capsaicina (0.910 mg/g); tres veces más que el tratamiento control. El tratamiento de ácido indolacético o ácido giberélico muestra un aumento significativo mayor que el control, respectivamente.

Los capsaicinoides se producen en las especies pungentes de *Capsicum* (chile, pimienta de cayena, pimiento rojo, jalapeño, chiltepín) cuyo contenido varía de 0.1 mg/g a 2.5 mg/g (Parrish *et al.*, 1996). Red chill contiene 309.3 ug/g, green pepper 1.0 ug/g (Othman *et al.*, 2011) y chiltepín 0.29 umol/kg (Bajel *et al* 2015). De manera general, las variedades de pimiento de *Capsicum annum*, *C. frutescens* y *C. chinense* contienen 0.22 a 20 mg de capsaicinoides totales/g de peso seco (Thomas *et al.*, 1998). En otro estudio, el contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina es 1.32 y 0.83 mg/g de peso seco, respectivamente (López *et al.*, 1996).

**Tabla 17.** Análisis de varianza en diferentes tejidos del chile jalapeño.

Tipo de Muestra	Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	P evaluado
Pericarpio liofilizado	Modelo	3	0.69750953	0.23250318	189412	<.0001
	Error	8	0.00000982	0.00000123		
	Total	11	0.69751935	189412		
	correcto					
	Modelo	3	0.21642476	0.07214159	118752	<.0001

Pericarpio secado por convección	Error	8	0.00000486	0.00000061		
	Total correcto	11	0.21642962			
Semilla liofilizada	Modelo	3	0.06919484	0.02306495	954.02	<.0001
	Error	8	0.00019341	0.00002418		
	Total correcto	11	0.06938826			
Semilla secada por convección	Modelo	3	0.12381102	0.04127034	30551.8	<.0001
	Error	8	0.00001081	0.00000135		
	Total correcto	11	0.12382183			

Anova para la medición del efecto de tratamientos con fitohormonas.

Después de aplicar un diseño factorial uno, el uso de una fitohormona (como variable) tiene significancia para el experimento, ya que F-valor es alto (valor mayor que 1), quiere decir que la varianza entre los tratamientos es mayor que la varianza del error que se ha establecido de 0.05, con lo cual se puede afirmar que el uso de fitohormonas exógenas modifica la acumulación de capsaicinoides.

**Tabla 18.** Contenido de capsaicina (mg/g d.b.) en diferentes tejidos del fruto de chile jalapeño, secado por convección o liofilizado, de plantas tratadas con fitohormonas.

Tratamiento	Secado por liofilizado	% Distribución	Secado por convección	% Distribución
<i>Pericarpio</i>				
Control	0.30 ± 0.00 <sup>d</sup>	16.35	0.27 ± 0.00 <sup>c</sup>	29.60
Auxina	0.35 ± 0.00 <sup>c</sup>	17.95	0.30 ± 0.00 <sup>b</sup>	33.43
Giberelinas	0.39 ± 0.00 <sup>b</sup>	19.95	0.33 ± 0.00 <sup>a</sup>	36.90
Giberelinas-auxinas	0.91 ± 0.00 <sup>a</sup>	45.83	n.d.	0
<i>Semilla</i>				
Control	0.270 ± 0.00 <sup>c</sup>	23.08	0.19 ± 0.00 <sup>c</sup>	27.90
Auxina	0.17 ± 0.00 <sup>d</sup>	15.00	0.23 ± 0.00 <sup>b</sup>	34.84
Giberelinas	0.34 ± 0.00 <sup>b</sup>	30.00	0.25 ± 0.00 <sup>a</sup>	37.10
Giberelinas-auxinas	0.37 ± 0.00 <sup>a</sup>	32.00	n.d.	0

n.d.: muestra no analizada. Letras diferentes entre columnas indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$  y  $n = 3$ ), con prueba de Tukey.

El contenido de capsaicina en fruto de chile (mg/g) se convirtió en unidades Scoville (SHU) para clasificarlos de acuerdo con los niveles de pungencia (**Tabla 19**). Las unidades Scoville son un factor de dilución para capsaicinoides en la cual la sensación de ardor (pungencia) perceptible es mínima (Collins *et al.*, 1995; Wall *et al.*, 1998). Hay cinco niveles de

pungencia clasificados, no pungente (0–700 SHU), ligeramente pungente (700–3,000 SHU), moderadamente pungente (3,000 – 25,000 SHU), muy pungente (25,000 – 70,000 SHU) y muy altamente pungente (> 80,000 SHU) (Weiss, 2002). La pungencia del jalapeño es de leve a moderado, tiene un rango de 500 a 5,000 SHU (Kang *et al.*, 2013).

**Tabla 19.** Estimación de pungencia (Unidades Scoville, SHU) en diferentes tejidos del fruto de chile jalapeño, secado por convección o liofilizado, de plantas tratadas con fitohormonas.

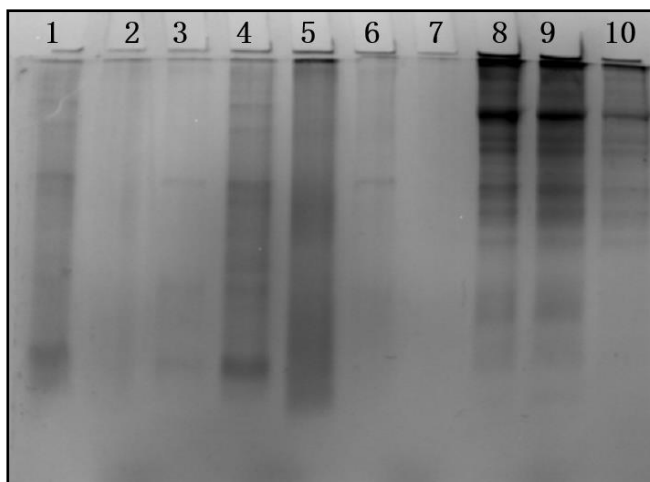
Tratamiento	Liofilizado	Secado por convección
	<i>Pericarpio</i>	
Control	4 848 ± 0.00 <sup>d</sup>	4 336 ± 0.00 <sup>c</sup>
Auxina	5 712 ± 0.00 <sup>c</sup>	4 880 ± 0.00 <sup>b</sup>
Giberelina	6 320 ± 0.00 <sup>b</sup>	5 392 ± 0.00 <sup>a</sup>
Giberelina-auxina	14 560 ± 0.00 <sup>a</sup>	n.d.
	<i>Semilla</i>	
Control	4 464 ± 0.00 <sup>c</sup>	3 072 ± 0.00 <sup>c</sup>
Auxina	2 768 ± 0.00 <sup>d</sup>	3 824 ± 0.00 <sup>b</sup>
Giberelina	5 504 ± 0.00 <sup>b</sup>	4 048 ± 0.00 <sup>a</sup>
Giberelina-auxina	5 920 ± 0.00 <sup>a</sup>	n.d.

n.d.: muestra no analizada. Letras diferentes entre columnas indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$  y  $n = 3$ ), prueba de Tukey.

### 3.7 Electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)

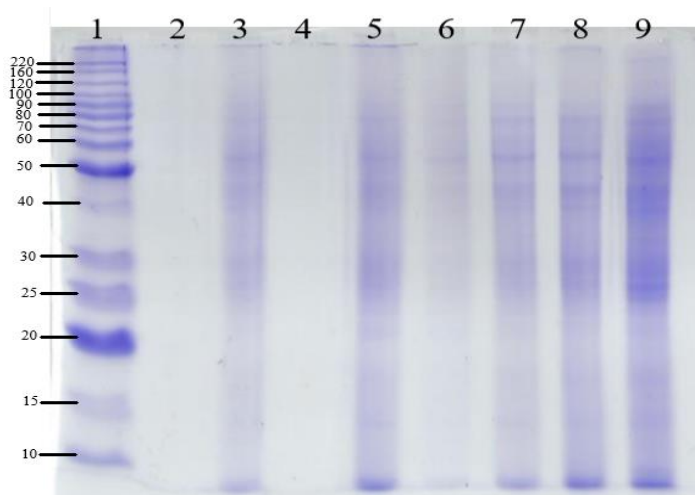
Se compararon diferentes metodologías para la extracción de proteínas. El método A (Extracción por TCA/C como describe Curto *et al.* (2006)), método B (Extracción con buffer de PEB siguiendo el método de Kohli *et al.* (2012)), método C (Extracción con etanol al 70% de acuerdo con Zellner *et al.* (2005)) y método D (Protocolo universal y rápido propuesto por Wang *et al.* (2005)).

En la **Figura 13**, se muestran las fracciones proteicas y sus aislamientos obtenidas por diferentes métodos de extracción, observados mediante la electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE), a partir de 200 mg de tejido, el cual se tiñó en Azul de coomassie.



**Figura 13.** Perfil de proteína total de plantas control. Método A, 3 y 6; método B, 4 y 5; método C, 8, 9 y 10 y método D, 1. Electroforesis en geles de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE).

A partir de la selección de métodos de extracción de proteína, se ensayaron diferentes cantidades (mg/mL) de muestra, obtenida de botones florales de plantas del tratamiento control, para estimar el rendimiento mediante la metodología de Bradford (1989) (**Figura 14**).



**Figura 14.** Perfil electroforético de diferentes concentraciones de muestra control (proteína total) obtenida de botones florales mediante el método de Bradford (1989). Marcador de tamaño (1), 0.026 mg/mL (3), 0.410 mg/mL (5), 0.216 mg/mL (6), 0.650 mg/mL (7), 1.10 mg/mL (8) y 1.14 mg/mL (9). Electroforesis en geles de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE).

En la **Tabla 20** se muestra una estimación de las proteínas contenidas (número de bandas) en los extractos obtenidos de muestras de cada tratamiento. Se ensayaron 0.70 mg/mL de proteína soluble. En la **Tabla 21**, se indica el peso (kDa) estimado de cada banda, y finalmente en la **Figura 15**, se muestra el fraccionamiento de proteínas en geles de poliacrilamida.



**Tabla 20.** Número de bandas en el gel (separador) de poliacrilamida.

<b>Tratamiento</b>	<b>No. de bandas</b>
Control	14
Auxinas	09
Giberelinas	16
Auxinas-giberelinas	14

Número de bandas analizadas.

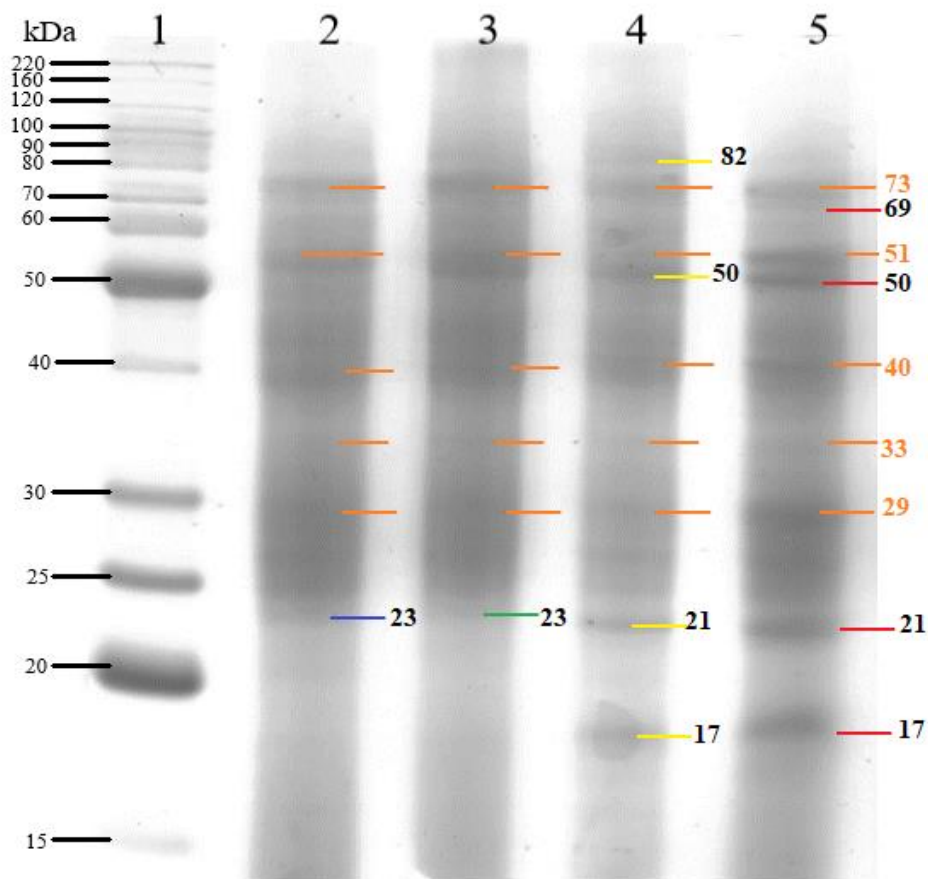
**Tabla 21.** Masa molecular estimado (kDa) de las fracciones proteicas obtenidas a partir de la electroforesis SDS-PAGE para evaluar el efecto de los diferentes tratamientos con fitohormonas.

<i>Tratamientos con fitohormonas</i>			
<b>Control</b>	<b>Auxinas</b>	<b>Giberelinas</b>	<b>Auxinas giberelinas</b>
73.58	73.63	82.43	73.89
65.24	58.24	73.33	69.32
51.48	51.23	57.15	64.24
48.97	45.75	51.97	51.89
45.75	39.49	50.59	50.06
42.16	33.24	48.51	43.77
40.00	29.42	44.25	40.08
38.84	26.00	39.91	37.34
34.09	23.01	33.34	32.34
29.68		31.49	29.06
28.17		29.37	26.08
26.12		27.51	24.36
24.50		26.35	21.76
23.05		24.27	17.84
		21.26	
		17.62	

Pesos moleculares detectados utilizando el software CLIQS 1D Pro (TotalLab, UK).

En la **Figura 15**, se muestran las diferentes fracciones proteicas (bandas) de muestras obtenidas de plantas tratadas (aplicación exógena de fitohormonas), a través de los cuales fueron calculados sus pesos moleculares. Se determinaron los pesos moleculares de cincuenta y tres bandas, aproximadamente. Cinco de ellas (o fracciones proteicas) con pesos moleculares de 73, 51, 40, 33 y 29 kDa se encontraron en la misma posición en las 4 muestras, incluyendo el control. Presumiblemente, estas fracciones no fueron afectadas por la aplicación de los ácidos giberélico e indolacético.

Por otra parte, 6 bandas parecen exclusivas de plantas tratadas porque no se observan en el control. El tratamiento con ácido giberélico y el tratamiento que combinó los ácidos indolacético y giberélico presentó tres bandas en la misma posición con pesos 50, 21 y 17 kDa, respectivamente. El tratamiento de ácido indolacético se observó una banda de 23 kDa, que no está presente al combinar ambos tratamientos. El ácido giberélico presentó una banda de 82 kDa, y finalmente, la combinación de ambos tratamientos presento una nueva banda de 69 kDa.



**Figura 15.** Comparación de perfiles proteicos de extractos obtenidos de botones florales para evaluar el efecto de la aplicación de fitohormonas. Marcador de tamaño (1), Control (2), auxinas (3), giberelinas (4) y combinación de giberelinas-auxinas (5). Electroforesis en gels de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes SDS-PAGE.

Muchas proteínas han sido reportadas e identificadas en hojas, botones florales y semillas en la especie de *Capsicum annuum*. Algunas de ellas, están involucradas en procesos metabólicos, organización celular, biogénesis, regulación de procesos biológicos, defensa y transporte de nutrientes (**Tabla 22**).

**Tabla 22.** Proteínas reportadas en hojas y botones florales de *Capsicum annuum*.

<b>Nombre de la proteína</b>	<b>Peso molecular (kDa)</b>
ATP sintasa subunidad beta	53.9
	54.1
ATP sintasa CF1 cadena alfa	48.3
ATP sintasa CF1 subunidad alfa	47.2
ATP sintasa cadena D	19.2
Formato deshidrogenasa, mitocondrial	34.0
Alfa-manosidasa	47.0
Triosa fosfato isomerasa isoforma citosólica	24.9
Rubisco subunidad grande de unión a proteínas subunidad beta, rubisco cloroplástico	58.1
Proteína estabilizadora de cloroplasto de manganeso II	32.7
Polipéptido del complejo evolutivo de oxígeno del fotosistema II	20.4
Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa	34.1
Polifenol oxidasa F	58.3
Glutación S-transferasa	57.9
Tiorredoxina	24.6
Glutamina sintetasa	34.0
Adenosina quinasa isoforma 1T-like proteína	34.0
Anexina cap32	29.8
Actina	34.0
	47.0
Glutelina	31.2

Supuesta proteína de reparación de ADN RAD23-4	48.8
Supuesta cafeoil-coa 3-O-metiltransferasa	26.0
Aleno óxido ciclasa	20.8
Beta-xilosidasa	85.6
Peroxidasa	34.4
Endoquitinasa ácida Q	27.6
Proteasa similar a subtilisina	79.0
Glucano Endo-1,3-beta-D-Glucosidasa	38.4
Endoquitinasa ácida pcht28	27.3
Nodulina temprana	35.7
Ribonucleasa MC	34.5
Acetilajmalan esterasa	41.2
CO(2) -respuesta secretada proteasa	81.2
Subtilisina	83.7
	82.9
	81.8
Quinasa receptora de embriogénesis somática	21.3
Peptidilprolil isomerasa	23.6
Factor de alargamiento 1-alfa	49.3
Triosa fosfato isomerasa	27.1
Malato deshidrogenasa	36.1
Aspartil proteasa	47.9
	46.3
Alfa-L-fucosidasa	55.8
Endoquitinasa	34.6
Zingipain -2-like	38.4
Proteinasa aspártica	46.4
Alfa-amilasa	48.1

Reticulina oxidasa	62.8
Proteína 10 relacionada con la patogénesis (CA)	17.3
Alfa-xilosidasa	104.7
Glucano endo-1,3-beta glucosidasa	52.9
Pectina acetiltransferasa	44.4
Pectinesterasa	64.5
	63
	60.1
Proteína asociada al choque térmico	71.2
Proteína similar a la germina	21.6
Pin-II tipo inhibidor de proteinasas	28.7
	28.5
Miraculina	25.0
Defensina específica de flores	9.5
Proteína de transferencia de lípidos no específica	13.3
Probable carbohidrato esterasa	29.5
Beta-galactosidasa	92.5
Aspartil proteasa	52.4
Inhibidor de poligalacturonasa 1	36.7
Supuesta amidasa	54.2
Proteína de unión a auxina	22.0
Proteína foliar relacionada con la patogénesis	17.4
Proteasa secretora básica	25.3
Proteína relacionada con la desecación	37.8
Alpha-glucosidase	100.8
Proteína P21	25.1
Proteínas inhibidoras de la poligalacturonasa	29.8
Proteína de transferencia de lípidos no específica	15.5

Endoquitinasa	37.0
Endoquitinasa ácida	27.8
Carboxipeptidasa	57.1
Alfa-L-arabinofuranosidasa	74.0
Carboxipeptidasa	55.4
Globulina	46.8
L-ascorbato oxidasa	59.8
Ceramidasa neutra	85.7
Transcetolasa cloroplástica	80.9
Prolina	25.8
Superoxido dismutasa	28.2
Proteína relacionada a la maduración	28.8
Glicoproteína secretada específica de la epidermis	33.7
Inhibidor de la cisteína proteinasa	12.9
Ribulosa bisfosfato carboxilasa	20.5
Glucano-endo-1,3-beta-glucosidasa	37.9
Capsantina / capsorrubina sintasa	56.6
Hidroximetil clorofila A reductasa	52.9
Ribulosa bifosfato carboxilasa cadena grande	30.2
Fructosa-bisfosfato aldolasa	42.0
Ferredoxina-NADP reductasa	40.4
Histona H2A	12.5
Proteína fibrilina 1	35.2
Miembro de la familia 2 de aldehído deshidrogenasa B4, tipo mitocondrial	58.5
Isoforma X3 de pirofosfoquinasa tipo ribosa fosfato 4	40.9
Transcetolasa 1	80.1

Tomado de Mahajan *et al.* (2013); Wu *et al.* (2013); Jaswanthi *et al.* (2019).

Los efectos de auxina (ácido indolacético) y giberelinas (ácido giberélico) afectan procesos fisiológicos y moleculares similares. Algunas de las proteínas involucradas en la regulación de estas hormonas han sido reportadas en *Arabidopsis thaliana* y arroz (*Oryza sativa*). Muchas han sido analizadas y cuantificadas mediante 2D-GE (Tabla 23 y 24).

**Tabla 23.** Efectos de ácido indolacético exógeno sobre el proteoma de *Arabidopsis thaliana*.

Nombre de la proteína	Peso molecular (kDa)
TCP-1, proteína 1 del complejo T de chaperonina, subunidad teta	58.9
eEF-1B gamma 2, factor de alargamiento de la transcripción	46.4
TUA4 / TUBA4, cadena tubulina alfa-4	49.5
TUA4 / TUBA4, cadena tubulina alfa-2	49.5
ADK2, adenosina quinasa 2	37.8
rbcL, RuBisCO, subunidad grande	52.7
RHM1, biosíntesis de ramnosa 1	75.4
PGK1, fosfoglicerato quinasa 1	42.6
GAPC, gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa	36.9

Tomado de Slade *et al.*, 2012.

**Tabla 24.** Efectos de ácido giberélico exógeno sobre el proteoma de *Oryza sativa*.

Nombre de la proteína	Peso molecular (kDa)
Glutamil-tRNA reductasa	58.9
Enolasa	51.8
Precursor de isoforma pequeña RuBisCO activasa	39.8
Proteína similar a la isoflavona reductasa	33.4
Fosfoglucomutasa	63.1
Putativo GST (OsGST)	25.6
Fructoquinasa putativa II	35.5

Cisteína sintasa	33.9
Proteína similar a la isoflavona reductasa	33.5
Ascorbato peroxidasa	27.1
NDPK	16.8
Subunidad beta de piruvato deshidrogenasa E1	39.8
GSH-Dehidroascorbato reductasa dependiente	23.6
OsPR-10	17.0
b-Expansión	29.2
Fructoquinasa supuesta	34.7
VDAC	29.2
26S-subunidad reguladora de proteasa 4 homólogo	49.6
Caffeoyl -CoA 3-O- methyltransferase	27.8
S-adenosilmetionina sintetasa	43.2

---

Tomado de Kim *et al.*, 2008; Wen *et al.*, 2010.

### 3.8 Efecto de la aplicación exógena de fitohormonas en perfiles transcripcionales

Los resultados mostraron que la aplicación exógena de las auxinas interfiere significativamente en la acumulación de metabolitos secundarios involucrados en pigmentos, compuestos volátiles y pungencia.

La literatura señala que hay en los cambios en perfiles transcripcionales observados en tomate (*Solanum lycopersicum*), los cuales muestran que los niveles de expresión de muchos genes involucrados en el proceso de señalización de auxinas cambiaron significativamente durante el período de maduración, implicando su participación en el proceso de maduración (Kumar *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2011).

La investigación de Li y colaboradores (2017), señalan que se inhibe en la expresión de los principales genes SIPSY1 y SICRTISO de la vía del metabolismo de los carotenos en la etapa temprana de la maduración de la fruta, al igual que SIPDS1 y SIZDS, los cuales codifican dos desaturasas (fitoeno desaturasa y  $\beta$ -caroteno desaturasa, respectivamente), donde su expresión esta reprimida. La expresión de SIRIN y SICNR, dos factores de transcripción relacionados con la maduración se regulan negativamente. De forma contraria, los patrones de expresión de SILCY- $\beta$ , SIGLK2 se inducen mientras que SILCY- $\epsilon$  y SIGR no muestran



diferencias significativas y; los niveles de transcripción de SlARF4 y SlAP2a en las muestras tratadas con auxina fueron menores que en las muestras de control.

También se ha encontrado que los factores de transcripción clave relacionados con la maduración RIN, GR y CNR tienen efectos positivos sobre la degradación de la clorofila y la síntesis de  $\beta$ -caroteno, CLK2 induce la acumulación de clorofila en el fruto del tomate (Fujisawa *et al.*, 2013; Powell *et al.*, 2012).

Chen y colaboradores (2015) analizaron los cambios fisiológicos y transcriptómicos en frutos de fresa (*Fragaria ananassa*) cosechados en respuesta a auxinas, esta aplicación retrasó el proceso de maduración de las fresas después de la cosecha. A nivel molecular, la auxina exógena regulaba positivamente las expresiones de genes relacionados con la señalización de IAA, incluidos AUX / IAA, ARF, TOPLESS y genes que codifican la proteína ligasa de ubiquitina E3 y anexina, y genes regulados negativamente relacionados con la despolimerización de pectina, degradación de la pared celular, sacarosa y biosíntesis de antocianinas. En la fruta de fresa, la auxina suprime la expresión de los genes 9-cis-epoxycarotenoide dioxigenasa FaNCED1, FaNCED2 y FaCYP707A1 que participan en la biosíntesis del ácido abscísico (Ji *et al.* 2012). Su investigación reveló que solo había 153 genes que se transcribieron significativamente diferente en las frutas tratadas, entre ellos, 111 genes estaban regulados positivamente y 42 genes regulados negativamente. Dos genes de anexina que codifican putativamente (comp44021\_c0 y comp44021\_c1) aumentaron sustancialmente; el gen comp53054\_c0, que codifica para una supuesta proteína ligasa de ubiquitina E3, se regula negativamente mientras que otro gen similar a la ligasa de la proteína ubiquitina E3 (comp46194\_c0) se regula positivamente. De manera similar, los niveles de transcripción de tres supuestos genes de quinasas similares a receptores (comp51887\_c0, comp52501 y comp47297\_c0) disminuyeron mientras que la transcripción dos genes de quinasa similares a receptores putativos (comp51143\_c0, comp47443\_c0) aumentaron significativamente su expresión.

Otra clase de genes expresados significativamente tras el tratamiento con auxinas fueron los genes relacionados con proteínas de choque térmico. El gen comp43575 se inducción 3,9 veces más, este codifica una proteína de choque térmico similar a arg2. Arg2 es un gen de proteína de choque térmico inducido por IAA en hipocótilos de frijol mungo (*Vigna radiata*) (Yamamoto *et al.* 1992).

Los niveles de transcripción de algunos genes relacionados con la degradación de la pectina y de otros componentes de la pared celular asociados con el ablandamiento estaban significativamente elevados, aumentando la expresión de comp48185\_c0 y comp54649\_c0, los cuales codifican la supuesta xilosiltransferasa 1 (XT1) y xiloglucano endotransglucosilasa/hidrolasa (XTH), respectivamente.

Su investigación, también señala que los genes comp54082\_c0 y comp49931\_c0 que codifican proteínas que tienen actividad acetil-CoA-carboxilasa que cataliza la formación

dependiente de ATP de malonil-CoA a partir de acetyl-CoA y bicarbonato (Ohlrogge y Jaworski 1997), fueron reguladas significativamente a la baja. Sin embargo, el gen que codifica butirato-CoA sintasa fue regulada positivamente. La transcripción de un supuesto gen de la familia de la b-cetoacil-CoA sintasa (KAS) (comp55300\_c0) aumentó notablemente en 8,4 veces, que codifica una enzima que cataliza la síntesis de cadenas de acilo saturadas largas de ácido graso (Fofana *et al.* 2004). El gen similar al citocromo P450 86B1 (comp39724\_c0) que codifica la proteína que posee la actividad de la x-hidroxilasa de ácidos grasos asociada con la síntesis de suberina, se duplicó. La auxina exógena también disminuyó la transcripción del gen comp42246\_c0 que codifica la sacarosa sintasa cuya actividad aumentó con el aumento de la concentración de sacarosa durante la maduración de las fresas. Además, comp48366\_c0 que codifica fenilalanina amoniaco-liasa (PAL) se reguló negativamente bajo, el cual posee actividad de glicosiltransferasa 4 (FaGT4) (Given *et al.*, 1988a).

El glutatión S-transferasa (GST) participó en el metabolismo durante la senescencia de la fruta (Shi *et al.* 2014), hubo tres genes GST putativos (comp43212\_c0, comp38169\_c0, comp44552) incrementados (Shi *et al.* 2014).

La publicación de Liu y colaboradores (2018), mostraron que la expresión de los genes relacionados con el ciclo y la pared celular es modificada por tratamientos con ácido giberélico; el ciclo celular está regulado principalmente por dos clases c de reguladores, CDK y ciclinas; las ciclinas de tipo A, B y D regulan principalmente las fases S y G2/M8 (Inzé *et al.*, 2006) , y las CDK de tipo B se expresan específicamente en la fase G2 y M42 (Breyne *et al.*, 2002); su estudio concluyó que 33 genes, incluidas las CDK de tipo B, las ciclinas A, B, D y U y las ciclinas específicas de G2/mitóticas, están reguladas positivamente. La pared celular está compuesta por celulosa, hemicelulosa y pectina, además de proteínas que influyen en la expansión celular (Bashline *et al.*, 2014), la expansina A (EXPA) y B (EXPB) pertenecen a las familias  $\alpha$  y  $\beta$ -expansina, respectivamente, EXPB3-like y cinco EXPAs se regularon significativamente al alza en frutas partenocárpicas inducidas. Dos genes similares a endo-1,3; 1,4-beta-D-glucanasa tenían niveles de expresión disminuidos, mientras que cuatro genes de glucomanano 4-beta-manosiltransferasa tenían niveles de expresión significativamente aumentados en ovarios partenocárpicas y polinizados. Las enzimas xiloglucano endotransglucosilasa/hidrolasa (XTH) desempeñan un papel crucial en la promoción de la expansión celular mediante el desmontaje del xiloglucano, y la expresión de varios XTH se incrementó, con XTH8, XTH9, XTH31 y XTH32 significativamente regulados positivamente en ovarios partenocárpicas y ovarios. Los genes que codifican GA2ox que inactivan GA, el gen que codifica la proteína DELLA similar a GAI1 (LOC103943039) se regula negativamente.

En zanahorias (*Daucus carota*), la aplicación de GA disminuye los niveles de transcripción de genes que codifican GA20-oxidasa y GA3-oxidasa, pero aumenta los de genes que

codifican GA2-oxidasa. En las raíces, hay un incremento la expresión de DcKS, DcGA2ox1, DcGA2ox2 y DcGA2ox3 pero reducción los niveles de ARNm de DcKO, DcGA20ox1 y DcGA20ox2. En los pecíolos, la aplicación exógena de GA3 redujo los niveles de ARNm de DcKS, DcKO, DcKAO1, DcGA2ox1, DcGA2ox2 y DcGA2ox3 pero no alteró significativamente los niveles de expresión de DcGA20ox1, DcGA20ox2 y DcGA3ox1. En las hojas, hay un incremento en la expresión de DcGA2ox1, pero existe una reducción en la expresión de DcKS y DcGA20ox2. También, hay regulación negativa de DcGID1b y DcSLY1 y positiva de DcDELLA, DcSPY y DcSHI. En los pecíolos, solo reguló negativamente DcGID1c y DcPICKLE1 (Wang et al., 2015).

La reducción del tamaño de los frutos, el grosor del pericarpio y el tamaño de la placenta de ven afectadas por de SIPRE2, este gen es inducible por ácido giberélico y su expresión se ve afectada por la aplicación de las giberelinas Zhu et al., 2019).

## CONCLUSIONES

1. Aplicación exógena de auxinas (ácido indolacético) induce desarrollo de la planta, mayor número de botones, y fruto, mayor longitud y peso.
2. Aplicación exógena de giberelinas (ácido giberélico) induce desarrollo de la planta, mayor cantidad de hojas, longitud y diámetro del tallo, pero disminuye longitud y peso del fruto.
3. Aplicación exógena de auxinas o giberelinas no modifica el rendimiento de frutos por planta, con respecto al control.
4. Aplicación exógena de auxinas y giberelinas induce la formación de botones estériles.
5. El secado por convección elimina un porcentaje mayor de compuestos bioactivos presentes en el pericarpio y semillas en comparación con el secado por liofilización.
6. La aplicación exógena de ácido giberélico (giberelinas) induce mayor acumulación de fenoles y carotenos totales, que la aplicación de ácido indolacético (auxinas).
7. La combinación de ácido indolacético y giberélico incrementa la acumulación de capsaicinoides.
8. El fruto proveniente del tratamiento con la aplicación ácido giberélico presenta una mayor actividad antioxidante; alcanzando el  $IC_{50}$  y  $EC_{50}$  con una menor concentración.
9. La aplicación exógena de fitohormonas como ácido indolacético y giberélico modifica el perfil electroforético en botones florales de la planta *Capsicum annuum*.

## **PERSPECTIVAS**

1. Realizar un análisis 2D para identificar proteínas diferenciales en tejidos de plantas tratadas con fitohormonas.
2. Realizar extracción de ARN total a partir de tejidos de plantas crecidas en tratamientos diferentes, para retrotranscribir los ARN a ADNc usando transcriptasa reversa y así, evaluar la expresión mediante PCR en Tiempo real de los genes en tejidos de plantas crecidas bajo los diferentes tratamientos.
3. Analizar la expresión de los genes PUN1 (capsaicina sintasa) y PSY1 (fitoeno sintasa) involucrados en la pungencia y pigmentación, respectivamente, en botones florales y semillas de los diferentes tratamientos.
4. Analizar la expresión del gen *CaMF5*, involucrado en los procesos para producir polen fértil en las angiospermas, desarrollando botones fértiles, en botones florales de plantas tratadas con ambas fitohormonas, auxinas y giberelinas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abbasi, B. H., Ullah, M. A., Nadeem, M., Tungmunnithum, D., & Hano, C. (2020). Exogenous application of salicylic acid and gibberellic acid on biomass accumulation, antioxidant, and anti-inflammatory secondary metabolites production in multiple shoot culture of *Ajuga integrifolia* Buch. Ham. ex D. Don. *Industrial Crops and Products*, *145*, 112098.
- Adamowski, M., & Friml, J. (2015). PIN-dependent auxin transport: action, regulation, and evolution. *The Plant Cell*, *27*(1), 20-32.
- Agami, R. A., & Mohamed, G. F. (2013). Exogenous treatment with indole-3-acetic acid and salicylic acid alleviates cadmium toxicity in wheat seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *94*, 164-171.
- Aguilar, C. M., Melgarejo, L. M., & Romero, M. (2005). Fitohormonas. Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Biología, 39-62.
- Aguilar-Meléndez, A., Morrell, P. L., Roose, M. L., and Kim, S. C. (2009). Genetic diversity and structure in semiwild and domesticated chiles (*Capsicum annuum*; Solanaceae) from Mexico. *American Journal of Botany*, *96*: 1190-1202.
- Aleemullah, M., Haigh, A. M., & Holford, P. (2000). Anthesis, anther dehiscence, pistil receptivity and fruit development in the Longum group of *Capsicum annuum*. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, *40*(5), 755-762.
- Allen, D. K., Libourel, I. G., & Shachar-Hill, Y. A. I. R. (2009). Metabolic flux analysis in plants: coping with complexity. *Plant, cell & environment*, *32*(9), 1241-1257.
- Almonacid, D., Apte, Z., & Richman, J. (2017). Method and system for multiplex primer design. U.S. Patent Application No. 15/240,919.
- Alonso, R. A., Ponce, P., Quiroga, R., Rosales, M. A., Zuart, J. L., Moya, C., & Cabrera, A. (2008). Evaluación in situ de la variabilidad genética de los chiles silvestres (*Capsicum* spp.) en la región Frailesca del estado de Chiapas, México. *Cultivos Tropicales*, *29*(2), 49-55.
- Alrashdi, A. M., Al-Qurashi, A. D., Awad, M. A., Mohamed, S. A., & Al-rashdi, A. A. (2017). Quality, antioxidant compounds, antioxidant capacity and enzymes activity of 'El-Bayadi' table grapes at harvest as affected by preharvest salicylic acid and gibberellic acid spray. *Scientia Horticulturae*, *220*, 243-249.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology*, *215*(3), 403-410.
- Alvarez-Parrilla, E., de la Rosa, L. A., Amarowicz, R., & Shahidi, F. (2011). Antioxidant activity of fresh and processed Jalapeno and Serrano peppers. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, *59*(1), 163-173.
- Aluru, M. R., Mazourek, M., Landry, L. G., Curry, J., Jahn, M., & O'Connell, M. A. (2003). Differential expression of fatty acid synthase genes, Acl, Fat and Kas, in *Capsicum* fruit. *Journal of experimental botany*, *54*(388), 1655-1664.

Arimboor, R., Natarajan, R. B., Menon, K. R., Chandrasekhar, L. P., & Moorkoth, V. (2015). Red pepper (*Capsicum annuum*) carotenoids as a source of natural food colors: Analysis and stability. *Journal of Food Science and Technology*, 52(3), 1258–1271

Asnin, L., & Park, S. W. (2015). Isolation and analysis of bioactive compounds in Capsicum peppers. *Food Science and Nutrition*, 55(2), 254-289.

Aza-González, C., Núñez-Palenius, H. G., & Ochoa-Alejo, N. (2011). Molecular biology of capsaicinoid biosynthesis in chili pepper (*Capsicum* spp.). *Plant cell reports*, 30(5), 695-706.

Azevedo-Meleiro, C. H., & Rodriguez-Amaya, D. B. (2009). Qualitative and quantitative differences in the carotenoid composition of yellow and red peppers determined by HPLC-DAD-MS. *Journal of Separation Science*, 32(21), 3652–3658.

Bacon, K., Boyer, R., Denbow, C., O'Keefe, S., Neilson, A., & Williams, R. (2017). Antibacterial activity of jalapeño pepper (*Capsicum annuum* var. *annuum*) extract fractions against select foodborne pathogens. *Food Science & Nutrition*, 5(3), 730-738.

Baenas, N., Belović, M., Ilic, N., Moreno, D. A., & García-Viguera, C. (2018). Industrial use of pepper (*Capsicum annum* L.) derived products: technological benefits and biological advantages. *Food chemistry*, 274: 872-885.

Badia, A. D., Spina, A. A., & Vassalotti, G. (2017). Capsicum annuum L.: An Overview of Biological Activities and Potential Nutraceutical Properties in Humans and Animals. *Journal of Nutritional Ecology and Food Research*, 4(2), 167-177.

Baltazar, B. (1997). Diversidad genética del cultivo del chile (*Capsicum spp*) determinada por isoenzimas y RFLP's tipos: serrano, jalapeño, manzano y silvestres en su área de distribución. Colegio de Postgraduados. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. G026. México D. F

Baltazar, B. (1997). Diversidad genética del cultivo del chile (*Capsicum spp.*) determinada por isoenzimas y RFLPs tipos: serrano, jalapeño, manzano y silvestre en su área de distribución. *CONABIO proyecto*, (G026).

Barbero, G.F. (2014) Evolution of total and individual capsaicinoids in peppers during ripening of the Cayenne pepper plant (*C. annuum* L.). *Food Chemistry*. 153, 200–206.

Barbero, G. F., Palma, M., & Barroso, C. G. (2006). Determination of capsaicinoids in peppers by microwave-assisted extraction–high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta*, 578(2), 227-233.

- Barraclough, D., Obenland, D., Laing, W., & Carroll, T. (2004). A general method for two-dimensional protein electrophoresis of fruit samples. *Postharvest Biology and Technology*, 32(2), 175-181.
- Bashline, L., Lei, L., Li, S., & Gu, Y. (2014). Cell wall, cytoskeleton, and cell expansion in higher plants. *Molecular Plant*, 7(4), 586-600.
- Bashri, G., & Prasad, S. M. (2016). Exogenous IAA differentially affects growth, oxidative stress and antioxidants system in Cd stressed *Trigonella foenum-graecum* L. seedlings: Toxicity alleviation by up-regulation of ascorbate-glutathione cycle. *Ecotoxicology and environmental safety*, 132, 329-338.
- Bazan-Lugo, E., Garcia-Martinez, I., Alfaro-Rodriguez, R. H., & Totosaus, A. (2012). Color compensation in nitrite-reduced meat batters incorporating paprika or tomato paste. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(8), 1627–1632.
- Baenas, N., Belović, M., Ilic, N., Moreno, D. A., & García-Viguera, C. (2019). Industrial use of pepper (*Capsicum annum* L.) derived products: Technological benefits and biological advantages. *Food chemistry*, 274, 872-885.
- Ben-Arie, R., Saks, Y., Sonogo, L., & Frank, A. (1996). Cell wall metabolism in gibberellin-treated persimmon fruits. *Plant Growth Regulation*, 19(1), 25-33.
- Benzie, I., y Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Bernal, M.A. et al. (1993) Capsaicin oxidation by peroxidase from *Capsicum annum* (var. *annuum*) fruits. *J. Agric. Food Chem.* 41, 1041–1044.
- Bernstein, P. S., Li, B., Vachali, P. P., Gorusupudi, A., Shyam, R., Henriksen, B. S., & Nolan, J. M. (2016). Lutein, zeaxanthin, and meso-zeaxanthin: The basic and clinical science underlying carotenoid-based nutritional interventions against ocular disease. *Progress in retinal and eye research*, 50, 34-66.
- Binenbaum, J., Weinstain, R., & Shani, E. (2018). Gibberellin localization and transport in plants. *Trends in plant science*, 23: 410-421.
- Bobadilla-Larios, V., Esparza-Ibarra, E., Delgadillo-Ruiz, L., Gallegos-Flores, P., & Ayala-Lujan, J. L. (2017). Variedades de chile (*Capsicum annum* L.) identificadas mediante marcadores RAPD. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 20(3), 465-473.
- Bohn, T., Desmarchelier, C., Dragsted, L. O., Nielsen, C. S., Stahl, W., Rühl, R., ... Borel, P. (2017). Host-related factors explaining interindividual variability of carotenoid bioavailability and tissue concentrations in humans. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(6), 1600685.



- Bömke, C., & Tudzynski, B. (2009). Diversity, regulation, and evolution of the gibberellin biosynthetic pathway in fungi compared to plants and bacteria. *Phytochemistry*, 70(15-16), 1876-1893.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. y Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, 56(11), 317-333.
- Breyne, P., Dreesen, R., Vandepoele, K., De Veylder, L., Van Breusegem, F., Callewaert, L., ... & Inzé, D. (2002). Transcriptome analysis during cell division in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(23), 14825-14830.
- Brumos, J., Alonso, J. M., & Stepanova, A. N. (2014). Genetic aspects of auxin biosynthesis and its regulation. *Physiologia Plantarum*, 151(1), 3-12.
- Brumos, J., Robles, L. M., Yun, J., Vu, T. C., Jackson, S., Alonso, J. M., & Stepanova, A. N. (2018). Local auxin biosynthesis is a key regulator of plant development. *Developmental cell*, 47(3), 306-318.
- Byers, D. S. (1967). prehistory of the Tehuacan Valley. Austin, Published for the Robert S. Peabody Foundation, Phillips Academy, Andover [Mass., by the] University of Texas Press (1967-1975).
- Burke, J. M., Burger, J. C., & Chapman, M. A. (2007). Crop evolution: from genetics to genomics. *Genetics & development*, 17(6), 525-532.
- Campos, N., Jaramillo, M. E., Téllez, D. I. and Alamilla, L. 2018. Effect of traditional dehydration processing of pepper jalapeno rayado (*Capsicum annuum*) on secondary metabolites with antioxidant activity. *CyTA-Journal of Food*, 16(1), 316-324.
- Careaga, M., Fernandez, E., Dorantes, L., Mota, L., Jaramillo, M. E., & Hernandez-Sanchez, H. (2003). Antibacterial activity of *Capsicum* extract against *Salmonella typhimurium* and *Pseudomonas aeruginosa* inoculated in raw beef meat. *International Journal of Food Microbiology*, 83(3), 331-335.
- Carrizo García, C., Barfuss, M. H., Sehr, E. M., Barboza, G. E., Samuel, R., Moscone, E. A., & Ehrendorfer, F. (2016). Phylogenetic relationships, diversification and expansion of chili peppers (*Capsicum*, Solanaceae). *Annals of botany*, 118(1), 35-51.

Carvalho, V., de Andrade Mattietto, R., de Oliveira Rios, A., de Almeida Maciel, R., Moresco, K. S., & de Souza Oliveira, T. C. (2015). Bioactive compounds and antioxidant activity of pepper (*Capsicum* sp.) genotypes. *Journal of Food Science and Technology*, 52(11), 7457-7464.

Casanova, R., Voß, U. (2019). Auxin metabolism controls developmental decisions in land plants. *Trends in plant science*, 24(8), 741-754.

Castañón-Nájera, G., Latournerie-Moreno, L., Leshner-Gordillo, J. M., De la Cruz-Lázaro, E., & Mendoza-Elos, M. (2010). Identificación de variables para caracterizar morfológicamente colectas de chile (*Capsicum* spp.) en Tabasco, México. *Universidad y ciencia*, 26(3), 225-234.

Cervantes-Paz, B., Yahia, E. M., de Jesús Ornelas-Paz, J., Victoria-Campos, C. I., Ibarra-Junquera, V., Pérez-Martínez, J. D., & Escalante-Minakata, P. (2014). Antioxidant activity and content of chlorophylls and carotenoids in raw and heat-processed Jalapeño peppers at intermediate stages of ripening. *Food chemistry*, 146, 188-196.

Chen, J., Mao, L., Lu, W., Ying, T., & Luo, Z. (2016). Transcriptome profiling of postharvest strawberry fruit in response to exogenous auxin and abscisic acid. *Plant*, 243(1), 183-197.

Cheng, Y., Dai, X., & Zhao, Y. (2006). Auxin biosynthesis by the YUCCA flavin monooxygenases controls the formation of floral organs and vascular tissues in *Arabidopsis*. *Genes & development*, 20(13), 1790-1799.

Cheng, Y., Dai, X., & Zhao, Y. (2007). Auxin synthesized by the YUCCA flavin monooxygenases is essential for embryogenesis and leaf formation in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 19(8), 2430-2439.

Choi, I., Cha, H., y Lee, Y. (2014). Physicochemical and antioxidant properties of black garlic. *Molecules*, 19(10), 16811-16823.

Notimex, 2016. *Chihuahua es el primer productor de chile verde*. Recuperado el 25 de febrero del 2019 de <https://www.inforural.com.mx/chihuahua-primer-productor-chile-verde/>

Çolak, A. M. (2018). Effect of melatonin and gibberellic acid foliar application on the yield and quality of Jumbo blackberry species. *Saudi journal of biological sciences*, 25(6), 1242-1246.

Collins, M. D., Wasmund, L. M., & Bosland, P. W. (1995). Improved method for quantifying capsaicinoids in *Capsicum* using high-performance liquid chromatography. *HortScience*, 30(1), 137-139.

Creus, E. G. (2004). Compuestos fenólicos. *Offarm*, 23(6).

Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N. (2006). Phenols, polyphenols and tannins: an overview. *Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet*, 1.

Csilléry, G. (2006). Pepper taxonomy and the botanical description of the species. *Agronomica Hungarica*, 54(2), 151-166.

Curry, J., Aluru, M., Mendoza, M., Nevarez, J., Melendrez, M., & O'Connell, M. A. (1999). Transcripts for possible capsaicinoid biosynthetic genes are differentially accumulated in pungent and non-pungent *Capsicum* spp. *Plant Science*, 148(1), 47-57.

Curto, M., Camafeita, E., Lopez, J. A., Maldonado, A. M., Rubiales, D., & Jorrín, J. V. (2006). A proteomic approach to study pea (*Pisum sativum*) responses to powdery mildew (*Erysiphe pisi*). *Proteomics*, 6(S1), S163-S174.

Cutler, D. F., Botha, C. E. J., Stevenson, D. W., & William, D. (2008). *Plant anatomy: an applied approach* (No. QK641 C87). Oxford: Blackwell.

Daood, H. G., Kapitány, J., Biacs, P., & Albrecht, K. (2006). Drying temperature, endogenous antioxidants and capsaicinoids affect carotenoid stability in paprika (red pepper spice). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(14), 2450-2457.

Davey, M. W., Montagu, M. V., Inze, D., Sanmartin, M., Kanellis, A., Smirnoff, N., ... & Fletcher, J. (2000). Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 825-860.

Dayan, J., Voronin, N., Gong, F., Sun, T. P., Hedden, P., Fromm, H., & Aloni, R. (2012). Leaf-induced gibberellin signaling is essential for internode elongation, cambial activity, and fiber differentiation in tobacco stems. *The Plant Cell*, 24(1), 66-79.

Deal, C. L., Schnitzer, T. J., Lipstein, E., Seibold, J. R., Stevens, R. M., Levy, M. D., & Renold, F. (1991). Treatment of arthritis with topical capsaicin: a double-blind trial. *Clinical therapeutics*, 13(3), 383-395.

Deepa, N., Kaur, C., George, B., Singh, B., & Kapoor, H. C. (2007). Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annum L.*) genotypes during maturity. *Food Science and Technology*, 40(1), 121-129.

Dewitt, D. (Segunda edición) (2018). *Jalapeños*. (segunda edición, pp. 08-24). Editorial Terra Nova Books.

Deli, J., Molnár, P., Matus, Z., & Tóth, G. (2001). Carotenoid composition in the fruits of red paprika (*Capsicum annum* var. *lycopersiciforme rubrum*) during ripening; biosynthesis of carotenoids in red paprika. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(3), 1517-1523.

Diaz, A. L. B., Sergio, C. S. A., Santos, P., Barbero, G. F., Rezende, C. A., & Martínez, J. (2016). Effect of ultrasound on the supercritical CO<sub>2</sub> extraction of bioactive compounds from dedo de moça pepper (*Capsicum baccatum L.* var. *pendulum*). *Ultrasonics sonochemistry*, 31, 284-294

Díaz, J. et al. (2004) Peroxidases and the metabolism of capsaicin in *Capsicum annum L.* *Phytochemistry*. Rev. 3, 141-157.

Dubey, M., Jaiswal, V., Rawoof, A., Kumar, A., Nitin, M., Chhapekar, S. S., ... & Ramchiary, N. (2019). Identification of genes involved in fruit development/ripening in Capsicum and development of functional markers. *Genomics*, *111*(6), 1913-1922.

EFSA (2015). Re-evaluation of paprika extract (E 160c) as a food additive. *EFSA Journal*, *13*(12), 4320.

Eggersdorfer, M., & Wyss, A. (2018). Carotenoids in human nutrition and health. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *652*, 18–26.

Eisenreich, W., Rohdich, F., & Bacher, A. (2001). Deoxyxylulose phosphate pathway to terpenoids. *Trends in plant science*, *6*(2), 78-84.

Elliott, R. (2005). Mechanisms of genomic and non-genomic actions of carotenoids. *Biophysica Acta*, *1740*, 147–154.

Eriksson, S., Böhlenius, H., Moritz, T., & Nilsson, O. (2006). GA4 is the active gibberellin in the regulation of LEAFY transcription and Arabidopsis floral initiation. *The Plant Cell*, *18*(9), 2172-2181.

Erogul, D., & Sen, F. (2015). Effects of gibberellic acid treatments on fruit thinning and fruit quality in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). *Scientia horticulturae*, *186*, 137-142.

Eshbaugh, W. H. (1993). Peppers: history and exploitation of a serendipitous new crop discovery. *New crops*.

Eshbaugh, W. H. (2012). The taxonomy of the genus *Capsicum*. *Peppers: Botany, production and uses*, 14.

Falcone Ferreyra, M. L., Rius, S., & Casati, P. (2012). Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in plant science*, *3*, 222.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). FAO Statistical Programme of Work. (2018). Recuperado el 30 de junio del 2020 de <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>

Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I., Jarén-Galán, M., Garrido-Fernández, J., Pérez-Gálvez, A., & Hornero-Méndez, D. (2012). Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. *Food Research International*, *46*(2), 438–450.

Ferruzzi, M. G., & Blakeslee, J. (2007). Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Nutrition Research*, *27*, 1–12.

Fiedor, J., & Burda, K. (2014). Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients*, *6*(2), 466–488.

Fofana, B., Duguid, S., & Cloutier, S. (2004). Cloning of fatty acid biosynthetic genes  $\beta$ -ketoacyl CoA synthase, fatty acid elongase, stearyl-ACP desaturase, and fatty acid desaturase and analysis

of expression in the early developmental stages of flax (*Linum usitatissimum* L.) seeds. *Plant science*, 166(6), 1487-1496.

Fujisawa, M., Nakano, T., Shima, Y., & Ito, Y. (2013). A large-scale identification of direct targets of the tomato MADS box transcription factor RIPENING INHIBITOR reveals the regulation of fruit ripening. *The Plant Cell*, 25(2), 371-386.

Fox, A. J., Del Pozo-Insfran, D., Lee, J. H., Sargent, S. A., & Talcott, S. T. (2005). Ripening-induced chemical and antioxidant changes in bell peppers as affected by harvest maturity and postharvest ethylene exposure. *HortScience*, 40, 732-736.

Garcia-Hernandez, M., Berardini, T., Chen, G., Crist, D., Doyle, A., Huala, E., & Mundodi, S. (2002). TAIR: a resource for integrated Arabidopsis data. *Functional & integrative genomics*, 2(6), 239-253.

Giannakoula, A. E., Ilias, I. F., Maksimović, J. J. D., Maksimović, V. M., & Živanović, B. D. (2012). The effects of plant growth regulators on growth, yield, and phenolic profile of lentil plants. *Journal of Food Composition and Analysis*, 28(1), 46-53.

Given, N. K., Venis, M. A., & Grierson, D. (1988). Phenylalanine ammonia-lyase activity and anthocyanin synthesis in ripening strawberry fruit. *Journal of Plant Physiology*, 133(1), 25-30.

Graeber, K. A. I., Nakabayashi, K., Miatton, E., Leubner-Metzger, G. E. R. H. A. R. D., & Soppe, W. J. (2012). Molecular mechanisms of seed dormancy. *Plant, cell & environment*, 35(10), 1769-1786.

Görg, A., Obermaier, C., Boguth, G., Harder, A., Scheibe, B., Wildgruber, R., & Weiss, W. (2000). The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients. *Electrophoresis: An International Journal*, 21(6), 1037-1053.

Guil-Guerrero, J. L., Martínez-Guirado, C., del Mar Reboloso-Fuentes, M., & Carrique-Pérez, A. (2006). Nutrient composition and antioxidant activity of 10 pepper (*Capsicum annuum*) varieties. *European Food Research and Technology*, 224(1), 1-9.

Gupta, V. N., Datta, S. K., & Banerji, B. K. (2001). Influence of Gibberellic Acid (GA-3) on Growth and Flowering in Chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium*, *Ramat*) cv. Jayanti. *NISCAIR-CSIR*, 09(02), 77-79.

Ha, S. H., Kim, J. B., Park, J. S., Lee, S. W., & Cho, K. J. (2007). A comparison of the carotenoid accumulation in *Capsicum* varieties that show different ripening colours: Deletion of the capsanthin-capsorubin synthase gene is not a prerequisite for the formation of a yellow pepper. *Journal of Experimental Botany*, 58(12), 3135-3144.

Halikowski-Smith, S. (2015). In the shadow of a pepper-centric historiography: Understanding the global diffusion of Capsicums in the sixteenth and seventeenth centuries. *Journal of Ethnopharmacology*, 167, 64–77.

Hallmann, E., & Rembiałkowska, E. (2012). Characterisation of antioxidant compounds in sweet bell pepper (*Capsicum annuum* L.) under organic and conventional growing systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(12), 2409-2415.

Harlan, J. R., Gepts, P., Famula, T. R., & Bettinger, R. L. (Eds.). (2012). Biodiversity in agriculture: domestication, evolution, and sustainability. Cambridge University Press. (pp. 160-190).

Hedden, P. (2003). The genes of the Green Revolution. *TRENDS in Genetics*, 19(1), 5-9.

Hedden, P., & Sponsel, V. (2015). A century of gibberellin research. *Journal of plant growth regulation*, 34(4), 740-760.

Hernández, S. M. (2010). Recopilación y análisis de la información existente de las especies del género *Capsicum* que crecen y se cultivan en México. Campo experimental Bajío, INIFAP, 86.

Hidalgo, G. I., & Almajano, M. P. (2017). Red fruits: extraction of antioxidants, phenolic content, and radical scavenging determination: a review. *Antioxidants*, 6(1), 7.

Hiltbold, I., & Turlings, T. C. (2012). Manipulation of chemically mediated interactions in agricultural soils to enhance the control of crop pests and to improve crop yield. *Journal of Chemical Ecology*, 38(6), 641-650.

Hirschberg, J. (2001). Carotenoid biosynthesis in flowering plants. *Current opinion in plant biology*, 4(3), 210-218.

Holdsworth, M. J., Bentsink, L., & Soppe, W. J. (2008). Molecular networks regulating Arabidopsis seed maturation, after-ripening, dormancy and germination. *New Phytologist*, 179(1), 33-54.

Hopping, M. E. (1976). Effect of exogenous auxins, gibberellins, and cytokinins on fruit development in Chinese gooseberry (*Actinidia chinensis* Planch.). *New Zealand journal of botany*, 14(1), 69-75.

Howard, L. R., Talcott, S. T., Brenes, C. H., & Villalon, B. (2000). Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1713-1720.

Howard, L. R., Pandjaitan, N., Morelock, T., & Gil, M. I. (2002). Antioxidant capacity and phenolic content of spinach as affected by genetics and growing season. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(21), 5891-5896.

- Hu, J., Mitchum, M. G., Barnaby, N., Ayele, B. T., Ogawa, M., Nam, E., & Swain, S. M. (2008). Potential sites of bioactive gibberellin production during reproductive growth in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 20(2), 320-336.
- Hussein, A., Odumeru, J. A., Ayanbadejo, T., Faulkner, H., McNab, W. B., Hager, H., & Szijarto, L. (2000). Effects of processing and packaging on vitamin C and  $\beta$ -carotene content of ready-to-use (RTU) vegetables. *Food Research International*, 33(2), 131-136.
- Hwang, S. W., Cho, H., Kwak, J., Lee, S. Y., Kang, C. J., Jung, J., ... & Oh, U. (2000). Direct activation of capsaicin receptors by products of lipoxygenases: endogenous capsaicin-like substances. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(11), 6155-6160.
- Inzé, D., & De Veylder, L. (2006). Cell cycle regulation in plant development. *Annu. Rev. Genet.*, 40, 77-105.
- Jaswanthi, N., Krishna, M. S. R., Sahitya, U. L., & Suneetha, P. (2019). Apoplast proteomic analysis reveals drought stress-responsive protein datasets in chilli (*Capsicum annuum* L.). *Data in brief*, 25, 104041.
- Jayaprakasha, G. K., Bae, H., Crosby, K., Jifon, J. L., & Patil, B. S. (2012). Bioactive compounds in peppers and their antioxidant potential. 1109 *Hispanic foods: Chemistry and bioactive compounds* (pp. 43–56). American Chemical Society.
- Jeon, G., Choi, Y., LEE, S. M., Kim, Y., Oh, M., JEONG, H. S., & Lee, J. (2012). Antioxidant and antiproliferative properties of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds. *Journal of Food Biochemistry*, 36(5), 595-603.
- Jeong, W. Y., Jin, J. S., Cho, Y. A., Lee, J. H., Park, S., Jeong, S. W., ... & Lee, S. J. (2011). Determination of polyphenols in three *Capsicum annuum* L. (bell pepper) varieties using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Their contribution to overall antioxidant and anticancer activity. *Journal of separation Science*, 34(21), 2967-2974.
- Jessie, K., Hashim, O. H., & Rahim, Z. H. A. (2008). Protein precipitation method for salivary proteins and rehydration buffer for two-dimensional electrophoresis. *Biotechnology*, 7(4), 686-693.
- Ji, K., Chen, P., Sun, L., Wang, Y., Dai, S., Li, Q., ... & Leng, P. (2012). Non-climacteric ripening in strawberry fruit is linked to ABA, FaNCED2 and FaCYP707A1. *Functional Plant Biology*, 39(4), 351-357.
- Jørgensen, K., Rasmussen, A. V., Morant, M., Nielsen, A. H., Bjarnholt, N., Zagrobelny, M., & Møller, B. L. (2005). Metabolon formation and metabolic channeling in the biosynthesis of plant natural products. *Current opinion in plant biology*, 8(3), 280-291
- Kamiya, Y. (2010). Plant hormones: versatile regulators of plant growth and development. (Pp. 230-245).

- Kang, B. C., & Kole, C. (Eds.). (2013). *Genetics, Genomics and Breeding of Peppers and Eggplants*. CRC Press. (Pp. 02-72).
- Kandlakunta, B., Rajendran, A., & Thingnganing, L. (2008). Carotene content of some common (cereals, pulses, vegetables, spices and condiments) and unconventional sources of plant origin. *Food Chemistry*, 106(1), 85-89.
- Kaneko, M., Itoh, H., Inukai, Y., Sakamoto, T., Ueguchi-Tanaka, M., Ashikari, M., & Matsuoka, M. (2003). Where do gibberellin biosynthesis and gibberellin signaling occur in rice plants?. *The Plant Journal*, 35(1), 104-115.
- Kantar, M. B., Anderson, J. E., Lucht, S. A., Mercer, K., Bernau, V., Case, K. A., Baumler, D. J. (2016). Vitamin variation in *Capsicum* Spp. provides opportunities to improve nutritional value of human diets. *PLoS One*, 11(8), e0161464.
- Kazan, K. (2013). Auxin and the integration of environmental signals into plant root development. *Annals of botany*, 112(9), 1655-1665.
- Keyhaninejad, N., Curry, J., Romero, J., & O'Connell, M. A. (2014). Fruit specific variability in capsaicinoid accumulation and transcription of structural and regulatory genes in *Capsicum* fruit. *Plant Science*, 215, 59-68.
- Khan, H., Siddique, I., Anis, M., & Khan, P. R. (2011). In vitro organogenesis from internode derived callus cultures of *Capsicum annuum* L. *Journal of plant biochemistry and biotechnology*, 20(1), 84-89.
- Khan, M. Y., Prakash, V., Yadav, V., Chauhan, D. K., Prasad, S. M., Ramawat, N., ... & Sharma, S. (2019). Regulation of cadmium toxicity in roots of tomato by indole acetic acid with special emphasis on reactive oxygen species production and their scavenging. *Plant Physiology and Biochemistry*, 142, 193-201.
- Khanam, U. K. S., Oba, S., Yanase, E., & Murakami, Y. (2012). Phenolic acids, flavonoids and total antioxidant capacity of selected leafy vegetables. *Journal of Functional Foods*, 4(4), 979-987.
- Kim, S. et al. (2014) Genome sequence of the hot pepper provides insights into the evolution of pungency in *Capsicum* species. *Nat. Genet.* 46, 270–278.
- Kim, S. T., Kang, S. Y., Wang, Y., Kim, S. G., Hwang, D. H., & Kang, K. Y. (2008). Analysis of embryonic proteome modulation by GA and ABA from germinating rice seeds. *Proteomics*, 8(17), 3577-3587.
- Kim, Y.-S., & Oh, D.-K. (2009). Substrate specificity of a recombinant chicken  $\beta$ -carotene 15,15'-monooxygenase that converts  $\beta$ -carotene into retinal. *Biotechnology Letters*, 31(3), 403–408.
- Kliebenstein, D. J. (2013). Making new molecules evolution of structures for novel metabolites in plants. *Plant biology*, 16(1), 112-117



- Kobata, K., Sugawara, M., Mimura, M., Yazawa, S., & Watanabe, T. (2013). Potent production of capsaicinoids and capsinoids by capsicum peppers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 11127–11132.
- Kohli, A., Onate, J., Miro, B., y Raorane, M. (2012). Root proteases: reinforced links between nitrogen uptake and mobilization and drought tolerance. *Physiol Plant* 145, 165–179.
- Kraft, K. H., Brown, C. H., Nabhan, G. P., Luedeling, E., Ruiz, J. D. J. L., d'Eeckenbrugge, G. C., ... & Gepts, P. (2014). Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annum*, in Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(17), 6165-6170.
- Krishna, A., (2003). *Capsicum: The genus Capsicum*, Londres, Inglaterra: Taylor& Francis group. (Pp. 01-09).
- Kumar, A. (2015). Impact of Agroclimatic Factors on Plant Secondary Metabolites and their Accumulation in Medicinal Plants: A commercial approach. *TTPP*, 233.
- Kumar, R., Tyagi, A. K., & Sharma, A. K. (2011). Genome-wide analysis of auxin response factor (ARF) gene family from tomato and analysis of their role in flower and fruit development, *Molecular Genetics and Genomics*, 285(3), 245-260.
- Kuromori, T., Miyaji, T., Yabuuchi, H., Shimizu, H., Sugimoto, E., Kamiya, A., & Shinozaki, K. (2010). ABC transporter AtABCG25 is involved in abscisic acid transport and responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(5), 2361-2366.
- Kutchan, T. M. (2005). A role for intra-and intercellular translocation in natural product biosynthesis. *Current opinion in plant biology*, 8(3), 292-300.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685.
- Lange, M. J. P., & Lange, T. (2016). Ovary-derived precursor gibberellin A9 is essential for female flower development in cucumber. *Development*, 143(23), 4425-4429.
- Lee, Y., Howard, L. R., & Villalon, B. (1995). Flavonoids and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annum*) cultivars. *Journal of Food Science*, 60(3), 473-476.
- Li, J., Khan, Z. U., Tao, X., Mao, L., Luo, Z., & Ying, T. (2017). Effects of exogenous auxin on pigments and primary metabolite profile of postharvest tomato fruit during ripening. *Scientia Horticulturae*, 219, 90-97.
- Lichtenthaler, H. K., Rohmer, M., & Schwender, J. (1997). Two independent biochemical pathways for isopentenyl diphosphate and isoprenoid biosynthesis in higher plants. *Physiologia plantarum*, 101(3), 643-652.

- Little, C. H. A., & MacDonald, J. E. (2003). Effects of exogenous gibberellin and auxin on shoot elongation and vegetative bud development in seedlings of *Pinus sylvestris* and *Picea glauca*. *Tree physiology*, 23(2), 73-83.
- Liu, A., & Burke, J. M. (2006). Patterns of nucleotide diversity in wild and cultivated sunflower. *Genetics*, 173(1), 321-330.
- Liu, D. J., Chen, J. Y., & Lu, W. J. (2011). Expression and regulation of the early auxin-responsive Aux/IAA genes during strawberry fruit development. *Molecular biology reports*, 38(2), 1187-1193.
- Liu, L., Wang, Z., Liu, J., Liu, F., Zhai, R., Zhu, C., ... & Xu, L. (2018). Histological, hormonal and transcriptomic reveal the changes upon gibberellin-induced parthenocarpy in pear fruit. *Horticulture research*, 5(1), 1-13.
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. *Methods*. 25(4), 402-408.
- Long, J. (2009). Los senderos prehispánicos del Capsicum. Long J, León A (coords.), *Caminos y Mercados de México. Serie Histórica General*, 23, 79-105.
- Lopez-Hernandez, J., Oruna-Concha, J., Simal-Lozano, J., Gonzales-Castro, M. J., & Vasquez-Blanco, M. E. (1996). Determination of capsaicin and dihydrocapsaicin in cayenne pepper and padron peppers by HPLC. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 92(12), 393-395.
- Ludy, M.-J., Moore, G. E., & Mattes, R. D. (2012). The effects of capsaicin and capsiate on energy balance: Critical review and meta-analyses of studies in humans. *Chemical Senses*, 37(2), 103-121.
- Ma, X., Wu, H., Liu, L., Yao, Q., Wang, S., Zhan, R., ... & Zhou, Y. (2011). Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. *Scientia Horticulturae*, 129(1), 102-107.
- Magome, H., Nomura, T., Hanada, A., Takeda-Kamiya, N., Ohnishi, T., Shinma, Y., ... & Yamaguchi, S. (2013). CYP714B1 and CYP714B2 encode gibberellin 13-oxidases that reduce gibberellin activity in rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(5), 1947-1952.
- Mahajan, N. S., Mishra, M., Tamhane, V. A., Gupta, V. S., & Giri, A. P. (2014). Stress inducible proteomic changes in *Capsicum annuum* leaves. *Plant physiology and biochemistry*, 74, 212-217.
- Maksimova, V., Gudeva, L. K., Gulaboski, R., & Nieber, K. (2016). Co-extracted bioactive compounds in *Capsicum* fruit extracts prevent the cytotoxic effects of capsaicin on B104 neuroblastoma cells. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26(6), 744-750.
- Maldonado, A. M., Echevarría-Zomeño, S., Jean-Baptiste, S., Hernández, M., & Jorrín-Novo, J. V. (2008). Evaluation of three different protocols of protein extraction for *Arabidopsis thaliana*

leaf proteome analysis by two-dimensional electrophoresis. *Journal of proteomics*, 71(4), 461-472.

Mansouri, H., & Talebizadeh, B. (2016). Effect of gibberellic acid on the cyanobacterium *Nostoc linckia*. *Journal of applied phycology*, 28(4), 2187-2193.

Marín, A., Ferreres, F., Tomás-Barberán, F. A., & Gil, M. I. (2004). Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(12), 3861-3869.

Martinez, G.A., Chaves, A.R., Anon, M.C., 1994. Effect of gibberellic acid on ripening of strawberry fruits (*Fragaria annanassa* Duch.). *J. Plant Growth*.

Martínez, S., López, M., González-Raurich, M., & Bernardo-Alvarez, A. (2005). The effects of ripening stage and processing systems on vitamin C content in sweet peppers (*Capsicum annuum* L.). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 56(1), 45–51.

Martínez-Sánchez, D., Pérez-Grajales, M., Rodríguez-Pérez, J. E., & Moreno Pérez, E. D. C. (2010). Colecta y caracterización morfológica de 'chile de agua' (*Capsicum annuum* L.) en Oaxaca, México. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 16(3), 169-176.

Masahiro N, Masahiro K, Minemitsu N, Akio K, Yoshimi N (2005). Non-reductive Scavenging of 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) by Peroxyradical: A Useful Method for Quantitative Analysis of Peroxyradical. *Chem Pharm Bull* 53(6):714–716

Materska, M., & Perucka, I. (2005). Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1750–1756.

Materska, M., Piacente, S., Stochmal, A., Pizza, C., Oleszek, W., & Perucka, I. (2003). Isolation and structure elucidation of flavonoid and phenolic acid glycosides from pericarp of hot pepper fruit *Capsicum annuum* L. *Phytochemistry*, 63(8), 893-898.

Mazourek, M. et al. (2009) A dynamic interface for capsaicinoid systems biology. *Plant Physiol.* 150, 1806–1821.

Meckelmann, S. W., Riegel, D. W., van Zonneveld, M., Ríos, L., Peña, K., Mueller-Seitz, E., & Petz, M. (2015). Capsaicinoids, flavonoids, tocopherols, antioxidant capacity and color attributes in 23 native Peruvian chili peppers (*Capsicum* spp.) grown in three different locations. *European Food Research and Technology*, 240(2), 273-283.

Minatel, I. O., Borges, C. V., Ferreira, M. I., Gomez, H. A. G., Chen, C. Y. O., & Lima, G. P. P. (2017). Phenolic compounds: Functional properties, impact of processing and bioavailability. *Phenolic Compounds Biological Activity*. Ed. InTech. Rijeka, Croatia, 1-24.

Minguez-Mosquera, M. I., & Hornero-Mendez, D. (1993). Separation and quantification of the carotenoid pigments in red peppers (*Capsicum annuum* L.), paprika, and oleoresin by reversed-phase HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(10), 1616-1620.

Minguez-Mosquera, M. I., & Hornero-Mendez, D. (1994). Comparative study of the effect of paprika processing on the carotenoids in peppers (*Capsicum annuum*) of the Bola and Agridulce varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(7), 1555-1560.

Mitchum, M. G., Yamaguchi, S., Hanada, A., Kuwahara, A., Yoshioka, Y., Kato, T., ... & Sun, T. P. (2006). Distinct and overlapping roles of two gibberellin 3-oxidases in *Arabidopsis* development. *The Plant Journal*, 45(5), 804-818.

Mokhtar, M., Soukup, J., Donato, P., Cacciola, F., Dugo, P., Riazi, A., ... & Mondello, L. (2015). Determination of the polyphenolic content of a *Capsicum annuum* L. extract by liquid chromatography coupled to photodiode array and mass spectrometry detection and evaluation of its biological activity. *Journal of separation science*, 38(2), 171-178.

Moreno, J., & Peinado, R. (2012). *Enological chemistry*. Academic Press, pp. 53- 74.

Morré, D. J., & Morré, D. M. (2003). Synergistic *Capsicum*-tea mixtures with anticancer activity. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 55(7), 987-994.

Moscone, E. A., Scaldaferrò, M. A., Grabielle, M., Cecchini, N. M., Sánchez García, Y., Jarret, R., ... & Ehrendorfer, F. (2006, July). The evolution of chili peppers (*Capsicum*-Solanaceae): a cytogenetic perspective. In VI International Solanaceae Conference: Genomics Meets Biodiversity 745 (pp. 137-170).

Mudric, S. Z., Gasic, U. M., Dramicanin, A. M., Ciric, I. Z., Milojkovi-Opsenica, D. M., Popovic-Dordevic, J. B., ... Tesic, Z. L. (2017). The polyphenolics and carbohydrates as indicators of botanical and geographical origin of Serbian autochthonous clones of red spice paprika. *Food Chemistry*, 217, 705–715.

Nagel, R., Turrini, P. C., Nett, R. S., Leach, J. E., Verdier, V., Van Sluys, M. A., & Peters, R. J. (2017). An operon for production of bioactive gibberellin A4 phytohormone with wide distribution in the bacterial rice leaf streak pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*. *New Phytologist*, 214(3), 1260-1266.

Nagy, Z., Daood, H., Ambrózy, Z., & Helyes, L. (2015). Determination of polyphenols, capsaicinoids, and vitamin C in new hybrids of chili peppers. *Journal of analytical methods in chemistry*.

Naresh, P., Lin, S. W., Lin, C. Y., Wang, Y. W., Schafleitner, R., Kilian, A., & Kumar, S. (2018). Molecular markers associated to two non-allelic genic male sterility genes in peppers (*Capsicum annuum* L.). *Frontiers in plant science*, 9, 1343.

Nascimento, P. L., Nascimento, T. C., Ramos, N. S., Silva, G. R., Gomes, J. E. G., Falcão, R. E., & Silva, T. (2014). Quantification, antioxidant and antimicrobial activity of phenolics isolated from different extracts of *Capsicum frutescens* (Pimenta Malagueta). *Molecules*, 19(4), 5434-5447.

- Navarro, J. M., Flores, P., Garrido, C., & Martinez, V. (2006). Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. *Food Chemistry*, 96(1), 66–73.
- Naves, E. R., de Ávila Silva, L., Sulpice, R., Araújo, W. L., Nunes-Nesi, A., Peres, L. E., & Zsögön, A. (2019). Capsaicinoids: pungency beyond Capsicum. *Trends in plant science*, 24(2), 109-120.
- Ncube, B., Finnie, J. F., & Van Staden, J. (2012). Quality from the field: the impact of environmental factors as quality determinants in medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 82, 11-20.
- Norris, S. R., Barrette, T. R., & DellaPenna, D. (1995). Genetic dissection of carotenoid synthesis in arabidopsis defines plastoquinone as an essential component of phytoene desaturation. *The Plant Cell*, 7(12), 2139-2149.
- Nunez-Ramirez, F., González-Mendoza, D., Grimaldo-Juárez & Díaz, L. C. (2011). Nitrogen fertilization effect on antioxidants compounds in fruits of habanero chili pepper (*Capsicum chinense*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 13(5), 827-830.
- Ogawa, K., Murota, K., Shimura, H., Furuya, M., Togawa, Y., Matsumura, T., & Masuta, C. (2015). Evidence of capsaicin synthase activity of the Pun1-encoded protein and its role as a determinant of capsaicinoid accumulation in pepper. *BMC plant biology*, 15(1), 93.
- Ohnuki, K., Haramizu, S., Oki, K., Watanabe, T., Yazawa, S., & Fushiki, T. (2001). Administration of capsiate, a non-pungent capsaicin analog, promotes energy metabolism and suppresses body fat accumulation in mice. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 65(12), 2735–2740.
- Ornelas-Paz, J., Cira-Chávez, L. A., Gardea-Béjar, A. A., Guevara-Arauza, J. C., Sepúlveda, D. R., Reyes-Hernández, J., & Ruiz-Cruz, S. (2013). Effect of heat treatment on the content of some bioactive compounds and free radical-scavenging activity in pungent and non-pungent peppers. *Food Research International*, 50(2), 519-525.
- Ozkan, Y., Ucar, M., Yildiz, K., & Ozturk, B. (2016). Pre-harvest gibberellic acid (GA 3 ) treatments play an important role on bioactive compounds and fruit quality of sweet cherry cultivars. *Scientia Horticulturae*, 211, 358–362.
- Olivares-Tenorio, M. L., Dekker, M., Verkerk, R., & van Boekel, M. A. (2016). Health-promoting compounds in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.): Review from a supply chain perspective. *Trends in Food Science & Technology*, 57, 83-92.
- Othman, Z. A. A., Ahmed, Y. B. H., Habila, M. A., & Ghafar, A. A. (2011). Determination of capsaicin and dihydrocapsaicin in *Capsicum* fruit samples using high performance liquid chromatography. *Molecules*, 16(10), 8919-8929.

- Olszewska, M. A., & Michel, P. (2009). Antioxidant activity of inflorescences, leaves and fruits of three Sorbus species in relation to their polyphenolic composition. *Natural Product Research*, 23(16), 1507-1521.
- Ouzounidou, G., & Ilias, I. (2005). Hormone-induced protection of sunflower photosynthetic apparatus against copper toxicity. *Biologia Plantarum*, 49(2), 223.
- Padilha, H. K. M., Pereira, E. D. S., Munhoz, P. C., Vizzotto, M., Valgas, R. A., & Barbieri, R. L. (2015). Genetic variability for synthesis of bioactive compounds in peppers (*Capsicum annuum*) from Brazil. *Food Science and Technology*, 35, 516–523.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270–278.
- Pandjaitan, N., Howard, L. R., Morelock, T., & Gil, M. I. (2005). Antioxidant capacity and phenolic content of spinach as affected by genetics and maturation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(22), 8618-8623.
- Pasternak, T., Potters, G., Caubergs, R., & Jansen, M. A. (2005). Complementary interactions between oxidative stress and auxins control plant growth responses at plant, organ, and cellular level. *Journal of Experimental Botany*, 56(418), 1991-2001.
- Pérez-López, A. J., López-Nicolas, J. M., Núñez-Delicado, E., Amor, F. M. D., & Carbonell-Barrachina, Á. A. (2007). Effects of agricultural practices on color, carotenoids composition, and minerals contents of sweet peppers, cv. almuden. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(20), 8158–8164.
- Perry, L., Dickau, R., Zarrillo, S., Holst, I., Pearsall, D. M., Piperno, D. R., ... & Raymond, J. S. (2007). Starch fossils and the domestication and dispersal of chili peppers (*Capsicum* spp. L.) in the Americas. *science*, 315(5814), 986-988.
- Perucka, I., & Materska, M. (2001). Phenylalanine ammonia-lyase and antioxidant activities of lipophilic fraction of fresh pepper fruits *Capsicum annuum* L. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2(3), 189–192.
- Pesaresi, P., Mizzotti, C., Colombo, M., & Masiero, S. (2014). Genetic regulation and structural changes during tomato fruit development and ripening. *Frontiers in Plant Science*, 5, 124.
- Petkovsek, M. M., Stampar, F., & Veberic, R. (2007). Parameters of inner quality of the apple scab resistant and susceptible apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.). *Scientia Horticulturae*, 114(1), 37-44.
- Piano, D., Cocco, E., Guadalupi, G., Kalaji, H. M., Kirkpatrick, J., & Farci, D. (2019). Characterization under quasi-native conditions of the capsanthin/capsorubin synthase from *Capsicum annuum* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, 143, 165-175.

Pickersgill, Barbara. "Domestication of plants in the Americas: insights from Mendelian and molecular genetics." *Annals of botany* 100.5 (2007): 925-940.

Piotrowska-Niczyporuk, A., & Bajguz, A. (2014). The effect of natural and synthetic auxins on the growth, metabolite content and antioxidant response of green alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae). *Plant Growth Regulation*, 73(1), 57-66.

Pozo, C. O. (1991). Chile (*Capsicum* spp.). *Avances en el Estudio de los Recursos Fitogenéticos de México. Sociedad Mexicana de Fitogenética* pp, 217.

Powell, A. L., Nguyen, C. V., Hill, T., Cheng, K. L., Figueroa-Balderas, R., Aktas, H., ... & Lopez-Baltazar, J. (2012). Uniform ripening encodes a Golden 2-like transcription factor regulating tomato fruit chloroplast development. *Science*, 336(6089), 1711-1715.

Prior R.L., Wu X., Schaich K., 2005. Standardized methods for determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.* 53, 4290-4302.

Proebsting, W. M., Hedden, P., Lewis, M. J., Croker, S. J., & Proebsting, L. N. (1992). Gibberellin concentration and transport in genetic lines of pea: effects of grafting. *Plant Physiology*, 100(3), 1354-1360.

Ragni, L., Nieminen, K., Pacheco-Villalobos, D., Sibout, R., Schwechheimer, C., & Hardtke, C. S. (2011). Mobile gibberellin directly stimulates *Arabidopsis* hypocotyl xylem expansion. *The Plant Cell*, 23(4), 1322-1336.

Ramesh, B., & Kumar, B. (2006). Response of induced dwarf mutants of barley to exogenous application of gibberellic acid. *Barley Genetics Newsletter*, 36, 3-5.

Rao, S. R., & Ravishankar, G. A. (2000). Biotransformation of protocatechuic aldehyde and caffeic acid to vanillin and capsaicin in freely suspended and immobilized cell cultures of *Capsicum frutescens*. *Journal of biotechnology*, 76(2-3), 137-146.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. y Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237

Regnault, T., Davière, J. M., Wild, M., Sakvarelidze-Achard, L., Heintz, D., Bergua, E. C., ... & Achard, P. (2015). The gibberellin precursor GA 12 acts as a long-distance growth signal in *Arabidopsis*. *Nature plants*, 1(6), 15073.

Reig, C., Martínez-Fuentes, A., Mesejo, C., & Agustí, M. (2018). Hormonal control of parthenocarpic fruit set in 'Rojo Brillante' persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.). *Journal of plant physiology*, 231, 96-104.

Rieu, I., Eriksson, S., Powers, S. J., Gong, F., Griffiths, J., Woolley, L., ... & Phillips, A. L. (2008). Genetic analysis reveals that C19-GA 2-oxidation is a major gibberellin inactivation pathway in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 20(9), 2420-2436.

Rispail, N., Morris, P., & Webb, K. J. (2005). Phenolic compounds: extraction and analysis. In *Lotus japonicus handbook* (pp. 349-354). Springer, Dordrecht.

Rizza, A., & Jones, A. M. (2019). The makings of a gradient: spatiotemporal distribution of gibberellins in plant development. *Current opinion in plant biology*, 47, 9-15.

Robbins, R. J. (2003). Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(10), 2866-2887.

Ronco, M. G., Ruscitti, M. F., Arango, M. C., & Beltrano, J. (2008). Glyphosate and mycorrhization induce changes in plant growth and in root morphology and architecture in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 83(4), 497-505.

Rubio, C., Hardisson, A., Martín, R., Báez, A., Martín, M., & Álvarez, R. (2002). Mineral composition of the red and green pepper (*Capsicum annuum*) from Tenerife Island. *European Food Research and Technology*, 214(6), 501–504.

Russo, V. M. (2012). *Peppers: botany, production and uses*. London, United Kingdom: CAB International, pp. 57-68.

Sagar, V. R., & Kumar, P. S. (2010). Recent advances in drying and dehydration of fruits and vegetables: a review. *Journal of food science and technology*, 47(1), 15-26.

Sairam, R. K., and G. C. Srivastava. Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. *Plant Science* 162.6 (2002): 897-904.

Saito, M., & Yoneshiro, T. (2013). Capsinoids and related food ingredients activating brown fat thermogenesis and reducing body fat in humans. *Current Opinion in Lipidology*, 24(1), 71–77.

Sakakibara, H., Honda, Y., Nakagawa, S., Ashida, H., & Kanazawa, K. (2003). Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 571–581.

Salazar-Cerezo, S., Martínez-Montiel, N., García-Sánchez, J., Pérez-y-Terrón, R., & Martínez-Contreras, R. D. (2018). Gibberellin biosynthesis and metabolism: A convergent route for plants, fungi and bacteria. *Microbiological research*, 208, 85-98.

Schäfer, H., & Wink, M. (2009). Medicinally important secondary metabolites in recombinant microorganisms or plants: progress in alkaloid biosynthesis. *Biotechnology Journal: Healthcare Nutrition Technology*, 4(12), 1684-1703.



Schwender, J., Müller, C., Zeidler, J., & Lichtenthaler, H. K. (1999). Cloning and heterologous expression of a cDNA encoding 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase of *Arabidopsis thaliana* L. FEBS letters, 455(1-2), 140-144.

Seigler, D. S. (1998). Shikimic acid pathway. In *Plant Secondary Metabolism* (pp. 94-105). Springer, Boston, MA.

Sergiev, I., Todorova, D., Shopova, E., Jankauskiene, J., Jankovska-Bortkevič, E., & Jurkonienė, S. (2019). Exogenous auxin type compounds amend PEG-induced physiological responses of pea plants. *Scientia horticulturae*, 248, 200-205.

Sharma, R. R., & Singh, R. (2008, March). GA3 influences incidence of fruit malformation, berry yield and fruit quality in strawberry (*Fragaria× ananassa* Duch.). In *VI International Strawberry Symposium* 842 pp. 737-740.

Shi, H. Y., Li, Z. H., Zhang, Y. X., Chen, L., Xiang, D. Y., & Zhang, Y. F. (2014). Two pear glutathione S-transferases genes are regulated during fruit development and involved in response to salicylic acid, auxin, and glucose signaling. *PLoS One*, 9(2), e89926.

Shih, M. L., & Morgan, J. A. (2020). Metabolic flux analysis of secondary metabolism in plants. *Metabolic engineering communications*, e00123.

Silva, L. R., Azevedo, J., Pereira, M. J., Carro, L., Velazquez, E., Peix, A., ... & Andrade, P. B. (2014). Inoculation of the nonlegume *Capsicum annuum* (L.) with *Rhizobium* strains. 1. Effect on bioactive compounds, antioxidant activity, and fruit ripeness. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(3), 557-564.

Silveira Agostini-Costa, T., da Silva Gomes, I., de Melo, L. A. M. P., Reifschneider, F. J. B., & da Costa Ribeiro, C. S. (2017). Carotenoid and total vitamin C content of peppers from selected Brazilian cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 57, 73-79.

Sim, K. H., & Sil, H. Y. (2008). Antioxidant activities of red pepper (*Capsicum annuum*) pericarp and seed extracts. *International journal of food science & technology*, 43(10), 1813-1823.

Singh, S., Jarret, R., Russo, V., Majetich, G., Shimkus, J., Bushway, R., & Perkins, B. (2009). Determination of capsinoids by HPLC-DAD in capsicum species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(9), 3452–3457.

Skrzypek, E., Szechyska-Hebda, M., & Dabrowska, G. (2007). The influence of phenolic accumulation on callus regeneration abilities of chosen plant species. *Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych*, (523), 203-212.

Slade, W. O., Ray, W. K., Williams, P. M., Winkel, B. S., & Helm, R. F. (2012). Effects of exogenous auxin and ethylene on the *Arabidopsis* root proteome. *Phytochemistry*, 84, 18-23.

Snitker, S., Fujishima, Y., Shen, H., Ott, S., Pi-Sunyer, X., Furuhashi, Y., ... & Takahashi, M. (2008). Effects of novel capsinoid treatment on fatness and energy metabolism in humans: possible pharmacogenetic implications. *The American journal of clinical nutrition*, 89(1), 45-50.

- Srivastava, L. M. (2002). *Plant growth and development: hormones and environment*. Elsevier.
- Stahl, W., & Sies, H. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular aspects of medicine*, 24(6), 345-351.
- Stepanova, A. N., Robertson-Hoyt, J., Yun, J., Benavente, L. M., Xie, D. Y., Doležal, K., ... & Alonso, J. M. (2008). TAA1-mediated auxin biosynthesis is essential for hormone crosstalk and plant development. *Cell*, 133(1), 177-191.
- Stepanova, A. N., Yun, J., Robles, L. M., Novak, O., He, W., Guo, H., ... & Alonso, J. M. (2011). The Arabidopsis YUCCA1 flavin monooxygenase functions in the indole-3-pyruvic acid branch of auxin biosynthesis. *The Plant Cell*, 23(11), 3961-3973.
- Stewart Jr, C., Kang, B. C., Liu, K., Mazourek, M., Moore, S. L., Yoo, E. Y., ... & Jahn, M. M. (2005). The Pun1 gene for pungency in pepper encodes a putative acyltransferase. *The Plant Journal*, 42(5), 675-688.
- Stewart Jr, C., Mazourek, M., Stellari, G. M., O'Connell, M., & Jahn, M. (2007). Genetic control of pungency in *C. chinense* via the Pun1 locus. *Journal of Experimental Botany*, 58(5), 979-991.
- Stipcovich, T., Barbero, G. F., Ferreiro-González, M., Palma, M., & Barroso, C. G. (2018). Fast analysis of capsaicinoids in Naga Jolokia extracts (*Capsicum chinense*) by high-performance liquid chromatography using fused core columns. *Food chemistry*, 239, 217-224.
- Stirk, W. A., Tarkowská, D., Gruz, J., Strnad, M., Ördög, V., & van Staden, J. (2019). Effect of gibberellins on growth and biochemical constituents in *Chlorella minutissima* (Trebouxiophyceae). *South African journal of botany*, 126, 92-98.
- Suzuki, T., Fujiwake, H., & Iwai, K. (1980). Intracellular localization of capsaicin and its analogues, capsaicinoid, in *Capsicum* fruit 1. Microscopic investigation of the structure of the placenta of *Capsicum annuum* var. *annuum* cv. *Karayatsubusa*. *Plant and Cell Physiology*, 21(5), 839-853.
- Symons, G. M., Chua, Y. J., Ross, J. J., Quittenden, L. J., Davies, N. W., & Reid, J. B. (2012). Hormonal changes during non-climacteric ripening in strawberry. *Journal of experimental botany*, 63(13), 4741-4750.
- Szechyńska-Hebda, M., Skrzypek, E., Dąbrowska, G., Biesaga-Kościelniak, J., Filek, M., & Wędzony, M. (2007). The role of oxidative stress induced by growth regulators in the regeneration process of wheat. *Acta Physiologiae Plantarum*, 29(4), 327-337.
- Szolcsányi, J. (2004). Forty years in capsaicin research for sensory pharmacology and physiology. *Neuropeptides*, 38(6), 377-384.
- Tanaka, J., Yano, K., Aya, K., Hirano, K., Takehara, S., Koketsu, E., ... & Matsuoka, M. (2014). Antheridiogen determines sex in ferns via a spatiotemporally split gibberellin synthesis pathway. *Science*, 346(6208), 469-473.

Tao, Y., Ferrer, J. L., Ljung, K., Pojer, F., Hong, F., Long, J. A., ... & Cheng, Y. (2008). Rapid synthesis of auxin via a new tryptophan-dependent pathway is required for shade avoidance in plants. *Cell*, 133(1), 164-176.

Telang, P. S. (2013). Vitamin C in dermatology. *Indian Dermatology Online Journal*, 4(2), 143–146.

Teribia, N., Tijero, V., & Munné-Bosch, S. (2016). Linking hormonal profiles with variations in sugar and anthocyanin contents during the natural development and ripening of sweet cherries. *New biotechnology*, 33(6), 824-833.

Tepic, A. N., Dimic, G. R., Vujicic, B. L., Kevresan, Z. S., Varga, M., & Sumic, Z. M. (2008). Quality of commercial ground paprika and its oleoresins. *Acta Periodica Technologica (Serbia)*, 39, 77–83.

Thomas, B. V., Schreiber, A. A., & Weisskopf, C. P. (1998). Simple method for quantitation of capsaicinoids in peppers using capillary gas chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(7), 2655-2663.

Thuphairo, K., Sornchan, P., & Suttisansanee, U. (2019). Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Inhibition of Key Enzymes Relevant to Alzheimer's Disease from Sweet Pepper (*Capsicum annuum*) Extracts. *Preventive nutrition and food science*, 24(3), 327.

Topuz, A., Dincer, C., Özdemir, K. S., Feng, H., & Kushad, M. (2011). Influence of different drying methods on carotenoids and capsaicinoids of paprika (Cv., Jalapeno). *Food chemistry*, 129(3), 860-865.

Topuz, A., & Ozdemir, F. (2007). Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(7), 596-602.

Tuan, P. A., Kim, J. K., Park, N. I., Lee, S. Y., & Park, S. U. (2011). Carotenoid content and expression of phytoene synthase and phytoene desaturase genes in bitter melon (*Momordica charantia*). *Food Chemistry*, 126(4), 1686-1692.

Ubeda-Tomás, S., García-Martínez, J. L., & López-Díaz, I. (2006). Molecular, biochemical and physiological characterization of gibberellin biosynthesis and catabolism genes from *Nerium oleander*. *Journal of plant growth regulation*, 25(1), 52-68.

Varbanova, M., Yamaguchi, S., Yang, Y., McKelvey, K., Hanada, A., Borochoy, R., ... & Ma, C. J. (2007). Methylation of gibberellins by *Arabidopsis* GAMT1 and GAMT2. *The Plant Cell*, 19(1), 32-45.

Vázquez-Flota, F., de Lourdes Miranda-Ham, M., Monforte-González, M., Gutiérrez-Carbajal, G., Velázquez-García, C., & Nieto-Pelayo, Y. (2007). La biosíntesis de capsaicinoides, el principio picante del chile. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(4), 353-360.

Vega-Gálvez, A., Di Scala, K., Rodríguez, K., Lemus-Mondaca, R., Miranda, M., López, J., & Perez-Won, M. (2009). Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties,

antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper (*Capsicum annuum*, L. var. Hungarian). *Food Chemistry*, 117(4), 647-653.

Verma, N., & Shukla, S. (2015). Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2(4), 105-113.

Vermerris, W., & Nicholson, R. (2008). Families of phenolic compounds and means of classification. In *Phenolic compound biochemistry* (pp. 1-34). Springer, Dordrecht.

Vermerris, W., & Nicholson, R. (2006). Isolation and identification of phenolic compounds: A practical guide. *Phenolic Compound Biochemistry*, pp. 151-196.

Viacava, G. E., Ansorena, M. R., Roura, S. I., González-Aguilar, G. A., & Ayala-Zavala, J. F. (2013). Fruit processing byproducts as a source of natural antifungal compounds. In *Antifungal Metabolites from Plants*, pp. 447-461.

Vidal, A. M., Gisbert, C., Talón, M., Primo-Millo, E., López-Díaz, I., & García-Martínez, J. L. (2001). The ectopic overexpression of a citrus gibberellin 20-oxidase enhances the non-13-hydroxylation pathway of gibberellin biosynthesis and induces an extremely elongated phenotype in tobacco. *Physiologia Plantarum*, 112(2), 251-260.

Wall, M. M., & Bosland, P. W. (1998). Analytical methods for color and pungency of chiles (capsicums). In *Developments in Food Science* (Vol. 39, pp. 347-373).

Wang, G. L., Que, F., Xu, Z. S., Wang, F., & Xiong, A. S. (2015). Exogenous gibberellin altered morphology, anatomic and transcriptional regulatory networks of hormones in carrot root and shoot. *BMC plant biology*, 15(1), 290.

Weiss, D., & Halevy, A. H. (1989). Stamens and gibberellin in the regulation of corolla pigmentation and growth in *Petunia hybrida*. *Planta*, 179(1), 89-96.

Wen, F. P., Zhang, Z. H., Bai, T., Xu, Q., & Pan, Y. H. (2010). Proteomics reveals the effects of gibberellic acid (GA3) on salt-stressed rice (*Oryza sativa* L.) shoots. *Plant science*, 178(2), 170-175.

Wink, M. (2010). *Annual plant reviews, functions and biotechnology of plant secondary metabolites* (Vol. 39). John Wiley & Sons, pp. 381-390.

Winkel, B. S. (2004). Metabolic channeling in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55, 85-107.

Whiting, S., Derbyshire, E., & Tiwari, B. K. (2012). Capsaicinoids and capsinoids. A potential role for weight management? A systematic review of the evidence. *Appetite*, 59(2), 341-348.

Wu, Q., Tao, X., Ai, X., Luo, Z., Mao, L., Ying, T., & Li, L. (2018). Effect of exogenous auxin on aroma volatiles of cherry tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit during postharvest ripening. *Postharvest Biology and Technology*, 146, 108-116.

- Wu, Z., Cheng, J., Qin, C., Hu, Z., Yin, C., & Hu, K. (2013). Differential proteomic analysis of anthers between cytoplasmic male sterile and maintainer lines in *Capsicum annuum* L. *International journal of molecular sciences*, 14(11), 22982-22996.
- Yamaguchi, S. (2008). Gibberellin metabolism and its regulation. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 225-251.
- Yamaguchi, S., Kamiya, Y., & Sun, T. P. (2001). Distinct cell-specific expression patterns of early and late gibberellin biosynthetic genes during Arabidopsis seed germination. *The Plant Journal*, 28(4), 443-453.
- Yamamoto, K. T., Mori, H., & Imaseki, H. (1992). Novel mRNA sequences induced by indole-3-acetic acid in sections of elongating hypocotyls of mung bean (*Vigna radiata*). *Plant and cell physiology*, 33(1), 13-20.
- Zaharah, S. S., Singh, Z., Symons, G. M., & Reid, J. B. (2012). Role of brassinosteroids, ethylene, abscisic acid, and indole-3-acetic acid in mango fruit ripening. *Journal of Plant Growth Regulation*, 31(3), 363-372.
- Zellner, M., Winkler, W., Hayden, H., Diestinger, M., Eliassen, M., Gesslbauer, B., ... & Oehler, R. (2005). Quantitative validation of different protein precipitation methods in proteome analysis of blood platelets. *Electrophoresis*, 26(12), 2481-2489.
- Zenk, M. H., & Juenger, M. (2007). Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry*, 68(22-24), 2757-2772.
- Zewdie, Y., & Bosland, P. W. (2000). Evaluation of genotype, environment, and genotype-by-environment interaction for capsaicinoids in *Capsicum annuum* L. *Euphytica*, 111(3), 185-190.
- Zhang, C., He, Q., Wang, M., Gao, X., Chen, J., & Shen, C. (2020). Exogenous indole acetic acid alleviates Cd toxicity in tea (*Camellia sinensis*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 190, 110090.
- Zhang, Y., Zhang, B., Yan, D., Dong, W., Yang, W., Li, Q., ... & He, Z. (2011). Two Arabidopsis cytochrome P450 monooxygenases, CYP714A1 and CYP714A2, function redundantly in plant development through gibberellin deactivation. *The Plant Journal*, 67(2), 342-353.
- Zhao, Y. (2010). Auxin biosynthesis and its role in plant development. *Annual review of plant biology*, 61, 49-64.
- Zhigila, D. A., AbdulRahaman, A. A., Kolawole, O. S., & Oladele, F. A. (2014). Fruit morphology as taxonomic features in five varieties of *Capsicum annuum* L. Solanaceae. *Journal of Botany*, pp. 01-06.

Zhu, Z., Liang, H., Chen, G., Li, F., Wang, Y., Liao, C., & Hu, Z. (2019). The bHLH transcription factor SIPRE2 regulates tomato fruit development and modulates plant response to gibberellin. *Plant Cell Reports*, 38(9), 1053-1064.