



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

CONTENIDO ANTIOXIDANTE EN DAMIANA
(*Turnera diffusa* Willd.) Y FACTORES QUE LO
MODIFICAN: CONDICIONES AMBIENTALES, DE
CULTIVO Y MANEJO POSCOSECHA.

TESIS

Que para obtener el grado de

Doctor en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación Agricultura Sustentable)

Presenta

LLUVIA DE ABRIL ALEXANDRA SORIANO MELGAR

La Paz, Baja California Sur, Octubre de 2013.

ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 10 horas del día 10 del mes de Septiembre del 2013, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

"Contenido antioxidante en Damiana (*Turnera diffusa*, Willd) y los factores que la modifican: Condiciones ambientales, de cultivo y manejo postcosecha"


Presentada por la alumna:

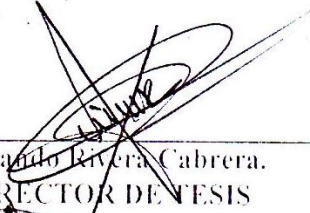
Lluvia de Abril Alexandra Soriano Melgar.

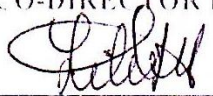
Aspirante al Grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN Agricultura Sustentable

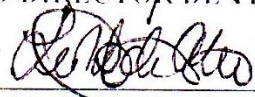
Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

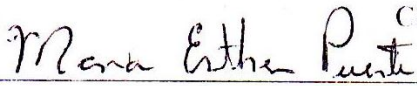
LA COMISION REVISORA



Dra. Tania Zenteno Savín.
CO-DIRECTOR DE TESIS


Dr. Fernando Rivera Cabrera.
CO-DIRECTOR DE TESIS


Dra. Lilia Alcaraz Meléndez.
CO-TUTOR


Dra. Lía C. Méndez Rodríguez.
CO-TUTOR


Dra. María Esther Puente.
CO-TUTOR


Dra. Elisa Serviere Zaragoza.
DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

COMITÉ

COMITÉ TUTORIAL

Dra. Tania Zenteno Savín	Co-Directora	CIBNOR
Dr. Fernando Rivera Cabrera	Co-Director	UAM-Iztapalapa
Dra. Lilia Alcaraz Meléndez	Co-Asesora	CIBNOR
Dra. Lía C. Méndez Rodríguez	Co-Asesora	CIBNOR
Dra. María Esther Puente	Co-Asesora	CIBNOR

COMITÉ REVISOR DE TESIS

Dra. Tania Zenteno Savín	Co-Directora	CIBNOR
Dr. Fernando Rivera Cabrera	Co-Director	UAM-Iztapalapa
Dra. Lilia Alcaraz Meléndez	Co-Asesora	CIBNOR
Dra. Lía C. Méndez Rodríguez	Co-Asesora	CIBNOR
Dra. María Esther Puente	Co-Asesora	CIBNOR

JURADO DE EXÁMEN DE GRADO

Dra. Tania Zenteno Savín	Co-Directora	CIBNOR
Dr. Fernando Rivera Cabrera	Co-Director	UAM-Iztapalapa
Dra. Lilia Alcaraz Meléndez	Co-Asesora	CIBNOR
Dra. Lía C. Méndez Rodríguez	Co-Asesora	CIBNOR
Dra. María Esther Puente	Co-Asesora	CIBNOR
Dr. Juan A. Larrinaga Mayoral	Suplente	CIBNOR
Dr. Ramón Gaxiola Robles	Suplente	CIBNOR

RESUMEN

Las plantas de damiana (*Turnera diffusa* Willd) se emplean en medicina tradicional para tratar enfermedades genitourinarias, y los productos elaborados a partir de extractos de esta planta se consideran como afrodisiacos. Además, se considera que la damiana que crece en Baja California Sur (BCS) exhibe mayores propiedades medicinales que las plantas de damiana de otros Estados. Sin embargo, se desconocen la composición y concentración de los compuestos antioxidantes que pueden brindarle estas propiedades a la damiana. Por ello, en este estudio se determinó el contenido de los principales antioxidantes en plantas de damiana de poblaciones silvestres y cultivadas (BCS), de diferentes zonas de cultivo (BCS y Nuevo León, NL) y posterior al proceso de deshidratación para su almacenamiento. Debido a las diferencias encontradas en el contenido antioxidante entre las poblaciones y a que el principal agente ambiental que modifica el contenido antioxidante en las plantas es la radiación ultravioleta (UV), se determinó el efecto de diferentes dosis de radiación UV-B y UV-C en plántulas de damiana en condiciones *in vitro*. Se cuantificó la actividad de las enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasa total), la concentración de antioxidantes no enzimáticos (clorofila *a* y *b*, carotenoides totales, vitamina C y E, flavonoides y compuestos fenólicos totales) y la capacidad antioxidante total; la peroxidación de lípidos (TBARS) y carbonilos protéicos se midieron como indicadores del daño oxidativo en hojas y tallos de damiana. Las plantas cultivadas presentaron un mayor contenido antioxidante en comparación con las plantas silvestres; esto puede estar relacionado a las condiciones ambientales y de cultivo, tales como humedad y contenido de nutrientes en el suelo. La damiana de BCS presentó un mayor contenido antioxidante que las plantas de NL. Los resultados sugieren que el contenido antioxidante de la damiana Sudcaliforniana contribuye a que ésta sea considerada por los consumidores como la mejor en comparación con las plantas que crecen o se cultivan en otros Estados de la República Mexicana. Los resultados de este estudio sugieren que el contenido de compuestos fenólicos y el contenido de antioxidantes de la damiana dependen de la población, de factores ambientales y de cultivo, y que algunos antioxidantes (enzimas y pigmentos fotosintéticos) son sensibles a factores abióticos como la deshidratación y la radiación UV. Los resultados encontrados en este estudio mostraron que la damiana no es capaz de adaptarse a condiciones severas de irradiación UV-B. Con base en los resultados de este estudio, se propone que un manejo controlado de radiación UV-C puede utilizarse como una alternativa para incrementar el contenido de antioxidantes como los compuestos fenólicos en damiana.

Palabras clave: Antioxidantes, carotenoides, damiana, daño oxidativo, factores ambientales, fenoles, vitamina C, vitamina E.

ABSTRACT

Damiana (*Turnera diffusa* Willd) plants are used to treat genitourinary diseases, and its products are considered to be aphrodisiac. In addition, damiana grown in Baja California Sur (BCS) is considered to have stronger effects than plants grown in other States. However, the composition and concentration of antioxidant compounds that may confer damiana these properties are unknown. Therefore, in this study the content of antioxidants in damiana plants from different populations (wild and cultivated) (BCS), from different areas (BCS and Nuevo León, NL) and after the dehydration process for storage were determined. Due to differences in antioxidant content between populations and that the main environmental agent that modifies antioxidant content in plants is ultraviolet radiation (UV), effects of different doses of UV-B and UV-C radiation were analyzed on damiana seedlings *in vitro*. Enzymatic antioxidant activities (superoxide dismutase, catalase, and total peroxidases), non-enzymatic antioxidant (chlorophyll a and b, total carotenoids, vitamin C and E, flavonoids and total phenolic compounds) concentrations, total antioxidant capacity, lipid peroxide (TBARS) and protein carbonyl content (as indicators of oxidative damage) were quantified in damiana leaves and stems. Cultivated plants had higher antioxidant content than wild plants; this may be related to environmental and culture conditions, such as moisture and nutrient content in soil. Damiana from BCS had higher antioxidant content than NL plants. These results suggest that the antioxidant content contributes to the consumers' perception of damiana from BCS being more effective compared to plants from other sites. The results of this study suggest that the phenolic compounds and antioxidant content of damiana depend on population, environmental factors and cultivation, and that some antioxidants (enzymes and photosynthetic pigments) are very sensitive to abiotic factors, such as dehydration and UV radiation. The results of experimental UV exposure suggest that damiana cannot adapt to severe conditions of UV-B radiation. Based on the results of this study, it is proposed that a controlled exposure to UV-C radiation can be used as an alternative to increase phenolic compounds content on damiana.

Key words: Antioxidants, carotenoids, damiana, environmental factors, oxidative damage, phenolic compounds, vitamin C, vitamin E.

Dedicatoria

***A mi esposo Alejandro
y a mis hijos Alexandro y Aleph.***

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. (CIBNOR), a la Dirección de Estudios de Posgrado, al Departamento de Control Escolar, al Departamento de Becas y Apoyo Estudiantil, al Laboratorio de Cómputo, al Laboratorio de Absorción Atómica, al Laboratorio de Biotecnología Vegetal y al Laboratorio de Estrés Oxidativo (Biomedicina y Salud Ambiental), por todo su apoyo durante la realización de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca de doctorado otorgada (205249).

Al Comité Tutorial y Comité revisor del documento de tesis: Dra. Tania Zenteno Savín, Dr. Fernando Rivera Cabrera, Dra. Lilia Alcaraz Meléndez, Dra. Lía C. Méndez Rodríguez, Dra. María Esther Puente, por toda su ayuda, tiempo, apoyo, esfuerzo, interés, conocimiento, sugerencias, comentarios, ánimo, observaciones, etc. Muchas gracias por todos estos años de logros y de trabajo. Especialmente a las Dras. Tania y Lily por estar muy al pendiente del progreso de este trabajo y de mí de una manera muy cariñosa, atenta y agradable. Gracias por toda su ayuda en la obtención de muestras, su conocimiento, técnicas proporcionadas, apoyo incondicional y amistad.

Al Dr. Andrés Eduardo Estrada Castellón de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, por la ayuda en la colecta de muestras de Damiana en el Estado de Nuevo León.

A los encargados y técnicos de los laboratorios donde se llevó a cabo este trabajo: Margarito Rodríguez Álvarez, Sergio Real Cosío, Orlando Lugo Lugo, Norma Olimpia Olguin, Ariel Cruz Villacorta, Baudilio Acosta Vargas, Griselda Peña Armenta y Roberto Hernandez Herrera; gracias por toda su ayuda y apoyo técnico en la realización de éste trabajo.

A todos los compañeros de los laboratorios en los que estuve: Margarito, Sergio, Miriam, Orlando, Norma, Baudilio, Griselda, Ramón, Vanessa, Roberto, Patricia, Paola, Juan Carlos, Marcela, Mónica, Angélica, Arianna, Mirna y Carolina. En especial a Miriam por la ayuda en el procesamiento de muestras.

A mi esposo Jesús Alejandro y a mis hijos Jesús Alexandro y Aleph Moroni, mi mayor fuente de lucha e inspiración. A mis hermanos Mahonri Hossian y Hennessis Adangeli Kyrie Eleison, y a mis hermanas Azul Cristal, Maura Kathleen Aimara y Lirio Carmesi por sus ánimos. A mi abuela Damacia por sus palabras para seguir adelante y por ser un gran apoyo.

A todas las personas que directa o indirectamente estuvieron apoyándome y que por falta de cabeza no los incluí, gracias, porque cada uno de ustedes son parte importante de este trabajo. Gracias a todos...

Lluvia de Abril

CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS	I
LISTA DE TABLAS	V
ABREVIATURAS	VI
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1. Estrés Oxidativo	4
2.2. Compuestos Antioxidantes	6
2.3. Capacidad Antioxidante	15
2.4. Factores que Modifican la Concentración de los Compuestos Antioxidantes	15
2.4.1. Poblaciones	15
2.4.2. Almacenamiento y/o Procesamiento.....	16
2.4.3. Condiciones Ambientales	17
2.5. Propiedades de las Plantas Medicinales	19
2.6. Damiana.....	20
3. JUSTIFICACIÓN.....	28
4. OBJETIVOS	29
4.1. Objetivo General	29
4.2. Objetivos Particulares.....	29
5. HIPÓTESIS.....	30
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	31
6.1 Material Biológico y Tratamientos	31
6.2. Diseño Experimental	32
6.3. Análisis Físico.....	32
6.3.1. Determinación del Porcentaje de Humedad	32
6.4. Análisis Bioquímico	32
6.4.1. Determinación de Macroelementos y Microelementos.....	32
6.4.2. Determinación de la Actividad de las Enzimas Antioxidantes.....	33
6.4.2.1. Actividad Enzimática de Superóxido Dismutasa Total	33
6.4.2.2. Actividad Enzimática de Catalasa	34
6.4.2.3. Actividad Enzimática de las Peroxidasas Totales	34
6.4.3. Determinación de Compuestos Antioxidantes No Enzimáticos	35
6.4.3.1. Clorofila <i>a</i> , Clorofila <i>b</i> y Carotenoides Totales	35
6.4.3.2. Determinación de Vitamina C (Ácido Ascórbico) por HPLC.....	36
6.4.3.3. Determinación de Vitamina E (α -Tocoferol) por HPLC	37
6.4.3.4. Determinación de Compuestos Fenólicos (Flavonoides) por HPLC.....	38
6.4.3.5. Determinación de Compuestos Fenólicos Totales.....	39

6.4.4. Determinación de la Capacidad Antioxidante Total	40
6.4.5. Lipoperoxidación	40
6.4.6. Carbonilos Proteicos	42
6.4.7. Determinación de Proteínas Totales.....	43
6.5. Tratamientos con UV	43
6.5.1. Tratamientos con UV-B	43
6.5.1.1. Determinación de Parámetros Morfológicos.....	44
6.5.1.1.1. Número de Hojas y Área Foliar.....	44
6.5.1.1.2. Crecimiento de las plantas.....	45
6.5.1.1.3. Análisis de Estomas y Glándulas.....	45
6.5.2. Tratamientos con UV-C	45
6.6. Análisis Estadístico	46
7. RESULTADOS.....	47
7.1. Factores de Cultivo y Manejo Poscosecha	47
7.1.1. Contenido de Humedad en las Plantas de Damiana Silvestres y Cultivadas	47
7.1.2. Contenido de Macroelementos y Microelementos	48
7.1.3. Actividad de Enzimas Antioxidantes	49
7.1.3.1. Actividad Enzimática de Superóxido Dismutasa	49
7.1.3.2. Actividad Enzimática de Catalasa	51
7.1.3.3. Actividad Enzimática de las Peroxidasas Totales	52
7.1.4. Antioxidantes No Enzimáticos	53
7.1.4.1. Contenido de Clorofila <i>a</i> y Clorofila <i>b</i>	53
7.1.4.2. Contenido de Carotenoides Totales	55
7.1.4.3. Contenido de Vitamina C (Ácido Ascórbico)	56
7.1.4.4. Contenido de Vitamina E (α -Tocoferol).....	57
7.1.4.5. Contenido de Compuestos Fenólicos Totales.....	58
7.1.5. Capacidad Antioxidante	60
7.1.6. Lipoperoxidación	61
7.1.7. Carbonilos Proteicos	63
7.1.8. Correlaciones	64
7.2. Factores Ambientales: Radiación UV-B	64
7.2.1. Actividad de Enzimas Antioxidantes	64
7.2.1.1. Actividad Enzimática de Superóxido Dismutasa	64
7.2.1.2. Actividad Enzimática de Catalasa	65
7.2.1.3. Actividad Enzimática de las Peroxidasas Totales	66
7.2.2. Determinación de Compuestos Antioxidantes No Enzimáticos	67
7.2.2.1. Contenido de Clorofila <i>a</i> y Clorofila <i>b</i>	67
7.2.2.2. Contenido de Carotenoides Totales	70
7.2.2.3. Contenido de Vitamina C (Ácido Ascórbico)	71

7.2.2.4. Contenido de Vitamina E (α -Tocoferol)	72
7.2.2.5. Compuestos Fenólicos Totales	73
7.2.3. Capacidad Antioxidante Total	74
7.2.4. Lipoperoxidación	76
7.2.5. Carbonilos Proteicos	78
7.2.6. Contenido de Proteínas Totales	79
7.2.7. Parámetros Morfológicos	80
7.3. Factores Ambientales: Radiación UV-C	82
7.3.1. Actividad de Enzimas Antioxidantes	83
7.3.1.1. Actividad Enzimática de Superóxido Dismutasa	83
7.3.1.2. Actividad Enzimática de Catalasa	84
7.3.1.3. Actividad Enzimática de las Peroxidasas Totales	85
7.3.2. Determinación de Compuestos Antioxidantes No Enzimáticos	86
7.3.2.1. Contenido de Clorofila <i>a</i> y Clorofila <i>b</i>	86
7.3.2.2. Contenido de Carotenoides Totales	89
7.3.2.3. Contenido de Vitamina C (Ácido Ascórbico)	90
7.3.2.4. Contenido de Vitamina E (α -Tocoferol).....	91
7.3.2.5. Compuestos Fenólicos Totales	92
7.3.3. Capacidad Antioxidante Total	94
7.3.4. Lipoperoxidación	95
7.3.5. Carbonilos Proteicos	97
7.3.6. Contenido de Proteínas Totales	98
7.3.7. Parámetros Morfológicos	100
8. DISCUSIÓN	101
8.1. Factores de Cultivo y Manejo Poscosecha	101
8.2. Factores Ambientales: Radiación UV-B	113
8.3. Factores Ambientales: Radiación UV-C	117
9. CONCLUSIONES.....	121
10. LITERATURA CITADA	124
ANEXOS	148

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Generación de especies reactivas de oxígeno durante la reducción del oxígeno a agua.....	4
Figura 2. Mecanismo de la lipoperoxidación del ácido linolénico y ácido linoléico.....	6
Figura 3. Síntesis de glutatión (GSH) a partir de glutamato y cisteína por la enzima γ -glutamilcisteína sintetasa (γ -ECS) y glutatión sintetasa (GS).	9
Figura 4. Ciclo glutatión-ascorbato o de Halliwell-Asada. APX.....	11
Figura 5. Ciclos de compuestos antioxidantes como vitaminas C y E, y glutatión.	12
Figura 6. Morfología de las plantas de damiana (<i>Turnera diffusa</i>).....	21
Figura 7. Productos elaborados a base de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) en el estado de Baja California Sur (Grupo Arari de B.C.S., S.A. de C.V.)	24
Figura 8. Ubicación de poblaciones silvestres de damiana en el estado de Baja California Sur.....	26
Figura 9. Reacción entre el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH [*]) y antioxidantes para la formación de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo no radical (DPPH).....	40
Figura 10. Formación del complejo colorido malondialdehído-ácido tiobarbitúrico (MDA-TBA).	41
Figura 11. Contenido de humedad expresada en porcentaje en hojas y tallos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León.....	47
Figura 12. Contenido (mg kg ⁻¹) de macroelementos y microelementos: magnesio (Mg), cobre (Cu), hierro (Fe) y zinc (Zn) en hojas y tallos en base seca de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León.....	49
Figura 13. Actividad enzimática específica de superóxido dismutasa (SOD, U mg ⁻¹ de proteína) en (A) hojas y tallos frescos, y en (B) hojas y tallos secos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León.....	51
Figura 14. Actividad enzimática específica de catalasa (CAT, U mg ⁻¹ de proteína) en tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León.....	52
Figura 15. Actividad enzimática específica de peroxidasa (POX, U mg ⁻¹ de proteína) en tallos secos de El Carrizal y en hojas frescas y secas de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León.....	53
Figura 16. Contenido de (A) clorofila <i>a</i> y (B) clorofila <i>b</i> (μ g de clorofila g ⁻¹ de tejido) en hojas y tallos en fresco y en seco de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León.....	55

Figura 17. Contenido de carotenoides totales (μg de carotenoides totales g^{-1} de tejido) en hojas y tallos en fresco y en seco de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León.....	56
Figura 18. Contenido de vitamina C (mg de ácido ascórbico g^{-1} de tejido) en hojas y tallos en fresco y en seco de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León	57
Figura 19. Contenido de vitamina E (mg de α -tocoferol g^{-1} de tejido) en hojas y tallos en fresco y en seco de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León.....	58
Figura 20. Contenido de compuestos fenólicos totales equivalentes de ácido gálico (mg EAG g^{-1} de tejido) en (A) hojas frescas y secas, y en (B) tallos frescos y secos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León.....	59
Figura 21. Capacidad antioxidante total (equivalentes de ácido gálico, mM EAG g^{-1} de tejido) en (A) hojas en fresco y en seco, y (B) tallos en fresco y en seco de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León.....	61
Figura 22. Lipoperoxidación (nmol especies reactivas al ácido tiobarbitúrico [TBARS] mg^{-1} de proteína) en (A) hojas y tallos en fresco, y (B) hojas y tallos en seco de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León..	62
Figura 23. Carbonilos proteicos (mmol g^{-1} de tejido) en hojas y tallos en fresco y en seco de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León...	63
Figura 24. Actividad enzimática específica de superóxido dismutasa (SOD, U mg^{-1} de proteína) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm^{-2} 2 h, 1 mW cm^{-2} 2 h y 1 mW cm^{-2} 4 h.....	65
Figura 25. Actividad enzimática específica de peroxidasas totales (POX, U mg^{-1} de proteína) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm^{-2} 2 h, 1 mW cm^{-2} 2 h y 1 mW cm^{-2} 4 h.....	67
Figura 26. Contenido de clorofila <i>a</i> (μg de clorofila <i>a</i> g^{-1} de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm^{-2} 2 h, 1 mW cm^{-2} 2 h y 1 mW cm^{-2} 4 h.....	68
Figura 27. Contenido de clorofila <i>b</i> (μg de clorofila <i>b</i> g^{-1} de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm^{-2} 2 h, 1 mW cm^{-2} 2 h y 1 mW cm^{-2} 4 h.....	70

Figura 28. Contenido de carotenoides totales (μg de carotenoides g^{-1} de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm^{-2} 2 h, 1 mW cm^{-2} 2 h y 1 mW cm^{-2} 4 h.....	71
Figura 29. Contenido de vitamina C (mg equivalentes de ácido ascórbico g^{-1} de peso fresco) en hojas frescas de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm^{-2} 2 h, 1 mW cm^{-2} 2 h y 1 mW cm^{-2} 4 h.....	72
Figura 30. Compuestos fenólicos totales equivalentes de ácido gálico (mg EAG g^{-1} de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm^{-2} 2 h, 1 mW cm^{-2} 2 h y 1 mW cm^{-2} 4 h.....	74
Figura 31. Capacidad antioxidante total (equivalentes de ácido gálico, mM EAG g^{-1} de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm^{-2} 2 h, 1 mW cm^{-2} 2 h y 1 mW cm^{-2} 4 h.....	76
Figura 32. Lipoperoxidación (nmol de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico [TBARS] mg^{-1} de proteína) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm^{-2} 2 h, 1 mW cm^{-2} 2 h y 1 mW cm^{-2} 4 h.....	77
Figura 33. Carbonilos proteicos ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm^{-2} 2 h, 1 mW cm^{-2} 2 h y 1 mW cm^{-2} 4 h.....	79
Figura 34. Contenido de proteínas totales (mg g^{-1} de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm^{-2} 2 h, 1 mW cm^{-2} 2 h y 1 mW cm^{-2} 4 h.....	80
Figura 35. Efecto de los diferentes tratamientos de radiación ultravioleta tipo B (UV-B, 0.5 mW cm^{-2} 2 h, 1 mW cm^{-2} 2 h y 1 mW cm^{-2} 4 h y control) sobre damiana (<i>Turnera diffusa</i>) <i>in vitro</i> durante el periodo experimental.....	81
Figura 36. Morfología del envés de las hojas de damiana (<i>Turnera diffusa</i> Willd) <i>in vitro</i> obtenidas por microscopia electrónica a 300X, para observar el efecto de la radiación ultravioleta tipo B (UV-B, 0.5 mW cm^{-2} 2 h y control).....	82
Figura 37. Actividad enzimática específica de superóxido dismutasa (SOD, U mg^{-1} de proteína) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios.....	84

Figura 38. Actividad enzimática específica de peroxidasas totales (POX, U mg ⁻¹ de proteína) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios.....	86
Figura 39. Contenido de clorofila <i>a</i> (µg de clorofila a g ⁻¹ de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios.....	87
Figura 40. Contenido de clorofila <i>b</i> (µg de clorofila b g ⁻¹ de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios.....	88
Figura 41. Contenido de carotenoides totales (µg de carotenoides a g ⁻¹ de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios.....	90
Figura 42. Contenido de vitamina C (mg equivalentes de ácido ascórbico g ⁻¹ de peso fresco) en hojas frescas de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios.	91
Figura 43. Contenido de vitamina E (mg equivalentes de α-tocoferol g ⁻¹ de peso fresco) en hojas frescas de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios.....	92
Figura 44. Compuestos fenólicos totales equivalentes de ácido gálico (mg EAG g ⁻¹ de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios.....	93
Figura 45. Capacidad antioxidante total (equivalentes de ácido gálico, mM EAG g ⁻¹ de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios.....	95
Figura 46. Lipoperoxidación (nmol de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico [TBARS] mg ⁻¹ de proteína) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios	96
Figura 47. Carbonilos proteicos (µmol de g ⁻¹ peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios.	98
Figura 48. Contenido de proteínas totales (mg de g ⁻¹ de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (<i>Turnera diffusa</i>) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios.....	99

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Principales especies reactivas de oxígeno (ERO)	5
Tabla II. Clasificación taxonómica de la damiana (<i>Turnera diffusa</i>).....	22
Tabla III. Morfología de las hojas de Damiana (<i>Turnera diffusa</i>) <i>in vitro</i> control (luz blanca) e irradiadas con UV-B (0.5 mW cm ⁻² 2 h) a 0, 1 y 7 días de tratamiento.....	82

ABREVIATURAS

$^1\text{O}_2$	Oxígeno singulete
ABTS	Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)
APX	Ascorbato peroxidasa
BCS	Baja California Sur
CAEAG	Capacidad antioxidante equivalente de ácido gálico
CAT	Catalasa
Cd	Cadmio
CIBNOR	Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.
Cu	Cobre
DHA	Dehidroascorbato
DHAR	Dehidroascorbato reductasa
DPPH	2,2-difenil-2-picril-hidracil
EAG	Equivalentes de ácido gálico
EPA	Environmental Protection Agency
ERO	Especies reactivas de oxígeno
Fe	Hierro
FRAP	Parámetro antioxidante de la reducción del ion hierro
GPx	Glutación peroxidasa
GR	Glutación reductasa
GSH	Glutación reducido
GST	Glutación S-transferasa

GSSG	Glutación oxidado
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
HO•	Radical hidroxilo
HOCl	Ácido hipocloroso
K	Potasio
MDA	Malondialdehído
MDHA	Monodehidroascorbato
MDHAR	Monodehidroascorbato reductasa
Mg	Magnesio
Mn	Manganeso
MS	Medio de cultivo Murashige-Skoog
NL	Nuevo León
O ₂ ^{•-}	Radical superóxido
ORAC	Capacidad de absorbanca del radical oxígeno
P	Fósforo
Pb	Plomo
PF	Peso fresco
POX	Peroxidasas totales
PS	Peso seco
PVP	Polivinilpirrolidona insoluble
RO ₂ [•]	Radical peroxilo
Se	Selenio
SOD	Superóxido dismutasa

TBARS	Especies reactivas al ácido tiobarbitúrico
TEAC	Capacidad antioxidante equivalente a trolox
UV	Radiación ultravioleta
UV-B	Radiación ultravioleta tipo B
UV-C	Radiación ultravioleta tipo C
Zn	Zinc

1. INTRODUCCIÓN

Se ha reportado que el consumo de frutas, hortalizas y plantas medicinales tiene un amplio espectro de efectos sobre los seres vivos, tales como antibacterianos, antiinflamatorios, antialérgicos, anticarcinogénicos, además de regular o controlar enfermedades incluyendo diabetes, hipertensión, enfermedades respiratorias, cardiovasculares y cardíacas (Krishnaiah *et al.*, 2011). Muchas de estas funciones se han atribuido al contenido de compuestos antioxidantes que brindan protección contra el daño celular causado por la exposición a altas concentraciones de especies reactivas y radicales libres (Rietveld y Wiseman, 2003; Svilaas *et al.*, 2004; Karou *et al.*, 2005; Pourmorad *et al.*, 2006; Khalaf *et al.*, 2008; Krishnaiah *et al.*, 2011).

En las plantas el sistema de defensa contra las especies reactivas y los radicales libres está constituido por compuestos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos. Algunos de los antioxidantes enzimáticos en plantas son superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx), ascorbato peroxidasa (APX), glutatión reductasa (GR) y glutatión S-transferasa (GST). Los antioxidantes no enzimáticos en plantas incluyen el glutatión reducido (GSH), la vitamina C (ácido ascórbico), la vitamina E (α -tocoferol), los carotenoides (β -caroteno) y los compuestos fenólicos, incluyendo a los flavonoides (Aqil *et al.*, 2006). Otros compuestos que *per se* no son antioxidantes, pero que al ser cofactores de enzimas antioxidantes también contribuyen a las propiedades antioxidantes, son los elementos químicos, como selenio (Se), cobre (Cu), hierro (Fe), zinc (Zn) y manganeso (Mn) (Aqil *et al.*, 2006).

Cuando los mecanismos de defensa antioxidante no son suficientes para mantener el equilibrio bioquímico de los organismos, se genera una condición conocida como estrés oxidativo (Sies, 1997; Arora, *et al.*, 2002). El estrés oxidativo se define como el desequilibrio entre la producción de especies reactivas y los mecanismos antioxidantes, manifestándose como daño oxidativo a macromoléculas como lípidos, proteínas y ADN, lo cual puede provocar disfunción y/o muerte celular (Mittler, 2002; Lozada y García, 2009).

Durante los últimos años se ha incrementado el interés por investigar la eficacia de compuestos naturales con propiedades antioxidantes y, sobre todo, de caracterizar el potencial antioxidante de frutas, hortalizas y plantas medicinales, con el fin de incrementar el consumo de dichos productos (Kim *et al.*, 2005; Haripyaree *et al.*, 2010; Hassanbaglou *et al.*, 2012). El conocimiento de los compuestos antioxidantes y los factores que los modifican puede aplicarse en la fabricación sintética de compuestos nutracéuticos de interés (Jacobo-Velázquez y Cisneros-Zevallos, 2012). Por ejemplo, las condiciones climáticas, como altas temperaturas y radiación solar, favorecen una mayor síntesis de compuestos antioxidantes en las plantas, como un mecanismo de defensa a ese estímulo abiótico (Torabinejad y Caldwell, 2000; Frohnmayer y Staiger, 2003; Dinkova-Kostova, 2008).

El estado de Baja California Sur (BCS), junto con Baja California, Sonora y Chihuahua, son considerados como los estados de la República Mexicana con mayor radiación solar (Solartronic, S.A. de C.V., 2003; Bermúdez-Contreras *et al.*, 2008; Vázquez-Yáñez, 2009). Por lo que las plantas nativas de BCS podrían poseer mayores cantidades de compuestos antioxidantes en comparación con las plantas desarrolladas en

otros Estados, y los factores ambientales de esta zona podrían ser los responsables del contenido antioxidante.

La damiana, *Turnera diffusa*, es una especie económicamente importante para BCS, ya que se emplea en la elaboración de una cantidad de productos tales como bebidas de infusión, saborizantes, licores, productos cosméticos, gelatinas, chocolates, yogurt, entre otros. Estos productos son de consumo nacional e internacional y la producción potencial estimada de hojas de damiana en seco es de 500 toneladas anuales (Alcaraz-Meléndez y Véliz-Murillo, 2006). La damiana se emplea dentro de la herbolaria mexicana tradicional como estimulante nervioso, afrodisíaco, diurético y para el tratamiento de afecciones genitourinarias (Osuna-Leal y Meza-Sánchez, 2000; Alcaraz-Meléndez y Véliz-Murillo, 2006). Aunque la damiana crece y se cultiva en varios estados de la República Mexicana, la que se emplea con más frecuencia es la que proviene de BCS, argumentándose que posee mejor calidad que la que procede de otras regiones (Alcaraz-Meléndez y Real-Cosío, 1992; Gámez *et al.*, 2010). Sin embargo, se desconoce cuál es el principio activo que brinda sus múltiples cualidades como planta medicinal, así como las diferencias en la composición química de la damiana de origen sudcaliforniano para que se considere de mejor calidad que la que se desarrolla en otros estados de la República Mexicana. Los objetivos de este estudio fueron cuantificar y comparar los compuestos antioxidantes, la capacidad antioxidante total y el daño oxidativo en damiana (*T. diffusa*) en BCS bajo diferentes condiciones ambientales, de cultivo y manejo poscosecha, y cuantificar y comparar la capacidad antioxidante de damiana crecida en distintas zonas geográficas de México.

2. ANTECEDENTES

2.1. Estrés Oxidativo

El estrés oxidativo es considerado como un desbalance entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y los sistemas de defensa antioxidante, a favor de los primeros, que induce daño oxidativo (Sies, 1997; Arora, *et al.*, 2002; Lozada y García, 2009; Gill y Tuteja, 2010). Las ERO son moléculas altamente reactivas que reaccionan con y pueden causar daño a diferentes moléculas y, por ende, a células y/o tejidos (Mittler, 2002; Gill y Tuteja, 2010). Durante los procesos metabólicos de los organismos se producen varias ERO (Fig. 1) (Sies, 1997; Apel y Hirt, 2004; Gill y Tuteja, 2010).

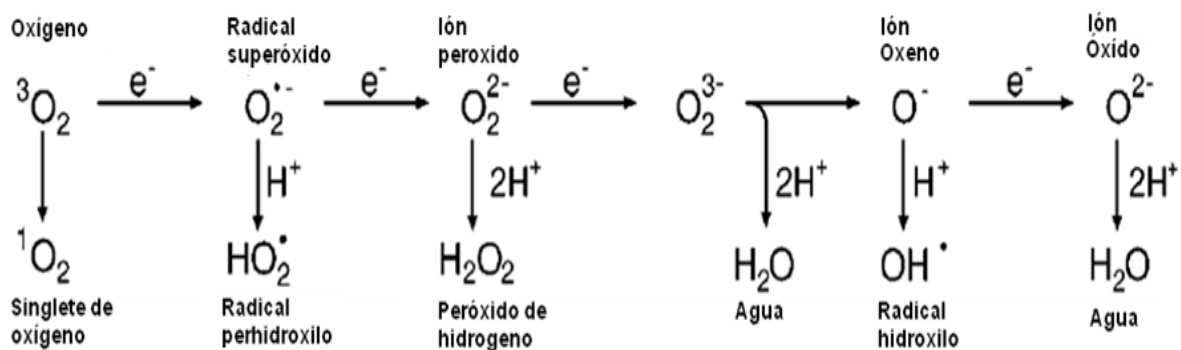


Figura 1. Generación de especies reactivas de oxígeno durante la reducción del oxígeno a agua (Apel y Hirt, 2004). H^+ , protones; e^- , electrones; ${}^3\text{O}_2$, oxígeno; $\text{O}_2^{\bullet-}$, radical superóxido; O_2^{2-} , ión peróxido; $\text{O}^{\bullet-}$, ión oxeno; O^{2-} , ión óxido. ${}^1\text{O}_2$, oxígeno singlete; HO_2^{\bullet} , radical perhidroxilo; H_2O_2 , peróxido de hidrógeno; H_2O , agua; OH^{\bullet} , radical hidroxilo.

Las ERO son moléculas que actúan como agentes oxidantes, pueden ser radicales libres y no radicales; estos últimos son fácilmente convertidos a radicales libres. Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado, por lo que son muy reactivos. En la tabla 1 se muestran las principales ERO.

Tabla I. Principales especies reactivas de oxígeno (ERO).

Radicales		No radicales	
Superóxido	$O_2^{\bullet -}$	Peróxido de hidrógeno	H_2O_2
Hidroxilo	HO^{\bullet}	Ácido hipocloroso	$HOCl$
Peroxilo	RO_2^{\bullet}	Ozono	O_3
Alcoxilo	RO^{\bullet}	Oxígeno singlete	1O_2
Hidroperoxilo	HO_2^{\bullet}	Peroxinitrito	$ONOO^-$

En las plantas, los mecanismos de respuesta a diversos estímulos bióticos (agentes patógenos, microorganismos, etc.) y abióticos (clima, temperatura, salinidad, precipitaciones, radiación ultravioleta, etc.) aumentan la producción de ERO (Dat *et al.*, 2000; Ahmad *et al.*, 2010; Gill y Tuteja, 2010). Las ERO provocan la oxidación de los ácidos grasos insaturados (peroxidación de lípidos), proceso que conduce a la formación y propagación de radicales lipídicos produciendo daño, principalmente, a nivel de membrana celular (Snaich, 1992). La peroxidación de lípidos (lipoperoxidación) es una consecuencia natural de los procesos metabólicos en la célula, que ocurre tanto en plantas como en animales (Shewfelt y Del-Rosario, 2000). La peroxidación de lípidos involucra reacciones de iniciación, propagación y término. La formación y propagación de radicales lipídicos generan diversos productos de degradación, que incluyen malondialdehído (MDA), alcoholes, cetonas, aldehídos, entre otros (Mittler, 2002; Moon y Shibamoto, 2009; Gill y Tuteja, 2010). Los ácidos linoléico (18:2) y linolénico (18:3) son los más susceptibles a ataques por ERO (Fig. 2) (Gill y Tuteja, 2010). La medición o cuantificación del MDA se ha usado como indicador de lipoperoxidación y éste a su vez se ha usado como indicador de daño oxidativo en células y tejidos (Esterbauer *et al.*, 1991).

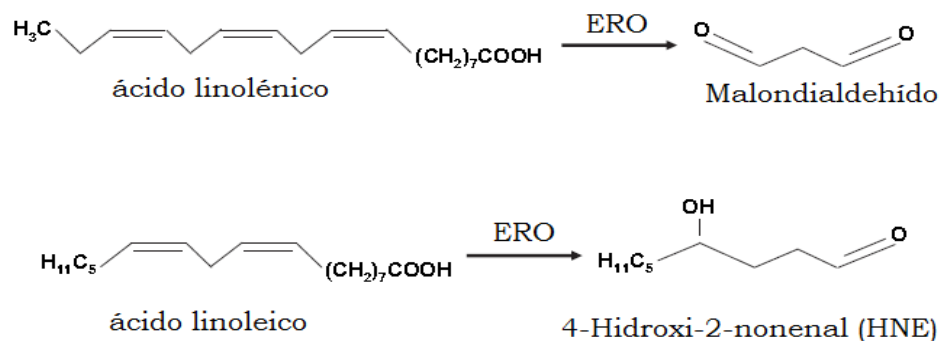


Figura 2. Mecanismo de la lipoperoxidación del ácido linolénico y ácido linoléico para la formación de los productos secundarios de oxidación, malondialdehído (MDA) y 4-hidroxi-2-nonenal (HNE). Adaptado de Gill y Tuteja (2010). ERO, Especies reactivas del oxígeno.

2.2. Compuestos Antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos que pueden detener, retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas, inhibiendo la iniciación y/o propagación de las reacciones en cadena de los radicales libres (Moon y Shibamoto, 2009). Los antioxidantes se clasifican en enzimáticos y no enzimáticos. Los mecanismos enzimáticos de eliminación de ERO en las plantas incluyen, entre otras, a la enzima superóxido dismutasa (SOD), ascorbato peroxidasa (APX), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión S-transferasa (GST) y catalasa (CAT), las cuales permiten remover, neutralizar o depurar las ERO (Mohamed *et al.*, 2007; Tavarini *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009). La enzima SOD es la primera en detoxificar a los radicales libres convirtiendo el $\text{O}_2^{\cdot-}$ a H_2O_2 (Scandalios, 1993). Una vez que la SOD genera el H_2O_2 , éste es reducido a agua por la APX usando al ascorbato como un donador de electrones (Bowler *et al.*, 1992). Posteriormente, el ascorbato oxidado es reducido por las reacciones catalizadas por la monodehidroascorbato reductasa (MDHAR) y la GR (Bowler *et al.*, 1992; Scandalios, 1993; Sen-Gupta *et al.*, 1993; Liu *et al.*, 2009).

Por otro lado, algunos compuestos antioxidantes enzimáticos requieren de cofactores para ser activos. Estos cofactores son oligoelementos, como zinc (Zn), cobre (Cu), manganeso (Mn), selenio (Se) y hierro (Fe). El Cu y Zn se encuentran presentes en la estructura de enzimas antioxidantes como CAT y SOD (Liu *et al.*, 2007). La isoforma de SOD dependiente de Cu y Zn (Cu,Zn-SOD) se encuentra en cloroplastos y en citosol, mientras que la isoforma dependiente de Mn (Mn-SOD) se localiza principalmente en la mitocondria y en los cloroplastos (Sen-Gupta *et al.*, 1993). En la Cu,Zn-SOD, el Cu forma parte del sitio activo y el Zn actúa estabilizando la proteína. La estructura de la CAT contiene Fe en un grupo hemo, y la GPx es dependiente de Se (Liu *et al.*, 2007). El Zn tiene propiedades antioxidantes por sí mismo, ya que protege a los grupos sulfhidrilo contra la oxidación y previene la generación de ERO mediante competencia por los sitios de unión con metales prooxidantes (Cu y Fe) (Martínez-González *et al.*, 2002).

Dentro de los antioxidantes no enzimáticos, se encuentran los antioxidantes liposolubles asociados a la membrana (carotenoides y vitamina E o α -tocoferol) y compuestos reductores solubles en agua, como el glutatión (GSH) y el ácido ascórbico (vitamina C) (Noctor y Foyer, 1998; Mittler, 2002; Carletti *et al.*, 2003). Además, existen otros compuestos antioxidantes como los compuestos fenólicos simples (ácido caféico y ácido clorogénico) o complejos, como los flavonoides (quercetina, catequina) y antocianinas (Aqil *et al.*, 2006; Turyanitsa *et al.*, 2006; Moon y Shibamoto, 2009; Ahmad *et al.*, 2010).

Aunque el principal papel reconocido para las clorofilas y los carotenoides es actuar como pigmentos antena fotoreceptores para la fotosíntesis recolectando longitudes de onda de luz, también se ha reconocido que poseen funciones protectoras contra el daño oxidativo (Krinsky, 1993). Los carotenoides, como el β -caroteno, son supresores de ERO y, a bajas concentraciones, pueden proteger a los lípidos de la oxidación (Larson, 1988; Gill y Tuteja, 2010). Los carotenoides desempeñan un papel importante en el ensamblaje de los complejos captadores de luz y tienen una función indispensable, ya que protegen al aparato fotosintético del daño fotooxidativo (Paiva and Rusell, 1999; Taíz y Zeiger, 2006; Rao y Rao, 2007). Se ha reportado que, en condiciones de estrés oxidativo, la relación clorofila:carotenoide disminuye, por lo que puede ser considerada como un biomarcador de dicha condición (Macpherson *et al.*, 2001).

El glutatión (γ -glutamilcistenilglicina, GSH) es un tripéptido abundante en las células vegetales, que se localiza en todos los compartimentos intracelulares (Mendoza-Cózatl y Moreno-Sánchez, 2006). El GSH es sintetizado por dos enzimas, γ -glutamilcisteína sintetasa (γ -ECS) y glutatión sintetasa (GS). La γ -ECS forma γ -glutamilcisteína (γ -EC) a partir de glutamato y cisteína, mientras la GS forma GSH a partir de γ -EC y glicina (Fig. 3). Ambas enzimas utilizan ATP-Mg para catalizar su reacción. El mayor punto de regulación de esta vía metabólica es la inhibición de la γ -ECS por GSH (retroinhibición). Esta inhibición es de tipo competitiva respecto al glutamato, por lo que se ha determinado que la enzima γ -ECS es la etapa limitante de esta vía (Mendoza-Cózatl y Moreno-Sánchez, 2006).

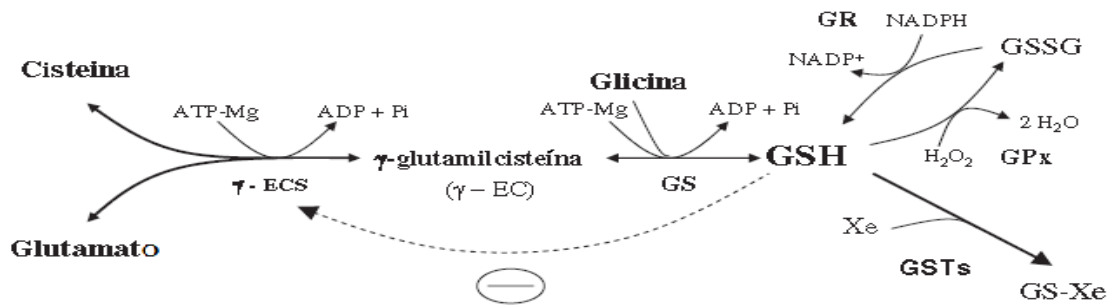


Figura 3. Síntesis de glutatión (GSH) a partir de glutamato y cisteína por la enzima γ -glutamylcisteína sintetasa (γ -ECS) y glutatión sintetasa (GS), ambas utilizan adenina trifosfato acoplado a magnesio (ATP-Mg). La γ -ECS forma gamma-glutamylcisteína (γ -EC), mientras la GS forma GSH a partir de γ -glutamylcisteína (γ -EC) y glicina. La glutatión reductasa (GR) reduce al glutatión oxidado (GSSG) a GSH, para ser empleado por la glutatión S-transferasa (GSTs) en la detoxificación de xenobióticos (Xe). También se observa la retroinhibición por GSH. ADP= Adenina difosfato, Pi= fosforo inorgánico, NADP⁺= nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidado, NADPH= nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido, GPx= glutatión peroxidasa, GS-Xe= complejo glutatión-xenobiótico, H₂O₂= peróxido de hidrógeno. Adaptado de Mendoza-Cózatl y Moreno-Sánchez, 2006.

El GSH es la forma principal de almacenamiento del sulfuro y actúa como un potente detoxificador de xenobióticos, a través de reacciones de conjugación (Schützendübel y Polle, 2002; Blokhina *et al.*, 2003; Mendoza-Cózatl y Moreno-Sánchez, 2006; Mishra *et al.*, 2009). Junto con su forma oxidada (GSSG), el GSH mantiene el equilibrio redox en los compartimentos celulares (Mendoza-Cózatl y Moreno-Sánchez, 2006; Mishra *et al.*, 2009), y participa en la regulación del ciclo celular (Schützendübel y Polle, 2002). El GSH reacciona con las ERO para prevenir la oxidación de grupos tiol en enzimas, por lo que es importante en la estabilización de muchas enzimas (Szalai *et al.*, 2009). El GSH ha sido implicado en la adaptación de las plantas a condiciones ambientales desfavorables, tales como la sequía, contaminación y temperaturas extremas (Mishra *et al.*, 2009; Szalai *et al.*, 2009).

El ascorbato (ácido ascórbico o vitamina C) es un antioxidante que se encuentra en la mayoría de las células vegetales, orgánulos y apoplasto (Noctor y Foyer, 1998). Bajo condiciones fisiológicas, el ascorbato existe principalmente en forma reducida en hojas y cloroplastos (Noctor y Foyer, 1998). El ascorbato está presente en frutas y verduras en forma de ácido L-ascórbico y ácido dehidroascórbico. Además, se ha demostrado que es un aceptor de radicales libres efectivo frente a $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , $HOCl$, HO^{\cdot} , RO_2^{\cdot} y 1O_2 (Yanishlieva-Maslarova, 2001). La capacidad de donar electrones en un amplio rango de reacciones enzimáticas y no enzimáticas hace al ácido ascórbico un detoxificador de ERO en fase acuosa (Blokhina *et al.*, 2003).

El ascorbato previene el daño oxidativo atrapando a las ERO y, como consecuencia, produciendo un radical libre, el monodehidroascorbato (MDHA), una molécula relativamente estable que reacciona preferentemente consigo misma, previniendo la propagación de radicales libres (Noctor y Foyer, 1998). El ascorbato también actúa con GSH en el ciclo glutatión-ascorbato o de Halliwell-Asada (Fig. 4). Mediante la oxidación del ascorbato a MDHA por la APX el H_2O_2 se convierte a H_2O ; el ascorbato se regenera por la enzima monodehidroascorbato reductasa (MDHAR), usando NADPH como poder reductor, el MDHA se transforma espontáneamente en dehidroascorbato (DHA), y el ascorbato se regenera en una reacción catalizada por la dehidroascorbato reductasa (DHAR), que oxida el GSH a GSSG; finalmente, la GR puede regenerar el GSH a partir del GSSG en presencia de NADPH (Cho y Seo, 2005; Mishra *et al.*, 2009). La GPx también convierte el H_2O_2 en H_2O , pero usa el GSH directamente como agente reductor. El ciclo de la GPx termina cuando el GSH es regenerado a partir del GSSH por la GR (Fig. 4, Gratão,

2005; Mishra *et al.*, 2009; Bønsayer *et al.*, 2010). El ciclo glutatión-ascorbato es esencial para la remoción del H_2O_2 , localizado en varios compartimentos subcelulares incluyendo el cloroplasto, la mitocondria, el peroxisoma, el glioxisoma y en la membrana plasmática. Las actividades de la APX y de la GR son vitales en la operación de este ciclo (Cho y Seo, 2005; Bønsayer *et al.*, 2010).

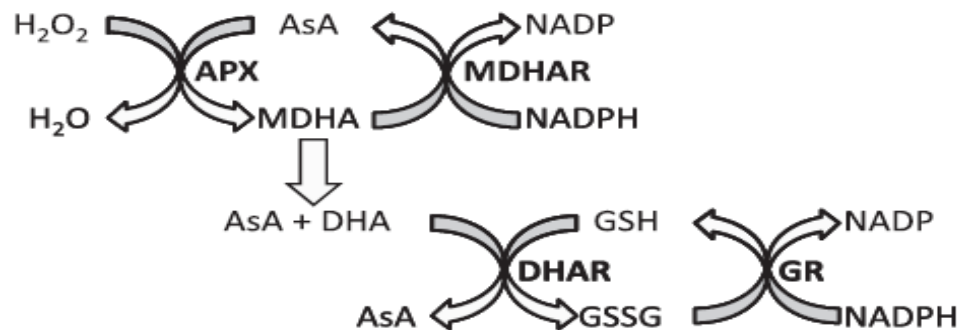


Figura 4. Ciclo glutatión-ascorbato o de Halliwell-Asada. APX, ascorbato peroxidasa; AsA, ácido ascórbico; DHA, dehidroascorbato; DHAR, dehidroascorbato reductasa; GSH, glutatión; GSSG, glutatión oxidado; GR, glutatión reductasa; MDHA, monodehidroascorbato; MDHAR, monodehidroascorbato reductasa; NADP, nicotinamida adenina difosfato oxidado; NADPH, nicotinamida adenina difosfato reducido; H_2O_2 , peróxido de hidrógeno. Tomado de Bønsayer *et al.*, 2010.

La principal función del α -tocoferol o vitamina E en todas las membranas biológicas es terminar la reacción en cadena de los radicales de ácidos grasos poliinsaturados generados durante la lipoperoxidación. Debido a que la vitamina E se incorpora en las membranas celulares, ejerce su actividad antioxidante evitando la propagación de los radicales libres, como el radical RO_2^* , entre los lípidos de membrana (Packer *et al.*, 2001). La vitamina E es parte de un sistema de ciclos redox (Fig. 5) (Constantinescu *et al.*, 1993; Packer *et al.*, 2001). La vitamina E reduce a las ERO que se generan después de detener la lipoperoxidación, para volver de nuevo a su estado nativo reducido. Ello ocurre mediante

interacciones entre las sustancias hidro- y liposolubles, junto con mecanismos enzimáticos y no enzimáticos, regenerando el radical tocotrienoxilo o tocoferoxilo de nuevo a tocotrienol o tocoferol, respectivamente. La vitamina C puede regenerar a la vitamina E directamente; los antioxidantes como el GSH pueden regenerar a la vitamina E indirectamente mediante la vía de la vitamina C (Fig. 5) (Packer *et al.*, 2001).

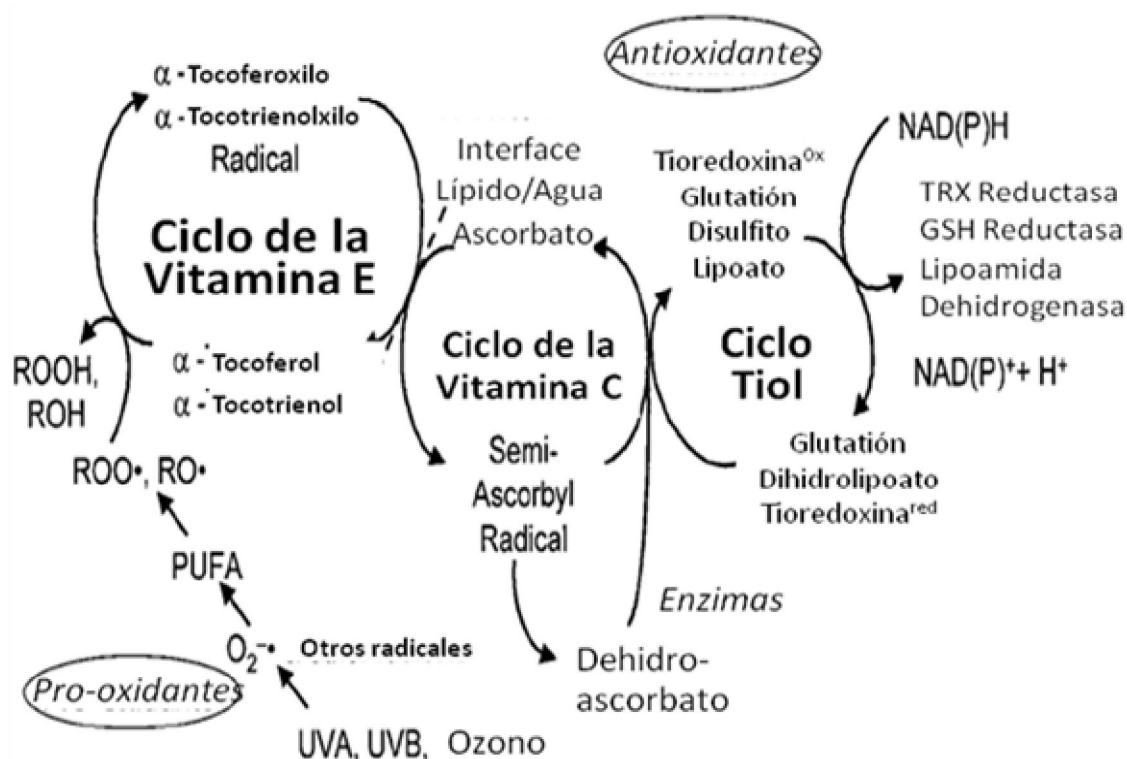


Figura 5. Ciclos de compuestos antioxidantes como vitaminas C y E, y glutatión. ROOH, hidropéroxido orgánico; ROH, alcoxilo; ROO[•], radical peróxido; RO[•], radical alcoxilo; PUFA, ácidos grasos poliinsaturados; O₂^{-•}, radical superóxido; UVA, ultravioleta tipo A; UVB, ultravioleta tipo B; NAD(P)H, nicotinamida adenina difosfato oxidado; NAD(P)⁺, nicotinamida adenina difosfato reducido; H⁺, protón; GSH, glutatión; TRX, tioredoxina. Adaptado de Packer *et al.*, 2001.

Los compuestos fenólicos se pueden agrupar dependiendo de su estructura. Los ácidos fenólicos (ácidos caféico, ferúlico, cumárico y sináptico) derivados del ácido

hidroxicinámico, y los flavonoides (chalconas, flavonas, flavonoles, flavandioles, antocianinas y taninos condensados) que comparten una estructura común de difenil piranos, permitiendo generar una multitud de variaciones para dar lugar a una gran cantidad de compuestos (Karou *et al.*, 2005; Prakash *et al.*, 2007). El vocablo *flavonoide* se refiere a un grupo aromático, el cual genera la mayoría de los colores amarillo, rojo y azul en plantas y frutas (Geleijnse y Hollman, 2008). Los flavonoides se encuentran en abundancia en frutas y verduras tales como uvas, manzanas, cebollas, cerezas, repollos, y té verde (*Camellia sinensis*) (Rietveld y Wiseman, 2003; Pourmorad *et al.*, 2006). Los flavonoides, además de su acción antioxidante, poseen una diversidad de efectos terapéuticos, incluyendo actividades cardiotónica y hepatoprotectora (Narayama *et al.*, 2001). De ellos, las flavonas (apigenina, luteolina y diosmetina) y los flavonoles (quercetina, mirecitina, kampferol) son los compuestos más abundantes en los vegetales (Sultana y Anwar, 2008). La luteolina y quercetina son fuertes antioxidantes, cuya actividad antioxidante se debe a la facilidad que poseen los compuestos fenólicos para ceder átomos de hidrógeno de un grupo hidroxilo aromático a un radical libre (German, 1999; Kumar y Kumar, 2009). Se considera que la propiedad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de su capacidad para quelar Fe y atrapar radicales libres, además de inhibir enzimas oxidasas, como lipooxigenasa, ciclooxigenasa, mieloperoxidasa y xantina oxidasa. Estas propiedades contribuyen a evitar la formación de ERO y de hidroxiperóxidos orgánicos (Escamilla-Jiménez *et al.*, 2009).

Se ha reportado que los flavonoides también inhiben procesos de lipoperoxidación generados por radicales libres y metales como iones quelados de Cu y Fe, protegen de la

oxidación a lipoproteínas y estimulan la síntesis de enzimas involucradas en la detoxificación de sustancias carcinogénicas (Hounsoume *et al.*, 2008). Además, los flavonoides estimulan fosfolipasas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, que hidrolizan el enlace éster de los glicerofosfolípidos liberando ácidos grasos, y al mismo tiempo estimulan otras enzimas antioxidantes como la CAT y la SOD (Groot y Rauhen, 1998; Sudheesh *et al.*, 1999).

Los compuestos fenólicos, en general, pueden ser modificados por varios factores, incluyendo genéticos, ambientales, de crecimiento, de almacenamiento y/o procesamiento (Pandjaitan *et al.*, 2005; Aberoumand y Deokule, 2008). En particular, la biosíntesis y regulación de los flavonoides está influenciada por factores ambientales como la radiación ultravioleta (UV), en particular la radiación UV tipo B (UV-B) (Zhang y Björn, 2009).

Los compuestos fenólicos, como los flavonoides, ácidos fenólicos y taninos, son considerados como los mejores contribuyentes de la actividad antioxidante en plantas medicinales chinas (Wong *et al.*, 2006; Geleijnse y Hollman, 2008). En una serie de ensayos de antioxidantes, incluyendo DPPH, ABTS, ORAC, FRAP sobre extractos de 30 plantas, se encontró una relación significativa entre la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos totales, lo que sugiere que los compuestos fenólicos son los principales contribuyentes de las propiedades antioxidantes en las plantas (Dudonn *et al.*, 2009). Diversos estudios apoyan la idea de que existe una alta correlación entre los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante presente en las plantas (Pandjaitan *et al.*, 2005; Djeridane *et al.*, 2006; Stratil *et al.*, 2007; Du *et al.*, 2009; Dudonn *et al.*, 2009; Huda-Faujan *et al.*, 2009; Kumar y Kumar, 2009).

2.3. Capacidad Antioxidante

La capacidad antioxidante total es una estimación del aporte de antioxidantes y de la calidad nutracéutica de un alimento, y se considera como la actividad biológica responsable del efecto preventivo contra el daño oxidativo (Arnao *et al.*, 1996; Heo *et al.*, 2007). Se ha propuesto que los compuestos antioxidantes presentes en plantas, y utilizados como aditivos alimentarios o suplementos farmacéuticos, pueden neutralizar el efecto dañino de los radicales libres a nivel celular y, por lo tanto, podrían prevenir muchas de las enfermedades asociadas a las ERO (Shewfelt y del Rosario, 2000; Elkahoui *et al.*, 2005; Sinha *et al.*, 2005; Moon y Shibamoto, 2009; Krishnaiah *et al.*, 2011; Hassanbaglou *et al.*, 2012). Sin embargo, diversos factores como el procesamiento y las condiciones de almacenamiento pueden propiciar cambios en la composición química de los productos de origen vegetal alterando sus compuestos antioxidantes (Abushita *et al.*, 1997).

2.4. Factores que Modifican la Concentración de los Compuestos Antioxidantes

2.4.1. Poblaciones

Existe una gran cantidad de factores que pueden modificar la composición de las propiedades antioxidantes de las plantas, muchos de estos factores aún no se han dilucidado por completo; entre ellas se encuentran las condiciones de crecimiento o cultivo, almacenamiento y/o procesamiento y ambientales (Frohn Mayer y Staiger, 2003; Dinkova-Kostova, 2008; Hossain *et al.*, 2010). Las plantas pueden desarrollarse en poblaciones silvestres o cultivadas. En general, la mayoría de las plantas medicinales continúan siendo cosechadas a partir de poblaciones silvestres, lo que genera en muchos casos que éstas sean sobreexplotadas. Para disminuir el impacto sobre estas poblaciones, se ha sugerido

propiciar alternativas para cultivar plantas que se utilizan en medicina tradicional (Schippmann, *et al.*, 2006). El cultivo bajo condiciones de riego, suelo y temperaturas controlados puede alterar la composición química de las plantas; la percepción general es que las plantas silvestres son más eficaces o potentes en cuanto a sus propiedades curativas en comparación con las plantas de poblaciones cultivadas (Lubbe y Verpoorte, 2011). Por ejemplo, se ha reportado que el uso de fertilizantes modifica el contenido antioxidante y de los macro- y microelementos (estos últimos también llamados oligoelementos) en las poblaciones cultivadas con respecto a las poblaciones silvestres (Toor *et al.*, 2006; Štajner *et al.*, 2008; Hu *et al.*, 2010).

2.4.2. Almacenamiento y/o Procesamiento

Desde tiempos ancestrales los productos vegetales se han sometido a diversos tipos de procesamiento para conservarlos o almacenarlos; ello puede inducir modificaciones en los productos hortofrutícolas (Gupta *et al.*, 2011). Uno de los métodos más antiguos de preservación de productos vegetales es el secado o deshidratación; la disminución del contenido de agua aumenta el periodo de almacenamiento y retarda el crecimiento microbiano (Sobukola *et al.*, 2007; Hossain *et al.*, 2010). Sin embargo, este método puede degradar y alterar la composición y apariencia de los productos hortofrutícolas mediante el estímulo de procesos enzimáticos y no enzimáticos, que pueden reflejarse en cambios en la composición de fitoquímicos y otros nutrimentos (Figiel *et al.*, 2010; Hossain *et al.*, 2010; Gupta *et al.*, 2011).

2.4.3. Condiciones Ambientales

Se ha reportado que la variación de las condiciones medioambientales y climáticas puede influir significativamente en los perfiles de composición química y nutracéutica de diferentes frutas, hortalizas y plantas medicinales (Torabinejad y Caldwell, 2000; Frohnmayer y Staiger, 2003; Raffo *et al.*, 2006; Dinkova-Kostova, 2008; Jacobo-Velázquez y Cisneros-Zevallos, 2012). Dentro de las condiciones ambientales, se encuentran: temperatura, precipitaciones, humedad, viento, radiación solar y radiación UV. Pandjaitan *et al.* (2005) sugieren que las condiciones climáticas propias de las zonas tropicales con altas temperaturas y fuerte radiación solar favorecen la síntesis de compuestos antioxidantes en las plantas como un mecanismo de defensa.

La radiación solar en la región de UV (100-400 nm) se subdivide en tres tipos; UV-A (315-400 nm), UV-B (280-315 nm) y UV-C (100-280 nm) (Diffey, 1991; Frohnmayer y Staiger, 2003). Sin embargo, la atmósfera y las condiciones ambientales (nubosidad, viento, contaminación, etc.) alteran la composición de la radiación UV que llega a la superficie terrestre, la que también puede ser afectada por factores estacionales (clima), geográficos (altitud y latitud) y meteorológicos (ángulo de incidencia del sol y las partículas presentes) (Diffey, 1991).

La radiación solar tiene efectos anatómicos, fisiológicos, morfológicos y bioquímicos sobre los organismos terrestres. En las plantas éste factor es trascendental al ser organismos fotoautótrofos, ya que las plantas son totalmente dependientes de la luz como fuente de energía (Nasibi y Kalantari, 2005). Lo anterior afecta procesos fisiológicos, morfológicos, metabólicos y bioquímicos, incluyendo la fotosíntesis, la producción de biomasa, la

estructura y la composición nutricional y nutracéutica de las plantas (Torabinejad y Caldwell, 2000; Hess *et al.*, 2002; Frohnmayer y Staiger, 2003; Tevini, 2004; Dinkova-Kostova, 2008).

La radiación UV-A atraviesa la capa de ozono casi en su totalidad y es responsable de algunos procesos en las plantas, como la síntesis de pigmentos y apertura o cierre estomático (Meisel *et al.*, 2011). La radiación UV-B es absorbida parcialmente por el ozono estratosférico; por lo cual, sólo una porción es transmitida a la superficie terrestre (Salama *et al.*, 2010) y es la responsable de generar las mayores modificaciones en las plantas. Entre estas modificaciones se observan el incremento en el contenido de compuestos antioxidantes y modificaciones en los pigmentos fotosintéticos (Torabinejad y Caldwell, 2000; Hess *et al.*, 2002; Tevini, 2004; Xu *et al.*, 2008; Kumari *et al.*, 2009; Salama *et al.*, 2010) y dependen, no sólo de la especie, sino de la variedad o cultivar de la misma (Zhang y Björn, 2009). La radiación UV-C se absorbe por el ozono y, por ello, la cantidad de este tipo de radiación en la tierra es mínima, y sus efectos han sido poco estudiados (Meisel *et al.*, 2011). Sin embargo, se ha empleado la exposición a radiación UV-C como tratamiento poscosecha a manera de germicida; se encontró que este tratamiento puede modificar el contenido de compuestos fenólicos en las plantas (Wang *et al.*, 2009).

El estudio de los efectos de la exposición a radiación UV-B en plantas se ha enfocado en su mayoría a plantas de importancia económica utilizadas para consumo (frutas y hortalizas) o incluso a plantas de ornato. La exposición a radiación UV-B modifica el contenido de los compuestos fenólicos en las plantas (Zhang y Björn, 2009). Son pocos los

estudios enfocados a los mecanismos de defensa que presentan las plantas medicinales frente a un incremento en la radiación UV (Kumari *et al.*, 2009; Kumari *et al.*, 2010; Jacobo-Velázquez y Cisneros-Zevallos, 2012). Se recomienda estudiar el efecto que pudiera tener la exposición a radiación UV-A y UV-C sobre las plantas, ya que, en algunos casos, podría ser más conveniente que la exposición a radiación UV-B para aumentar la producción de metabolitos secundarios responsables de las propiedades curativas de las plantas medicinales (Zhang y Björn, 2009).

2.5. Propiedades de las Plantas Medicinales

Las tendencias mundiales en la alimentación, en los últimos años, indican un interés de los consumidores hacia alimentos que, además de contener nutrientes, contengan sustancias fisiológicamente activas que cumplan una función benéfica ante enfermedades (Kaur y Kapoor, 2001; Hassanbaglou *et al.*, 2012; Mercado-Mercado *et al.*, 2013). Muchas especies vegetales poseen características medicinales debido a sus propiedades antioxidantes, ya que contienen grandes cantidades de compuestos fenólicos o polifenoles (Djeridane *et al.*, 2006). El contenido de antioxidantes naturales en los alimentos y su función en los sistemas biológicos ha recibido mucha atención durante la última década (Mahattanatawee *et al.*, 2006; Pourmorad *et al.*, 2006; Fonnegra *et al.*, 2007; Tavarini *et al.*, 2008; Hassanbaglou *et al.*, 2012; Mercado-Mercado *et al.*, 2013).

Se ha sugerido que los alimentos de origen vegetal desempeñan un papel importante en la dieta brindando protección contra el daño celular causado por la exposición a altas concentraciones de radicales libres. Este efecto benéfico en la salud se ha atribuido principalmente al hecho de que estos alimentos contienen una serie de antioxidantes, como

vitamina C (ácido ascórbico) y vitamina E (α -tocoferol), carotenoides, compuestos fenólicos, flavonoides y carbohidratos complejos (Tavarini *et al.*, 2008; Mercado-Mercado *et al.*, 2013). Por otra parte, los extractos crudos de las plantas medicinales, hierbas y especias, así como otros vegetales ricos en resinas fenólicas, se utilizan en la industria alimentaria porque retardan la degradación de lípidos, mejorando la calidad y el valor alimenticio del producto (Salazar *et al.*, 2008).

Los estudios realizados en plantas medicinales y vegetales apoyan la idea de que los constituyentes de las plantas con actividad antioxidante son capaces de tener efectos protectores contra el estrés oxidativo en los sistemas biológicos, neutralizando el efecto dañino de los radicales libres y previniendo las enfermedades asociadas a las ERO (Rietveld y Wiseman, 2003; Svilaas *et al.*, 2004; Karou *et al.*, 2005; Pourmorad *et al.*, 2006; Khalaf *et al.*, 2008; Veeru *et al.*, 2009; Krishnaiah *et al.*, 2011; Hassanbaglou *et al.*, 2012). En los últimos años, el conocimiento de los antioxidantes en las plantas y los factores que los modifican, ha generado la expectativa de que el empleo de ciertos factores abióticos (por ejemplo, la radiación UV) sobre las plantas de manera inducida y controlada, sea una alternativa efectiva para incrementar el contenido de algunos compuestos de interés, haciendo de las plantas biofábricas de compuestos nutraceuticos (Jacobo-Velázquez y Cisneros-Zevallos, 2012).

2.6. *Damiana*

La *damiana* es un arbusto caducifolio perteneciente a la familia Turneraceae (Fig. 6, Tabla II). Esta familia incluye a las especies *Turnera pumilia*, *T. vetulina*, *T. callosa*, *T.*

ulmifolia, *T. diffusa* y *T. palmeri* (Alcaraz-Meléndez *et al.*, 2003). *T. diffusa* es la especie de mayor importancia económica (Alcaraz-Meléndez y Real-Cosío, 1992; Vázquez, 1993; Alcaraz-Meléndez *et al.*, 2003). Esta planta se ha identificado bajo los nombres populares de hierba de la pastora, hierba del venado, itamo real, y pastorcilla. Sin embargo, se considera el nombre común en México como damiana y su nombre científico *Turnera diffusa* Willd, clasificada en 1820 (Alcaraz-Meléndez *et al.*, 2003; Alcaraz-Meléndez *et al.*, 2011).

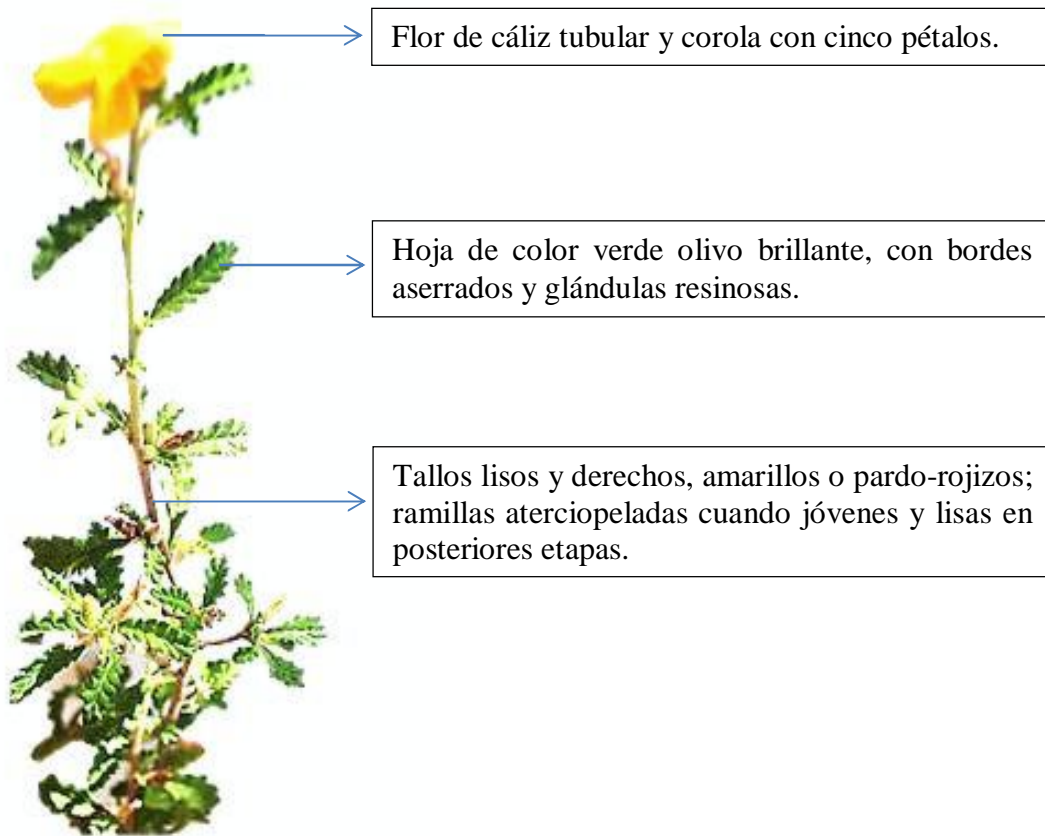


Figura 6. Morfología de las plantas de damiana (*Turnera diffusa*). Imagen propia.

Tabla II. Clasificación taxonómica de la damiana (*Turnera diffusa*, Alcaraz-Meléndez *et al.*, 2011).

Reino:	Vegetal
División:	Tracheopyta
Subdivisión:	Angiospermas
Clase:	Dicotiledoneae
Subclase:	Arquiclamideas
Orden:	Violales
Familia:	Turneracea
Género:	<i>Turnera</i>
Especie:	<i>Diffusa</i>

Esta planta generalmente mide entre 0.3 y 2 m de altura. Los tallos lisos y derechos, son amarillos o pardo-rojizos, con ramillas aterciopeladas cuando jóvenes y lisas en etapas tardías o de maduración (Thomson, 1980). Las hojas de la damiana son simples, de color verde olivo brillante, con bordes aserrados que miden de 1.0 a 2.5 cm, y presentan nervaduras prominentes por el envés e impresas en el haz (Fig. 6) (Alcaraz-Meléndez *et al.*, 2003). Las flores son amarillas con cinco pétalos, solitarias y miden aproximadamente 8 mm (Fig. 6) (Alcaraz-Meléndez *et al.*, 2003). Los frutos de *T. diffusa* son capsulares, ovoides, con tres valvas de aproximadamente 5 mm, que al madurar se abren para liberar de tres a cuatro semillas de 2 mm de longitud (Wiggins, 1980; León y Coria, 1992; Piña-Puente, 1993; Vázquez, 1993; Osuna-Leal y Meza-Sánchez, 2000; Alcaraz-Meléndez *et al.*, 2003; Alcaraz-Meléndez y Véliz-Murillo, 2006).

La explotación de damiana en el estado de BCS continúa siendo en rodales silvestres, pudiendo ser cosechada únicamente cuando la planta tiene hojas, en temporadas de lluvias. Las lluvias en BCS son escasas y erráticas, lo cual genera que la temporada de recolección y la cantidad de cosecha varíe considerablemente entre estaciones y de un año a otro (Osuna-Leal y Meza-Sánchez, 2000; Alcaraz-Meléndez y Véliz-Murillo, 2006). A pesar de

que no existen datos oficiales en cuanto a la producción y exportación de la cosecha de damiana (Gámez *et al.*, 2010), se estima una producción potencial de 500 toneladas anuales (Alcaraz-Meléndez y Véliz-Murillo, 2006).

Los tallos y hojas de *T. diffusa* se cortan para hacer manojos que se trasladan al lugar de secado, a la sombra a temperatura ambiente (40-45°C), ya que las hojas pierden el color adecuado para el mercado si son secadas directamente al sol (Sandoval, 1982; Alcaraz-Meléndez y Véliz-Murillo, 2006). La producción de hojas secas de damiana en el mercado procede de las poblaciones silvestres de varios Estados, pero entre los consumidores hay una clara preferencia por la procedente de BCS (Sandoval, 1982; Osuna-Leal y Meza-Sánchez, 2000; Alcaraz-Meléndez y Véliz-Murillo, 2006; Gámez *et al.*, 2010).

La damiana se ha utilizado desde 1874 como planta medicinal dentro de la herbolaria mexicana tradicional (Sandoval, 1982). Esta planta se consume especialmente en la península de Baja California por sus aparentes propiedades benéficas en el aparato génitourinario, específicamente órganos como la vejiga y los riñones. Además, se le considera como una planta con propiedades afrodisiacas (Sandoval, 1982; Osuna-Leal y Meza-Sánchez, 2000).

La especie *T. diffusa* es de importancia económica a escala industrial, ya que las hojas y sub-productos son objeto de consumo en varios países (Sandoval, 1982; Osuna-Leal y Meza-Sánchez, 2000; Alcaraz-Meléndez *et al.*, 2003; Alcaraz-Meléndez y Véliz-Murillo, 2006). Su uso principal es en la elaboración de bebidas de infusión (tés) y el tradicional licor de damiana (Sandoval, 1982; Alcaraz-Meléndez y Real-Cosío, 1992; León y Coria,

1992; Parra-Hake, 1993; Piña-Puente, 1993; Alcaraz-Meléndez *et al*, 2003). En la actualidad, se pueden encontrar en el mercado una serie de productos con damiana o elaborados a base de ésta; como por ejemplo, licor, crema, helado, yogur, chocolates y jabones de barra (Fig. 7).



Figura 7. Productos elaborados a base de damiana (*Turnera diffusa*) en el estado de Baja California Sur (Grupo Arari de B.C.S., S.A. de C.V.). Parte superior izquierda: licores y crema de damiana; parte superior derecha: té en sobre y tés fríos embotellados; parte inferior izquierda: chocolates; parte inferior central: jabones; parte inferior derecha: jalea.

La damiana es un arbusto caducifolio que se desarrolla en zonas áridas y semi-áridas, encontrándose en varios países de América, incluyendo las Antillas, América del Sur,

Estados Unidos y México (Wiggins, 1980; Alcaraz-Meléndez y Real-Cosío, 1992; León y Coria, 1992; Alcaraz-Meléndez *et al.*, 2003). En México, se distribuye principalmente en climas calurosos, en zonas áridas y semiáridas, en los estados de BCS, Nuevo León (NL), Guerrero, San Luis Potosí, Coahuila, Chihuahua, Sinaloa, Sonora, Nayarit, Tamaulipas, Querétaro y Zacatecas (Alcaraz-Meléndez *et al.*, 2011).

En BCS, la damiana se encuentra en la región de Los Cabos, donde la vegetación es matorral xerófilo y selva baja caducifolia. También se encuentra en el área de amortiguamiento de la reserva de la biosfera de la Sierra de La Laguna (Fig. 8) (Arriaga y Ortega, 1988; Alcaraz-Meléndez *et al.*, 2003). En las zonas de desarrollo de la damiana, la temperatura media anual es de 22 a 24°C y la precipitación media anual de 180 a 267 mm; los suelos son de textura ligera, de migajón arenoso a arena migajonosa, con pH ligeramente alcalino, y pobres en nitrógeno (N) (Wiggins, 1980; Alcaraz-Meléndez *et al.*, 2003).

Debido a que la forma de explotación de la damiana continúa siendo en rodales silvestres, además de ser sobreexplotada por los recolectores, encontrar esta planta es cada vez más difícil. Se han realizado investigaciones para domesticar o propagar a las plantas de damiana y, de esta forma, incrementar las poblaciones naturales implementando programas de reforestación a gran escala y bajo sistemas de cultivo (Alcaraz-Meléndez y Real-Cosío, 1992). Con ello, se han transformado a las poblaciones silvestres en ecocultivos, los cuales en la actualidad se encuentran en las zonas de El Carrizal y Todos Santos, al Sur de la Ciudad de La Paz (Alcaraz-Meléndez, 1999).

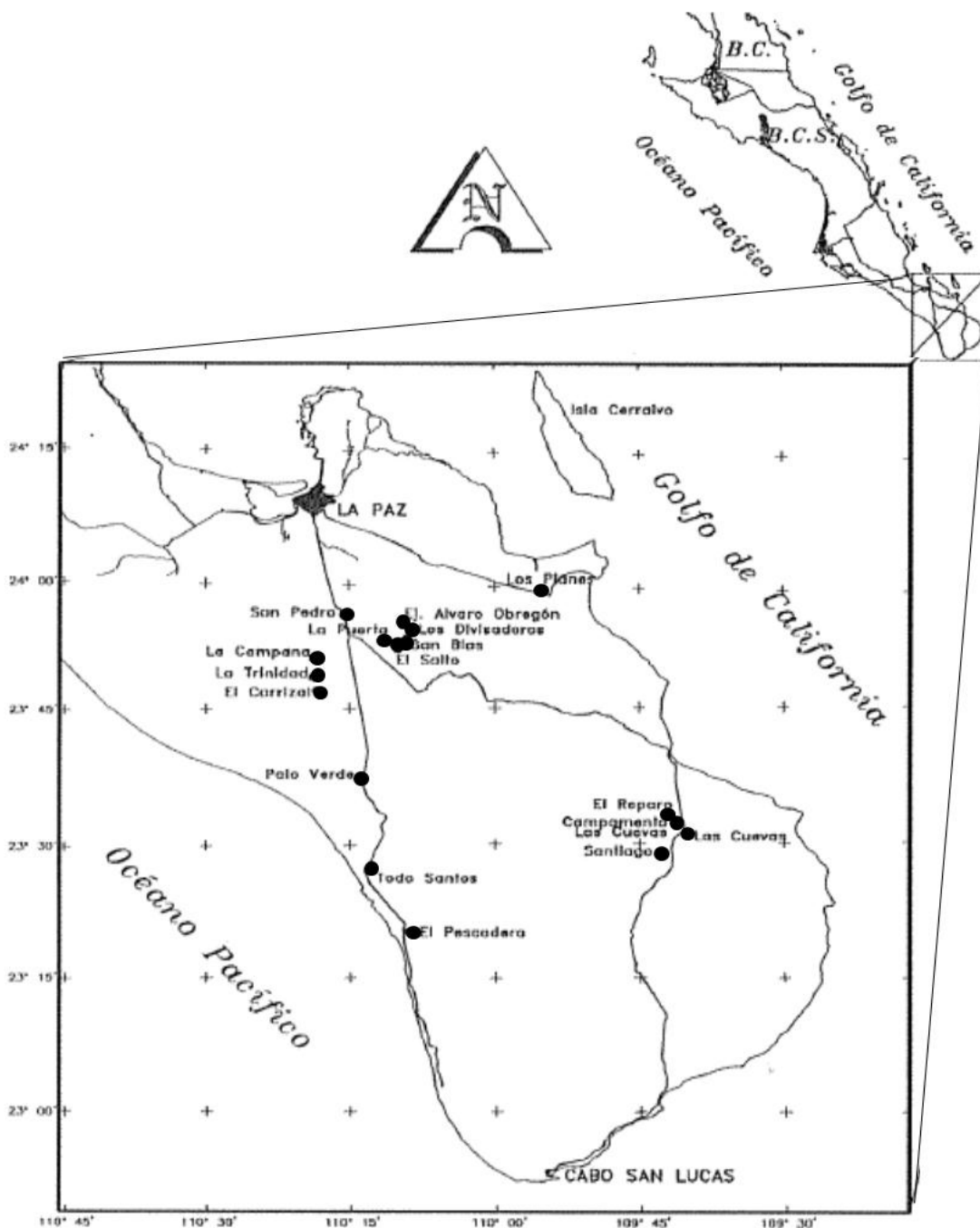


Figura 8. Ubicación de poblaciones silvestres de damiana (●) en el Estado de Baja California Sur. Modificado de Alcaraz-Meléndez y Véliz-Murillo (2006).

Las plantas de damiana contienen clorofila, resinas (una amarga y una colorante), goma, almidón, taninos y sales minerales (Cabrera, 1986). Las hojas secas y los extractos

de la damiana son muy aromáticos debido a los aceites esenciales que contienen (Alcaraz-Meléndez, 1999; Alcaraz-Meléndez *et al.*, 2004; Alcaraz-Meléndez *et al.*, 2007; Saranz-Camargo, *et al.*, 2008). Domínguez e Hinojosa (1976) detectaron en extractos etanólicos de damiana la presencia de α -pineno, β -pineno, triacontano, β -sitosterol, triacosanona, acetovainillina, hexacosanol-1 y 5-hidroxi-7, 3',4'-trimetroxiflavona, y en un extracto con etanol y cloroformo detectaron β -sitosterol y un flavonoide denominado gonzalitosin I. Spencer y Seigler (1981) detectaron la presencia de un glicósido cianogénico identificado como tetrafilina B.

En infusiones de las partes aéreas de *T. diffusa* se obtuvieron y determinaron, mediante cromatografía en columna de Sephadex LH-20, las estructuras de compuestos flavonoides, incluyendo un compuesto llamado luteolin-8-C- α -l-ramnopiranosil(152)quinovopiranosido (Piacente *et al.*, 2002). Este mismo compuesto, que no se ha reportado en otra especie vegetal, ha sido descrito recientemente como 8-C- β -[6-deoxi-2-O-(α -1-ramnopiranosil)-xilohexopiranos-3-ulosido] de luteolina, presenta actividad antioxidante similar a la quercetina y los autores sugieren que este compuesto puede ser un biomarcador para identificar plantas de damiana y la calidad de éstas (Garza-Juárez *et al.*, 2010). Se ha sugerido que las propiedades antiulcerogénicas de la damiana se deben a su alto contenido de compuestos flavonoides (Lewis y Hanson, 1991; Yesilada *et al.*, 2000; Piacente *et al.*, 2002).

3. JUSTIFICACIÓN

Las propiedades biológicas de plantas medicinales, como la damiana, se atribuyen principalmente a la cantidad y diversidad de compuestos antioxidantes que poseen. La composición de las plantas medicinales depende de factores bióticos y abióticos, entre los cuales figuran las características edáficas de la región de cultivo, las condiciones de cultivo, las condiciones del clima o condiciones medioambientales, la fase vegetativa, las condiciones de almacenamiento y/o procesamiento. El análisis y comparación de la composición y contenido antioxidante de la flora de diferentes sitios de cultivo, países y zonas geográficas, así como los cambios generados por factores medioambientales, de procesamiento y de almacenamiento, permite establecer las mejores condiciones de cultivo para maximizar el contenido de antioxidantes en plantas medicinales.

Se han atribuido a la damiana propiedades medicinales; sin embargo, se desconoce el sustento bioquímico de estas cualidades. El análisis de la composición nutricional y propiedades antioxidantes de la damiana contribuye al conocimiento de los compuestos responsables de sus propiedades medicinales. La comparación de la composición y contenido antioxidante de la damiana bajo diferentes condiciones de cultivo, de diferentes zonas geográficas, y el efecto de la exposición a dosis conocidas de UV permite sugerir condiciones de cultivo para aumentar el contenido de antioxidantes y la eficacia de la planta. Por lo tanto, la meta de este trabajo fue generar información crítica para el cultivo, uso y comercialización de la damiana.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Determinar los compuestos antioxidantes enzimáticos (SOD, CAT y POX) y no enzimáticos (macro- y microelementos, pigmentos fotosintéticos, vitaminas C y E, compuestos fenólicos), la capacidad antioxidante total y el daño oxidativo (TBARS y carbonilos proteicos) en damiana (*T. diffusa*) bajo diferentes condiciones ambientales, de cultivo y manejo poscosecha.

4.2. Objetivos Particulares

1.- Determinar los compuestos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, la capacidad antioxidante total y el daño oxidativo en damiana (*T. diffusa*) de dos poblaciones silvestres (El Carrizal y Todos Santos) del Estado de Baja California Sur y compararla con plantas cultivadas en condiciones experimentales (CIBNOR).

2.- Determinar y comparar los compuestos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, la capacidad antioxidante total y el daño oxidativo en damiana (*T. diffusa*) en fresco y en seco (procesada o deshidratada).

3.- Determinar y comparar los compuestos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, la capacidad antioxidante total y el daño oxidativo en damiana (*T. diffusa*) de los Estados de Baja California Sur y Nuevo León.

4.- Determinar el efecto de la radiación UV (B y C) sobre la concentración de los compuestos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, la capacidad antioxidante total y el daño oxidativo en damiana (*T. diffusa*) en condiciones *in vitro*.

5. HIPÓTESIS

Si las condiciones ambientales, de cultivo y manejo poscosecha propician un estado de estrés oxidativo, entonces las plantas de damiana (*T. diffusa*) de diferentes poblaciones, deshidratadas y expuestas a radiación UV modificarán su contenido antioxidante como mecanismo de defensa.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Material Biológico y Tratamientos

Se colectaron muestras de 15 plantas de damiana (n=15 por sitio de colecta) del campo experimental del CIBNOR (24° 08' N, 110° 25' W, 5 msnm), El Carrizal (23° 45' N, 110° 16' W, 180 msnm) y Todos Santos (23° 27' N, 110° 13' W, 45 msnm) en BCS en Diciembre de 2009. Las plantas (n=15) de la región Bustamante-Villaldama (26°09.4'N, 100°20.2'W, 590 msnm) en el estado de NL fueron colectadas en agosto de 2010. Las plantas de damiana del CIBNOR son cultivadas y proceden de plantas silvestres introducidas de las localidades estudiadas (El Carrizal y Todos Santos) y cultivadas desde el 2001. Estas plantas son regularmente regadas (riego 1 vez por semana) y fertilizadas (con triple 17 cada 2 años). De estas plantas cultivadas se colectaron 15 muestras en total (El Carrizal, n=10 y Todos Santos, n=5). Los resultados no mostraron diferencias significativas entre las plantas cultivadas originadas de dos sitios diferentes; por lo cual, para este estudio fueron agrupadas y consideradas como una misma población (CIBNOR). Todas las muestras fueron colectadas, guardadas en bolsas de plástico y colocadas en hielo para su transporte al laboratorio donde fueron almacenadas en ultracongelación a -80°C hasta su posterior análisis. De cada planta se separaron las hojas y los tallos; una porción del material se procesó en fresco y otra se secó a 40°C durante 48 horas (h) en un horno, y todas las muestras fueron pulverizadas previamente al análisis; las muestras frescas con N₂ líquido y las muestras secas mediante el uso de un procesador de alimentos. Todos los ensayos se hicieron por triplicado.

6.2. Diseño Experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado, con un diseño factorial de 15 plantas por 4 zonas de cultivo (CIBNOR, Todos Santos, El Carrizal, NL) en 2 diferentes tejidos (hojas y tallos), en 2 condiciones (fresco y seco) y con 3 repeticiones. La unidad experimental fue la mezcla homogénea de tallos u hojas de cada una de las plantas de damiana.

6.3. Análisis Físico

6.3.1. Determinación del Porcentaje de Humedad

Se llevó a cabo la determinación del contenido de humedad, tanto en hojas como en tallos, de las plantas de damiana. Para ello, se consideró el peso inicial y el peso después de la deshidratación de los tejidos a 40°C durante 48 h. El contenido de humedad fue calculado a partir de la pérdida de peso y expresado en porcentaje (Sathishkumar *et al.*, 2009).

6.4. Análisis Bioquímico

6.4.1. Determinación de Macroelementos y Microelementos

Para la determinación de los macro- y microelementos, se pesaron 500 mg de cada uno de los tejidos de damiana, únicamente en base seca. Éstos fueron digeridos durante 10 min con 10 mL de HNO₃ y 2 mL de H₂O₂ en un horno de microondas (CEM MARS 5X, EUA). Posteriormente, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y las muestras fueron aforadas a 50 mL con agua desionizada. Las muestras se analizaron por espectrofotometría de absorción atómica con flama de aire/acetileno (GBC, Avanta, Australia) y lámpara multielemento. Se analizaron en paralelo curvas de calibración de estándares para Mg, Cu,

Zn, Fe, Cd y Pb (Sigma). Se utilizaron estándares certificados de algas (International Atomic Energy Agency, Analytical Quality Control Services, Vienna, Austria) y la recuperación fue >96% para los elementos estudiados. Los límites de detección fueron para [Fe] >0.125 mg Kg⁻¹, [Zn] >0.030 mg Kg⁻¹, [Mg] >2 mg Kg⁻¹, [Cu] >0.060 mg Kg⁻¹, [Cd] >0.05 mg Kg⁻¹ y [Pb] >0.125 mg Kg⁻¹. La digestión y determinación de macro- y microelementos se basó en la normatividad de la Environmental Protection Agency (EPA) (1994 y 1996).

6.4.2. Determinación de la Actividad de las Enzimas Antioxidantes

Para la determinación de la actividad de las enzimas SOD y CAT, se pesaron 500 mg de cada uno de los tejidos de damiana bajo las condiciones antes especificadas, y se homogenizaron en frío con 4 mL de la solución amortiguadora de fosfatos (K₂HPO₄, 50 mM, pH 6.8) y 0.2 g de polivinilpirrolidona (PVP). El homogenizado se centrifugó a 2,200 x g por 20 min a 4°C (Sorvall Legend RT, Newtown, CT, EUA) Beyer y Fridovich, 1987). El sobrenadante se empleó inmediatamente para cuantificar la actividad de las enzimas antioxidantes.

6.4.2.1. Actividad Enzimática de Superóxido Dismutasa Total

Para determinar la actividad enzimática de SOD se empleó el método propuesto por Suzuki (2000) generando O₂^{•-} de manera constante mediante el sistema xantina/xantina oxidasa. Cuando el O₂^{•-} entra en contacto con el nitroazul de tetrazolio (NBT) lo reduce, formando así un compuesto llamado formazán, cuyo cambio en la absorbancia es detectado cuando la SOD inhibe la reducción del NBT. Una unidad de SOD se define como la cantidad de enzima necesaria para inhibir el 50% de la reducción de O₂^{•-} con el NBT. En

una celda de plástico se mezcló 1.45 mL de la solución de trabajo (solución amortiguadora sodio-carbonato 50 mM, xantina 0.1 mM, NBT 0.025 mM, EDTA 0.1 mM), xantina oxidasa (1 U mL⁻¹ en sulfato de amonio) y 25 µL del extracto enzimático. Posteriormente, se registró el cambio en la absorbancia cada 30 seg durante 5 minutos en un espectrofotómetro (Beckman Coulter DU-800, CA, EUA) a 560 nm. Una unidad de actividad se definió como la cantidad de SOD necesaria para inhibir el 50% de la máxima reacción del O₂^{•-} con el NBT. La actividad de SOD se expresó en U de SOD mg⁻¹ de proteína.

6.4.2.2. Actividad Enzimática de Catalasa

La determinación de la actividad de la enzima CAT se basa en su capacidad para descomponer el H₂O₂ en agua y oxígeno, por lo que se cuantificó el decremento de la concentración del H₂O₂ a 240 nm siguiendo la metodología propuesta por Aebi (1984). Los reactivos se mantuvieron en un baño de agua a 25°C. La solución de trabajo se preparó en fresco utilizando H₂O₂ (20 mM) y solución amortiguadora de fosfatos (100 mM). En una celda de cuarzo se mezcló 1.5 mL de la solución de trabajo con 10 µL del extracto enzimático y se registró el cambio en la absorbancia a 215 nm cada 15 seg durante 3 min en un espectrofotómetro (Beckman Coulter DU 800). Una unidad de CAT se definió como la cantidad de enzima necesaria para reducir 1 µmol de H₂O₂ por min. La actividad enzimática se expresó en U de CAT mg⁻¹ de proteína.

6.4.2.3. Actividad Enzimática de las Peroxidasas Totales

La actividad de las enzimas POX se determinó mediante la técnica descrita por Kar y Mishra (1976). Hojas y tallos (1 g) fueron homogeneizados con solución amortiguadora de

fosfatos (0.1 M, pH 6.8). El homogeneizado fue centrifugado a $17,000 \times g$ durante 15 min a 4°C (Sorvall Legend RT, Newtown, CT, EUA); el sobrenadante fue colectado y empleado para los análisis posteriores. La mezcla de reacción contuvo de 1350 μL de agua, 125 μL de solución amortiguadora de fosfatos (KHPO_4 , 125 μM , pH 6.8), 150 μL de pirogalol (50 μM), 500 μL de H_2O_2 (50 μM) y 500 μL del extracto enzimático. Después, la mezcla de reacción fue incubada por 1 min a 25°C , la reacción se detuvo con la adición de 500 μL de H_2SO_4 (5%, v/v). La actividad fue determinada espectrofotométricamente a 420 nm (Beckman Coulter DU 800). Una unidad de actividad de POX fue definida como la cantidad de enzima requerida para incrementar 0.1 unidades de absorbancia. La actividad de POX fue expresada como U de POX mg^{-1} de proteína.

6.4.3. Determinación de Compuestos Antioxidantes No Enzimáticos

6.4.3.1. Clorofila *a*, Clorofila *b* y Carotenoides Totales

Para el análisis de clorofilas (*a* y *b*) y carotenoides se empleó la técnica de Lichtenthaler y Wellburn (1983). Se pesaron 250 mg de las muestras de damiana y se utilizaron para la extracción de los pigmentos y compuestos fenólicos empleando 2.5 mL de una solución de agua:metanol:acetona (2:3:5) en frío y con protección de la luz. Las muestras fueron puestas en agitación por 1 h y posteriormente se filtraron a través de filtros de acetato de celulosa de 0.45 μm de porosidad. Las clorofilas (*a* y *b*) y carotenoides pueden determinarse mediante espectrofotometría colorimétrica registrando la absorbancia a 666, 653 y 470 nm en un lector de microplacas (BioRadTM modelo 550, Japón). Las concentraciones de clorofila *a*, clorofila *b* y carotenoides totales fueron calculadas mediante la siguiente fórmula:

$$\begin{aligned}C_a &= 15.65 A_{666} - 7.34 A_{653} \\C_b &= 27.05 A_{653} - 11.21 A_{666} \\C_{x+c} &= (1000 A_{470} - 2.86 C_a - 129.2 C_b)/245\end{aligned}$$

En donde C_a , C_b y C_{x+c} representan las concentraciones de clorofila *a*, clorofila *b* y carotenoides totales (xantofilas + carotenos), respectivamente, expresadas en $\mu\text{g mL}^{-1}$ de extracto. Estos valores fueron transformados para expresar finalmente los resultados de μg de clorofila o carotenoides g^{-1} de tejido.

6.4.3.2. Determinación de Vitamina C (Ácido Ascórbico) por HPLC

El contenido de vitamina C (L- ácido ascórbico) en *T. diffusa* se determinó por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), adaptado de Carvajal *et al.* (1997), Ledezma-Gairaud (2004) y Agilent Technologies (2001), utilizando un cromatografo Waters (Waters, Milford, MA, EUA). Cada muestra (200 mg) se extrajo con 1 mL de la solución de extracción (ácido metafosfórico al 3%, ácido acético al 8% y EDTA al 0.01 M). Las muestras se homogenizaron, se dejaron en reposo 40 min en frío y protegidas de la luz. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a $23,895 \times g$ durante 15 min a 4°C (Sorvall Legend RT, EUA) y el sobrenadante obtenido fue filtrado con ayuda de filtros de celulosa de $0.45 \mu\text{m}$.

Se inyectaron $10 \mu\text{L}$ de cada muestra al HPLC (Waters, Milford, MA, EUA) empleando una columna de separación BDS HYPERSYL C8 de $5 \mu\text{m} \times 250 \text{ mm}$ de longitud $\times 4.6 \text{ mm}$ de diámetro interno. Se utilizó un sistema de separación por gradiente empleando 2 fases móviles de separación, agua desionizada pH 2.4 con H_2SO_4 y acetonitrilo (grado HPLC al 100%). Todos los resultados fueron obtenidos a 245 nm de

longitud de onda. Los cálculos se realizaron utilizando la ecuación de la recta mediante gráficos de área y concentración derivados de una curva de calibración de ácido L-ascórbico (vitamina C, de 5 a 200 ng μL^{-1} , Sigma). Los resultados fueron expresados como mg de ácido ascórbico g^{-1} de tejido.

6.4.3.3. Determinación de Vitamina E (α -Tocoferol) por HPLC

Para la determinación de vitamina E, se emplearon 0.5 g de tejido (hojas y/o tallos en fresco y/o en seco) a los cuales se les añadió 1 g de sulfato de sodio anhidro, 7 mL de hexano, 4 mL de etanol (grados HPLC) y 2 mL de agua destilada. Después se homogenizó durante 1 min (Polytron, PT 3100, EUA). Al homogenizado se le adicionó 200 μL de butilhidroxitolueno (BHT, 12.5% p/v en acetona). La muestra fue centrifugada a $2,200 \times g$ por 10 min a 25°C (Sorvall Legend RT, Newtown, CT, EUA). Se separaron las dos fases obtenidas y al sobrenadante se le adicionó 7 mL de hexano para volver a lavar el extracto. Se agitó en un vortéx por 30 seg y se centrifugó nuevamente en las mismas condiciones (Sorvall Legend RT, EUA). Se recuperó el sobrenadante y se mezcló con el obtenido anteriormente. La mezcla final se evaporó (Centrivap evaporator LabConco, Missouri, EUA) a 40°C por 30 min. Al concentrado obtenido se le adicionó 12 mL de etanol, 800 μL de pirogalol (1% p/v) y 2 mL de hidróxido de potasio (50% p/v), se mezcló y se colocó en baño de agua a 65°C por 15 min. Al terminar, se enfrió en baño de hielo para detener la reacción. A cada muestra se le adicionó 800 μL de BHT (12.5% p/v en acetona), 7 mL de hexano, 5 mL de agua desionizada y se agitó durante 10 seg para un nuevo lavado. Se recuperó el sobrenadante y se evaporó a sequedad con corriente de nitrógeno. La muestra obtenida se eluyó con 200 μL de acetonitrilo. La muestra se filtró con filtros de acetato de

celulosa de 0.45 μm de porosidad. Durante todo el procesamiento, las muestras fueron protegidas de la luz. Se inyectó 10 μL de la muestra en el HPLC (Waters, Milford, MA, EUA) (Alava, *et al.*, 1993).

Para la cuantificación de la vitamina E se empleó una columna de separación BDS HYPERSYL C8 de 5 μm x 250 mm de longitud x 4.6 mm de diámetro interno en un cromatógrafo Waters (Waters, Milford, MA, EUA). Se utilizó un sistema de separación con acetonitrilo (grado HPLC al 100%). Todos los resultados fueron obtenidos a 280 nm de longitud de onda. Los cálculos se realizaron utilizando la ecuación de la recta mediante gráficos de área y concentración derivados de una curva de calibración de α -tocoferol (vitamina E, 5-200 $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$).

6.4.3.4. Determinación de Compuestos Fenólicos (Flavonoides) por HPLC

La determinación de flavonoides en plantas de *damiana* se realizó de acuerdo al método descrito por Crozier *et al.* (1997). Los flavonoides se extrajeron utilizando 0.5 g de hojas o tallos en fresco y/o seco, posteriormente se mezclaron con 20 mL de metanol al 60%; a cada extracto se le adicionó 5 mL de HCl (6N). Posteriormente, los extractos se sometieron a reflujo continuo durante 2 h a 90°C. Finalmente, los extractos se filtraron con papel filtro Whatman de 0.45 μm antes de ser inyectados al HPLC (Waters, Milford, MA, EUA) (Mustafa *et al.*, 2010). Los flavonoides se cuantificaron usando HPLC fase-reversa con una columna C18 con las siguientes dimensiones: 3.9 μm x 300 mm y 10 μm de diámetro interno (Waters, Milford, MA, EUA). Se utilizó como fase móvil una mezcla de metanol/agua (50:50 v/v, pH 2.5 con ácido trifluoroacético, TFA) y un detector UV a 280

nm con un flujo de 1 mL min⁻¹. Se utilizaron flavonoides comerciales como estándares (catequina, epicatequina, kaemferol, quercetina y miricetina, Sigma-Aldrich) para identificar el tiempo de retención y cuantificar las áreas de los compuestos presentes en los extractos. La concentración de los flavonoides fue calculada de acuerdo a Tee y Lim (1990).

6.4.3.5. Determinación de Compuestos Fenólicos Totales

Para la extracción de los compuestos fenólicos se pesaron 250 mg de las muestras de damiana, se les adicionó 2.5 mL de una solución de agua:metanol:acetona (2:3:5) en frío y se protegieron de la luz. Las muestras fueron incubadas en agitación por 1 h a 4°C y, posteriormente, se filtraron con jeringas y filtros de acetato de celulosa de 0.45 µm de porosidad. El contenido de compuestos fenólicos totales se determinó usando el reactivo de Folin-Ciocalteu mediante la técnica descrita por Singleton y Rossi (1965). En una microplaca se mezcló una alícuota de cada uno de los extractos hidroalcohólicos (10 µL) con 15 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu (previamente diluido con agua desionizada a 1:1 v/v); se incubó por 1 min antes de adicionar 100 µL de carbonato de sodio (Na₂CO₃, al 2%, p/v) y 100 µL de una solución de hidróxido de sodio (NaOH, al 0.4% p/v). La mezcla de reacción fue incubada por 20 min a temperatura ambiente y protegida de la luz antes de leer la absorbancia a 750 nm en un lector de microplacas (BioRadTM modelo 550). Se generó una curva patrón de ácido gálico (de 50 a 300 mg mL⁻¹, Merck) para expresar el contenido total de compuestos fenólicos como equivalentes de ácido gálico (EAG) en mg g⁻¹ de tejido.

6.4.4. Determinación de la Capacidad Antioxidante Total

La determinación de la capacidad antioxidante total se basa en la evaluación de la capacidad del extracto de las hojas y tallos de damiana para atrapar radicales libres, de acuerdo al método descrito por Brand-Williams *et al.* (1995) (Fig. 9). Se preparó una solución de 2,2-difenil-2-picril-hidracil (DPPH 125 μM) en metanol. En microplacas, se mezclaron 50 μL de cada extracto hidroalcohólicos de damiana (de hojas o de tallos) y 150 μL de la solución de DPPH. La capacidad antioxidante total fue determinada por el decremento de la absorbancia a 515 nm en un lector de microplacas (BioRadTM modelo 550). Se realizó una curva patrón de ácido gálico (de 5 a 100 μM , Merck) para expresar los resultados como la capacidad antioxidante equivalente de ácido gálico en $\mu\text{M g}^{-1}$ de tejido (CAEA).

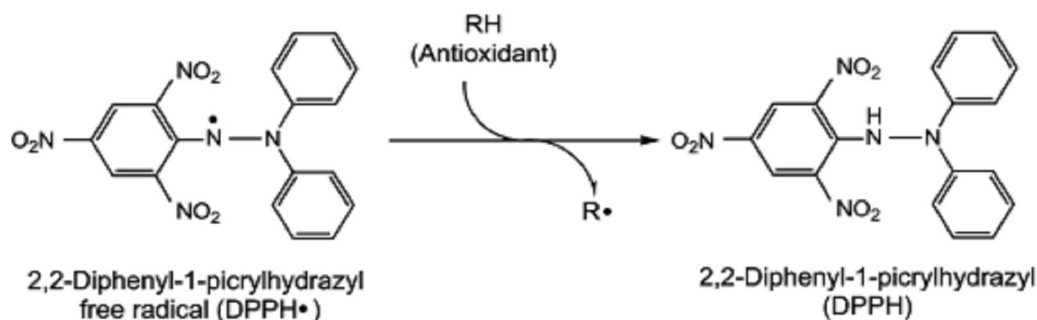


Figura 9. Reacción entre el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH•) y antioxidantes para la formación de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo no radical (DPPH). Modificado de Moon y Shibamoto (2009).

6.4.5. Lipoperoxidación

Los hidroperóxidos y aldehídos lipídicos que resultan de la peroxidación de la membrana celular reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBA) para formar un compuesto colorido rosa cristalino con absorción de 525 a 535 nm (Fig. 10) (Persky *et al.*, 2000).

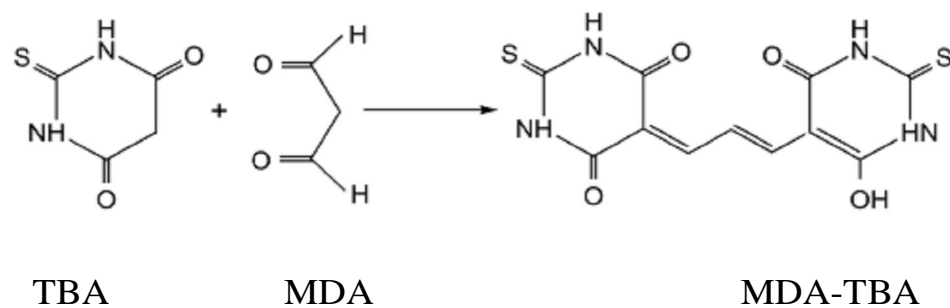


Figura 10. Formación del complejo colorido malondialdehído-ácido tiobarbitúrico (MDA-TBA), adaptado de Moon y Shibamoto (2009).

Para la determinación de la lipoperoxidación se empleó el método modificado por Persky *et al.* (2000). Se pesaron 500 mg de las muestras de damiana y se homogenizaron con solución amortiguadora de fosfatos (K_2HPO_4 , 50 mM, pH 6.8) y 0.2 g de PVP. El homogenizado se centrifugó a $2,200 \times g$ por 20 min a $4^\circ C$ (Sorvall Legend RT, EUA). A una alícuota de 250 μL de cada muestra se le adicionó ácido tricloroacético al 20% (p/v) en HCl (1 M), y TBA (1% p/v) y se agitaron. Las muestras se colocaron en baño de agua a $90^\circ C$ por 10 min en agitación constante. La reacción se detuvo en un baño de hielo y, posteriormente, se centrifugaron nuevamente las muestras a $2,200 \times g$ a $4^\circ C$ por 20 min (Sorvall Legend RT, EUA). Se corrió una curva estándar de 1-bis tetraetoxipropano (TEP, 0-20 nmoles mL^{-1}) en paralelo con las muestras. Finalmente, se cuantificó espectrofotométricamente (Beckman Coulter DU 800) a 535 y 600 nm. La lipoperoxidación se calculó a partir de la curva estándar y los resultados fueron expresados en nmoles de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) mg^{-1} de proteína.

6.4.6. Carbonilos Proteicos

La oxidación de carbohidratos o la propia lipoperoxidación genera aldehídos que se forman a partir de reacciones con proteína, derivados carbonilados de las proteínas. La cuantificación de estos grupos de carbonilos proteicos se hace derivándolos con 2,4-dinitrofenil hidracina (DNPH), precipitándolos con ácido tricloroacético (TCA) y midiendo la absorbancia máxima entre 240 y 410 nm (Levine *et al.*, 1994). Se homogenizaron 150 mg de tejido en 3 mL de ácido sulfosalicilico al 5% (p/v). El homogenizado fue dividido en dos porciones y colocado en tubos eppendorf[®] para generar un blanco de la muestra y la muestra. Posteriormente, se centrifugaron durante 5 min a 23,895 $\times g$ a 4°C (Sorvall Legend RT, EUA) y se desechó el sobrenadante. Se adicionaron 500 μL de DNPH a las muestras y 500 μL de HCl a los blancos, se agitaron durante 40 seg cada 15 min y a todos se les adicionó 500 μL de TCA. Se centrifugaron nuevamente por 5 min a 23,895 rpm $\times g$ a 4°C (Sorvall Legend RT, EUA), se desechó el sobrenadante y se lavó el precipitado con 1 mL de etanol-acetato de etilo (1:1). El lavado se repitió 3 veces. Se le adicionó a cada tubo 1 mL de clorato de guanidina (6 M en fosfato potásico 20 mM ajustado a pH 2.3), se agitó, se incubó en un baño de agua a 37°C durante 15 min y se centrifugaron a 23,895 rpm $\times g$ a 4°C (Sorvall Legend RT, EUA) durante 15 min. Se agregó 800 μL de sobrenadante en celdas de plástico y se realizó un barrido entre 340 y 410 nm, se registró la absorbancia máxima a la longitud de onda máxima (Beckman coulter DU 800). El contenido de grupos carbonilo se calculó utilizando un coeficiente de absorción molar de 22000 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$, expresándose los resultados en μM de carbonilos proteicos g^{-1} de tejido.

6.4.7. Determinación de Proteínas Totales

Para estandarizar los datos, se determinó la cantidad de proteínas totales utilizando un kit comercial (BioRad Laboratories, Hercules, CA. EUA) adaptado a microplaca, basado en el método descrito por Bradford (1976). Se utilizó el colorante azul de Coomassie[®] que, en respuesta a la concentración de proteínas, reacciona con los residuos de aminoácidos básicos, especialmente con arginina, presentes en la muestra. Se pesaron 500 mg de cada una de las muestras y se homogenizaron en frío con 5 mL de solución amortiguadora de fosfatos (K_2HPO_4) 50 mM, a pH 6.8 y 0.2 g de PVP. El homogenizado se centrifugó a $2,200 \times g$ por 20 min a 4°C (Sorvall Legend RT, EUA). El sobrenadante se empleó en la determinación de proteínas totales. Al mismo tiempo, se corrió una curva de albúmina sérica bovina (ASB, Sigma) en un rango de concentraciones de 0.005 a 0.2 mg mL⁻¹. Los resultados fueron expresados en mg de proteína g⁻¹ de tejido.

6.5. Tratamientos con UV

6.5.1. Tratamientos con UV-B

Se introdujeron plantas de damiana del campo experimental del CIBNOR en cultivo de tejidos usando un medio Murashige-Skoog (MS) y siguiendo la técnica descrita por Alcaraz-Meléndez *et al.* (1994). Una vez introducidas, se dejaron crecer las plántulas de damiana durante 4 semanas. Después los frascos fueron tapados con plástico para emplayar y se colocaron dentro de una caja de madera totalmente forrada en su parte interna con papel aluminio. Posteriormente, se irradiaron con UV-B (F875 UV-B Lamp, 315 nm, BioRad, Hercules, CA, EUA). Las lámparas se colocaron a 25 cm por encima de la copa de las plantas de damiana (*T. diffusa*) manteniendo esta distancia constante durante todo el

experimento. Los tratamientos fueron: a) Control (luz blanca por 24 h); b) 0.5 ± 0.1 mW cm^{-2} de UV-B por 2 h cada 24 h; c) 1 ± 0.1 mW cm^{-2} de UV-B por 2 h cada 24 h, y d) 1 ± 0.1 mW cm^{-2} de UV-B por 4 h cada 24 h. Para cuantificar la radiación de UV-B por debajo de las lámparas y sobre las copas de las plantas de damiana (*T. diffusa*) se utilizó un radiómetro (ultraviolet intensity meter, General Tools and Instruments, NY, EUA). Se colectaron muestras después de recién irradiadas las plantas y posteriormente cada semana, durante 3 semanas de tratamiento. Se consideró como base a las plantas testigo en el primer día de colecta (día cero). Las muestras se separaron en hojas y tallos, se congelaron con N_2 líquido y se almacenaron a -80°C hasta su posterior análisis. Se llevó a cabo la determinación de clorofilas *a* y *b*, carotenos, actividad enzimática de SOD, CAT y POX, contenido de vitamina C y E, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante, lipoperoxidación, carbonilos proteicos y proteínas totales, como se describió en párrafos anteriores. Adicionalmente, se analizó la morfología de las hojas mediante microscopía electrónica, como se describe a continuación.

6.5.1.1. Determinación de Parámetros Morfológicos

6.5.1.1.1. Número de Hojas y Área Foliar

Cada día de muestreo se contabilizó el número de hojas de 6 plántulas por tratamiento, las cuales fueron monitoreadas durante todo el experimento. El área foliar se determinó en dos hojas por planta en un integrador electrónico (Leaf Area Meter LI-3100C, Li-COR Inc. Nebraska, EUA).

6.5.1.1.2. Crecimiento de las plantas

Durante los días de muestreo se midió la longitud de 6 plántulas *in vitro* por tratamiento durante todo el experimento, empleando un calibrador vernier de caratula milimetrico Truper[®].

6.5.1.1.3. Análisis de Estomas y Glándulas

Se determinó el número de estomas y tricomas, así como el cierre o apertura estomática, de las plantas irradiadas con UV-B para observar cambios morfológicos generados por la radiación. Se tomaron las 2^a y 3^a hojas, contando a partir del ápice. Las hojas se introdujeron en solución amortiguadora de cacodilato y glutaraldehído al 2.5% por 24 h. Posteriormente, se lavaron con agua destilada en dos ocasiones, se deshidrataron con etanol al 30% y 50% durante 30 min, y en dos ocasiones al 70% por 30 min. Las muestras fueron llevadas a sequedad, cubiertas con paladio en una metalizadora (Denton Vacuum Desk II, Capovani Brothers Inc., NY, EUA) y se observó el haz y el envés de cada una de las hojas en un microscopio electrónico de barrido (Hitachi S-3000N Scanning Electron Microscopy with EDX, Hitachi Science Systems, LTD, Japón) a 100X, 300X y 600X.

6.5.2. Tratamientos con UV-C

Se cultivaron durante 6 semanas plántulas de damiana (*T. diffusa*) *in vitro* en medio de cultivo MS de acuerdo a la metodología descrita por Alcaraz-Meléndez *et al.* (1994). Los frascos fueron tapados con plástico para emplayar y se colocaron dentro de una caja de madera totalmente forrada en su parte interna con papel aluminio. Los tratamientos con radiación UV-C se realizaron utilizando lámparas germicidas (G15T8 de 253.7 nm The Medical Technology. A division of Neuhausler. A. G.) con 0.38 mW cm^{-2} de intensidad. La

lámpara de UV-C se colocó de manera fija a 45 cm sobre la copa de las plantas. Los tratamientos fueron de 5, 10 y 20 min de exposición a UV-C cada 24 h, utilizando como control plantas con luz blanca continuas durante las 24 h. Se recolectaron las muestras recién irradiadas y cada tercer día, durante los 10 días de tratamiento. Se empleó como base a las plantas testigo (Control) en el primer día de colecta (día cero). Las muestras se separaron en hojas y tallos, y se congelaron con N₂ líquido y se almacenaron a -80°C hasta su posterior determinación. En estas muestras se cuantificó la concentración de clorofilas (*a* y *b*) y carotenos, la actividad enzimática de SOD, CAT y POX, el contenido de vitaminas (C y E) y compuestos fenólicos, la capacidad antioxidante, y la lipoperoxidación, carbonilos proteicos y proteínas totales siguiendo las metodologías descritas anteriormente.

6.6. Análisis Estadístico

Se aplicaron pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov) y homocedasticidad (Barlett) para corroborar el cumplimiento de los supuestos de los datos. Se evaluaron diferencias significativas en las concentraciones de antioxidantes, así como los macro- y microelementos entre poblaciones, entre tejidos (hojas, tallos), y por condición (fresco, seco) mediante pruebas de t de Student o U de Mann-Whitney. Además, se utilizó el análisis de varianza de una vía (ANOVA, de acuerdo a un diseño complementado aleatorizado) y análisis de Kruskal Wallis, con pruebas post-hoc de Tukey o Z de Kruskal Wallis para comparaciones múltiples, dependiendo del cumplimiento de los supuestos. Se determinaron los coeficientes de correlación de Pearson o Spearman, según fuera pertinente. Para realizar los análisis estadísticos se utilizó el programa Statistica v6 (StatSoft, Inc., 2001). En todos los casos el nivel de significancia estadística fue de $\alpha=0.05$.

7. RESULTADOS.

7.1. Factores de Cultivo y Manejo Poscosecha

7.1.1. Contenido de Humedad en las Plantas de Damiana Silvestres y Cultivadas

En la figura 11 se muestran los resultados del contenido de humedad en los tejidos analizados de damiana. El contenido de humedad fue mayor en las hojas de damiana de las poblaciones de CIBNOR y NL, seguida por las poblaciones silvestres de BCS (El Carrizal y Todos Santos, $p < 0.0001$, Fig. 11). La población de NL presentó el mayor contenido de humedad en tallos, en comparación con las demás poblaciones ($p < 0.0001$, Fig. 11). Se observó un mayor contenido de humedad en las hojas con respecto a los tallos en todas las poblaciones estudiadas ($p < 0.0001$, Fig. 11).

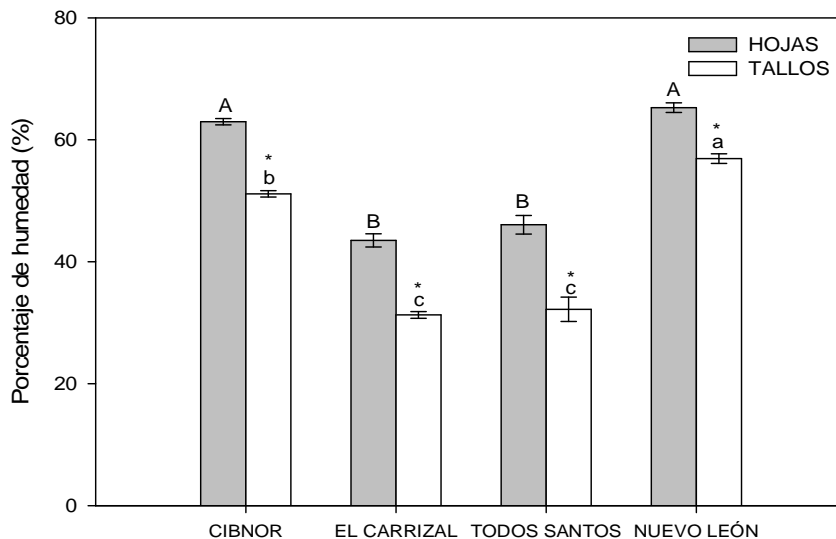


Figura 11. Contenido de humedad expresada en porcentaje en hojas y tallos de damiana (*Turnera diffusa*) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=15$. Las letras diferentes indican diferencias significativas entre poblaciones, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tejidos para cada población, $\alpha=0.05$.

7.1.2. Contenido de Macroelementos y Microelementos

En la figura 12 se muestran los resultados obtenidos en el análisis de macro- y microelementos. Se observó un mayor contenido de los macro- y microelementos (Mg, Fe y Zn) en hojas en comparación con tallos de *damiana* de todas las poblaciones de BCS analizadas ($p < 0.0001$, $p < 0.0001$ y $p < 0.0001$, respectivamente, Fig. 12). Las concentraciones de Fe son mayores en los tallos con respecto a las hojas en la población de NL ($p = 0.0299$) y las concentraciones de Cu no mostraron diferencias significativas ($p = 0.2753$) entre hojas y tallos de la población de NL. Se encontró un menor contenido de todos los elementos analizados (macro- y microelementos), tanto en hojas como en tallos, en la población de El Carrizal, en comparación con las otras dos poblaciones de BCS y la población de NL ($p < 0.0001$, Fig. 12). El contenido de Cu fue mayor en la población NL con respecto a las poblaciones de BCS tanto en hojas como en tallos ($p < 0.0001$ y $p < 0.0001$, respectivamente, Fig. 12).

La concentración de Zn fue mayor en las hojas de *damiana* de las poblaciones de CIBNOR y NL (39.24 ± 3.20 y 49.36 ± 2.76 mg Kg⁻¹, respectivamente) que en aquellas de Todos Santos (25.50 ± 1.37 mg Kg⁻¹) y El Carrizal (19.11 ± 1.04 mg Kg⁻¹, $p < 0.0001$, Fig. 12). Las concentraciones de Cd y Pb en las poblaciones silvestres de *damiana* de BCS estuvieron por debajo del límite de detección. El 30% de las plantas analizadas de la población de NL mostraron Pb en hojas con un promedio de 31.34 ± 16.69 mg Kg⁻¹; de éstas, el 60% mostraron concentraciones de Pb en tallos con un promedio de 8.29 ± 1.67 mg de Pb Kg⁻¹ de peso seco (PS).

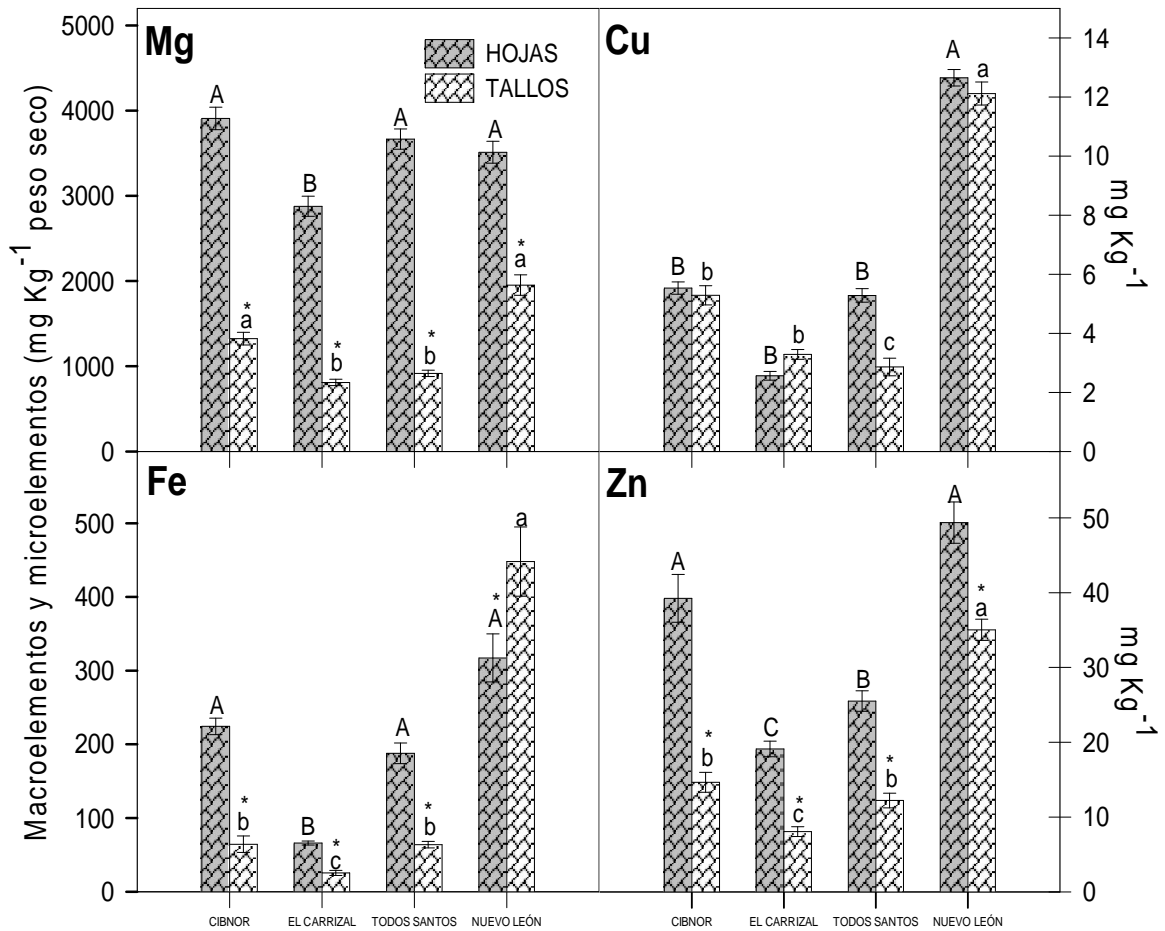


Figura 12. Contenido (mg kg^{-1}) de macroelementos y microelementos: magnesio (Mg), cobre (Cu), hierro (Fe) y zinc (Zn) en hojas y tallos en base seca de damiana (*Turnera diffusa*) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=15$. Las letras diferentes indican diferencias significativas entre poblaciones, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tejidos, $\alpha=0.05$.

7.1.3. Actividad de Enzimas Antioxidantes

7.1.3.1. Actividad Enzimática de Superóxido Dismutasa

La mayor actividad de SOD se observó en las plantas de damiana de la población de CIBNOR tanto en hojas como en tallos frescos, en comparación con las otras 3 poblaciones silvestres estudiadas ($p<0.0001$, Fig. 13A). La población de NL mostró la actividad de SOD

más baja de todas las poblaciones analizadas en hojas frescas y secas ($p < 0.0001$ y $p < 0.0001$, Fig. 13).

En la Figura 13B se presenta la actividad de SOD en hojas y tallos secos en las cuatro poblaciones estudiadas. La mayor actividad de SOD se observó en hojas y tallos secos de la población CIBNOR en comparación con las demás poblaciones ($p < 0.0001$ y $p < 0.0001$), y la menor actividad de SOD se observó en hojas secas de la población de NL ($p < 0.0001$). En general, la actividad de SOD en los tejidos secos fue significativamente mayor en comparación con los tejidos frescos en todas las poblaciones (hojas $p < 0.0001$ y tallos $p < 0.0008$) (Fig. 13). Además, las hojas frescas presentaron una mayor actividad de SOD en comparación con los tallos frescos en todas las poblaciones estudiadas (en fresco $p < 0.0001$ y en seco $p < 0.3230$, Fig. 13).

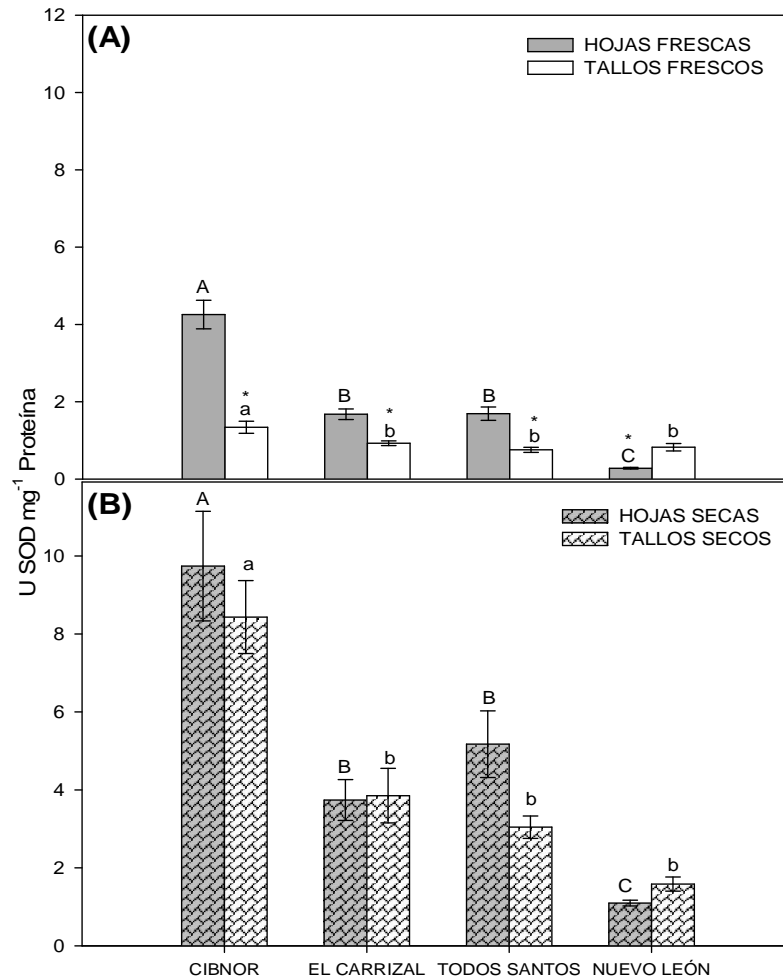


Figura 13. Actividad enzimática específica de superóxido dismutasa (SOD, U mg⁻¹ de proteína) en (A) hojas y tallos frescos, y en (B) hojas y tallos secos de damiana (*Turnera diffusa*) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León. Los datos se presentan como promedio \pm SE, n=15. Las letras indican diferencias significativas entre poblaciones, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tejidos, $\alpha=0.05$.

7.1.3.2. Actividad Enzimática de Catalasa

La actividad enzimática de CAT en hojas frescas así como en hojas y tallos secos de damiana de las cuatro poblaciones estudiadas estuvo por debajo del límite de detección de la metodología empleada. La actividad de CAT en tallos frescos fue de 1.31 ± 0.99 U g⁻¹ de

proteína en la población de CIBNOR, $0.59 \pm 0.42 \text{ U g}^{-1}$ de proteína para El Carrizal, y $1.55 \pm 0.74 \text{ U g}^{-1}$ de proteína para plantas de Todos Santos (Fig. 14).

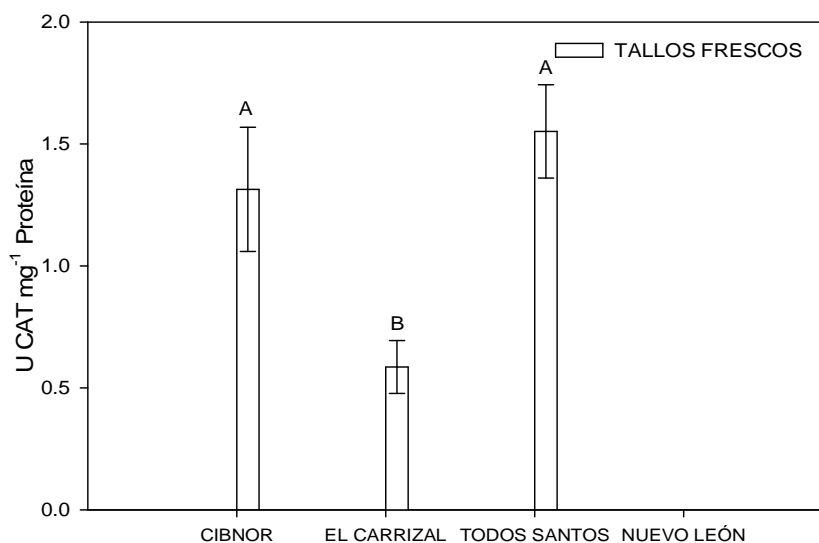


Figura 14. Actividad enzimática específica de catalasa (CAT, U mg^{-1} de proteína) en tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=15$. Las letras indican diferencias significativas entre poblaciones, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tejidos, $\alpha=0.05$.

7.1.3.3. Actividad Enzimática de las Peroxidasas Totales

La actividad enzimática de POX en tallos frescos y secos de damiana de las tres poblaciones de BCS y NL estudiadas estuvo por debajo del límite de detección de la metodología empleada. La actividad de POX en hojas frescas fue menor en comparación con hojas secas ($p < 0.0001$). Las poblaciones del CIBNOR y El Carrizal, presentaron la mayor actividad de POX en hojas frescas ($p < 0.0001$, Fig. 15). Las plantas de NL presentaron la menor actividad de POX en hojas secas ($p = 0.0035$, Fig. 15).

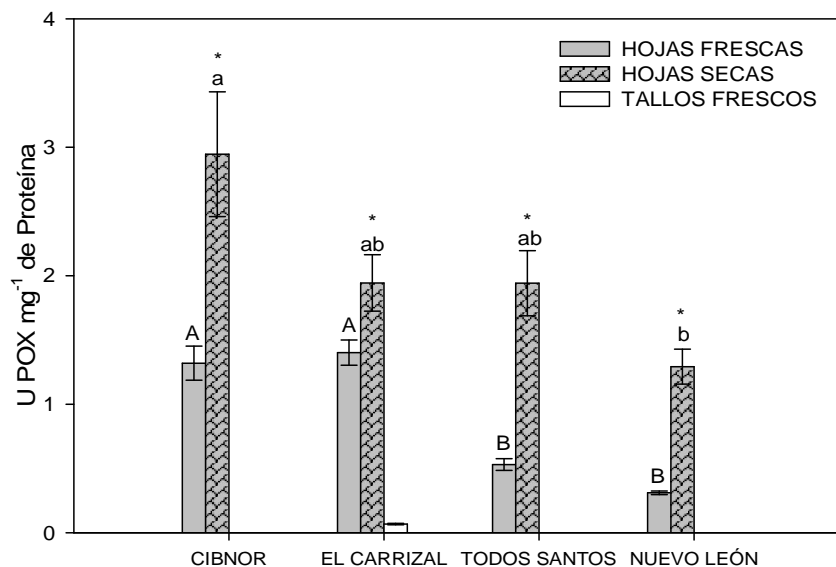


Figura 15. Actividad enzimática específica de peroxidasa (POX, U mg⁻¹ de proteína) en tallos frescos de El Carrizal y en hojas frescas y secas de damiana (*Turnera diffusa*) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León. Los datos se presentan como promedio \pm SE, n=15. Las letras indican diferencias significativas entre poblaciones, los asteriscos denotan diferencias significativas entre condiciones (fresco y seco), $\alpha=0.05$.

7.1.4. Antioxidantes No Enzimáticos

7.1.4.1. Contenido de Clorofila *a* y Clorofila *b*

Se observaron mayores concentraciones de clorofila *a* en hojas frescas de la población de NL en comparación con las otras poblaciones estudiadas ($p=0.0001$, Fig. 16A). En general, el contenido de clorofila *a* fue mayor en hojas frescas en comparación con hojas secas, tallos frescos y secos en todas las poblaciones analizadas ($p<0.0001$), con excepción de las hojas secas de la población NL, donde el contenido de clorofila *a* fue aproximadamente de 1.3 veces mayor al observado en hojas frescas ($p=0.0001$, Fig. 16A).

El contenido de clorofila *b* fue mayor en las hojas frescas de la población de NL en comparación con las poblaciones de BCS ($p=0.0001$, Fig. 16B). En hojas (frescas y secas)

el contenido de clorofila *b* fue mayor en todas las poblaciones (CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y NL) analizadas en comparación con tallos (frescos y secos) ($p < 0.0001$, Fig. 16B). Se encontraron diferencias significativas en el contenido de clorofila *b* entre hojas frescas y hojas secas de damiana solamente en las muestras de las poblaciones de Todos Santos y NL; en Todos Santos el secado disminuyó el contenido de clorofila *b* y en NL el secado incrementó el contenido de clorofila *b* ($p < 0.0001$ y $p = 0.0001$, Fig. 16B).

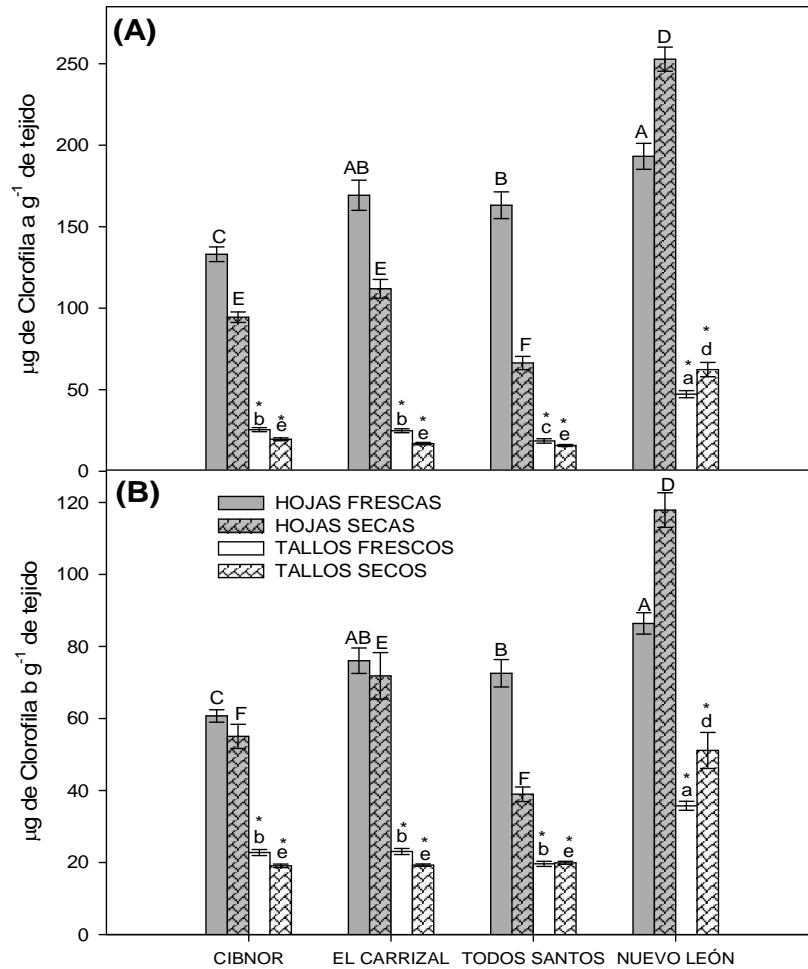


Figura 16. Contenido de (A) clorofila *a* y (B) clorofila *b* (μg de clorofila g^{-1} de tejido) en hojas y tallos en fresco y en seco de damiana (*Turnera diffusa*) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=15$. Las letras indican diferencias significativas entre poblaciones, los asteriscos diferencias significativas entre tejidos, $\alpha=0.05$.

7.1.4.2. Contenido de Carotenoides Totales

El contenido de carotenoides totales fue significativamente mayor en hojas frescas de la población de El Carrizal en comparación con las otras 3 poblaciones estudiadas ($p=0.0001$, Fig. 17). El contenido de carotenoides totales en hojas secas fue entre 2 y 14 veces menor en comparación con hojas frescas, en todas las poblaciones analizadas (Fig.

17). En los tallos se observó un menor contenido de carotenoides totales en comparación con las hojas en todas las poblaciones de damiana, tanto en fresco como en seco ($p < 0.0001$ y $p = 0.012$, Fig. 17).

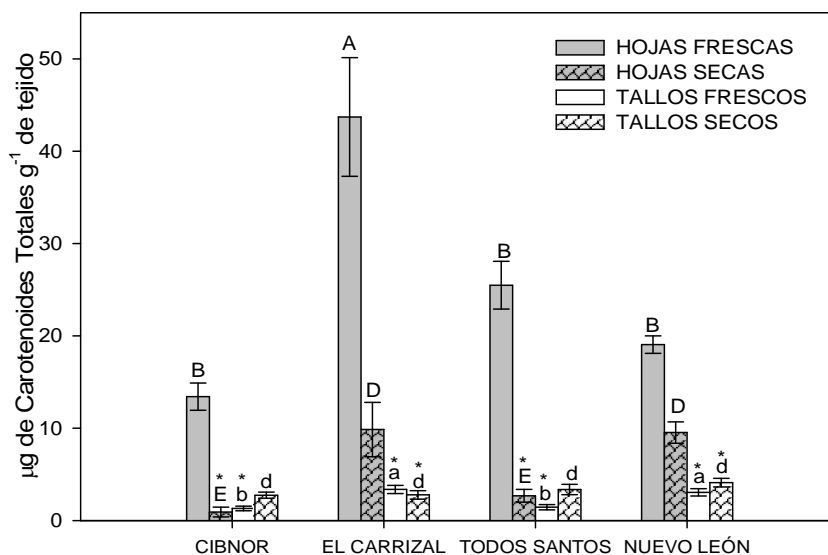


Figura 17. Contenido de carotenoides totales (μg de carotenoides totales g^{-1} de tejido) en hojas y tallos en fresco y en seco de damiana (*Turnera diffusa*) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=15$. Las letras indican diferencias significativas entre poblaciones, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tejidos, $\alpha=0.05$.

7.1.4.3. Contenido de Vitamina C (Ácido Ascórbico)

No se observaron diferencias significativas en el contenido de vitamina C en hojas frescas en las poblaciones analizadas ($p=0.6308$, Fig. 18). El contenido de vitamina C en tallos frescos fue menor en las plantas de damiana de la población de CIBNOR ($p=0.0181$, Fig. 18) y el mayor contenido de vitamina C fue en las plantas de damiana de la población de El Carrizal ($p=0.0181$, Fig. 18). No se observaron diferencias significativas en el

contenido de vitamina C entre las plantas secas y frescas de las diferentes poblaciones, tejidos y condiciones analizadas en este estudio (Fig. 18).

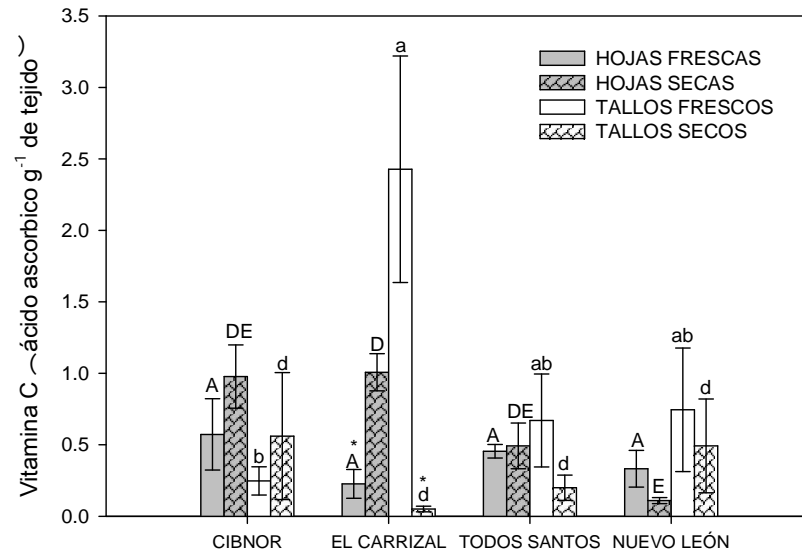


Figura 18. Contenido de vitamina C (mg de ácido ascórbico g^{-1} de tejido) en hojas y tallos en fresco y en seco de damiana (*Turnera diffusa*) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=15$. Las letras indican diferencias significativas entre poblaciones, los asteriscos denotan diferencias significativas entre condiciones (fresco y seco), $\alpha=0.05$.

7.1.4.4. Contenido de Vitamina E (α -Tocoferol)

El contenido de vitamina E en hojas frescas fue mayor en la población de Todos Santos ($p=0.0032$, Fig. 19). En hojas secas, la concentración de vitamina E fue menor en comparación con hojas frescas en las poblaciones de Todos Santos y CIBNOR ($p=0.0031$, Fig. 19). No se observaron diferencias significativas en el contenido de vitamina E entre tallos en fresco y en seco ($p=0.7842$ y $p=0.2039$) en las diferentes poblaciones de damiana analizadas en este estudio (Fig. 19).

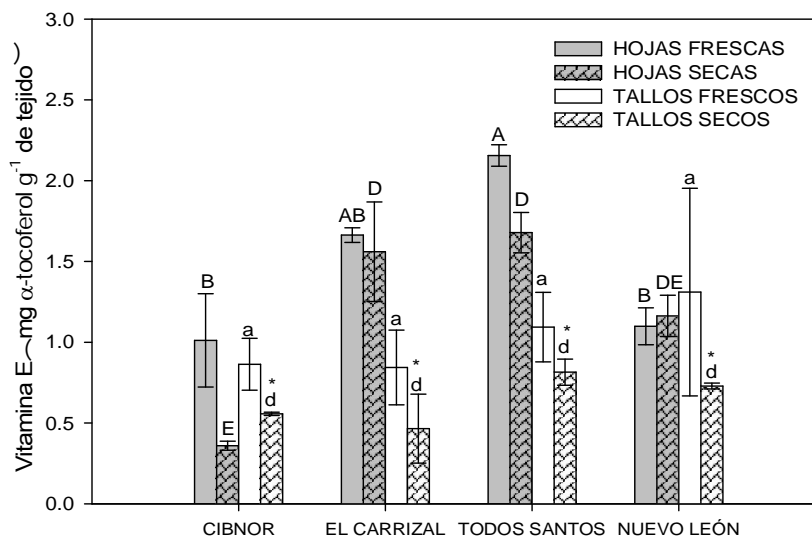


Figura 19. Contenido de vitamina E (mg de α -tocoferol g^{-1} de tejido) en hojas y tallos en fresco y en seco de damiana (*Turnera diffusa*) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=15$. Las letras indican diferencias significativas entre poblaciones, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tejidos, $\alpha=0.05$.

7.1.4.5. Contenido de Compuestos Fenólicos Totales

El contenido de compuestos fenólicos totales en hojas frescas fue mayor en las poblaciones de CIBNOR y El Carrizal que en las demás poblaciones analizadas ($p<0.0001$). Se encontró un menor contenido de estos compuestos en hojas, tallos frescos y secos de la población de NL que en las poblaciones de BCS ($p<0.0001$, Fig. 20).

El contenido de compuestos fenólicos fue mayor en hojas secas comparadas con hojas frescas en todas las poblaciones de damiana analizadas ($p=0.0001$, Fig. 20A). Se observó un mayor contenido de compuestos fenólicos en los tallos secos en comparación con los tallos frescos en las poblaciones de CIBNOR y Todos Santos ($p=0.0003$ y $p=0.0002$, respectivamente; Fig. 20B). En tallos frescos el contenido de compuestos fenólicos totales

fue mayor en la población de El Carrizal y menor en la población de NL en comparación con las demás poblaciones ($p=0.0001$, Fig. 20B). El contenido de compuestos fenólicos fue mayor en hojas (en fresco y en seco) que en los tallos en las dos diferentes condiciones (en fresco y en seco) en todas las poblaciones estudiadas ($p<0.0001$, Fig. 20).

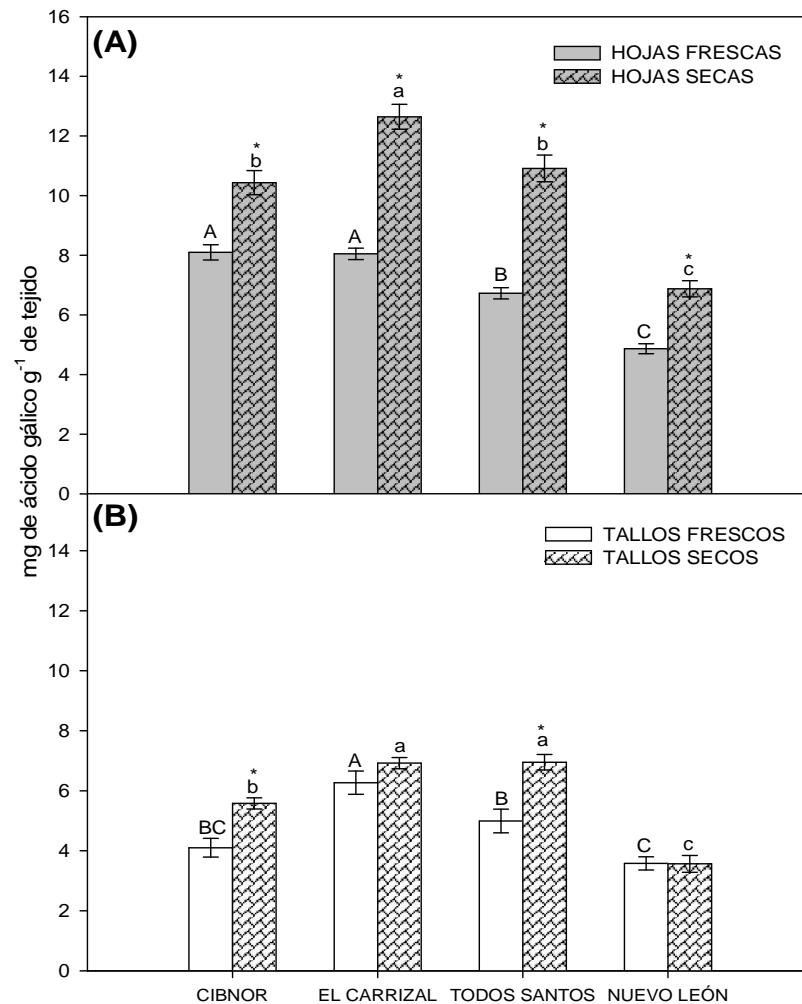


Figura 20. Contenido de compuestos fenólicos totales equivalentes de ácido gálico (mg EAG g⁻¹ de tejido) en (A) hojas frescas y secas, y en (B) tallos frescos y secos de damiana (*Turnera diffusa*) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=15$. Las letras indican diferencias significativas entre poblaciones, los asteriscos denotan diferencias entre condiciones (fresco y seco), $\alpha=0.05$.

7.1.5. Capacidad Antioxidante

Las hojas frescas de la población de El Carrizal mostraron una mayor capacidad antioxidante ($p < 0.0001$) en comparación con el resto de las poblaciones estudiadas (Fig. 21A). La capacidad antioxidante fue menor en las hojas secas que en las frescas en damiana de las poblaciones de Todos Santos y NL ($p=0.0235$ y $p=0.0070$, Fig. 21A). La capacidad antioxidante en hojas frescas y secas fue mayor que en tallos frescos y secos ($p < 0.0001$, Fig. 21). En tallos frescos se observó una mayor capacidad antioxidante en plantas de las poblaciones de CIBNOR y El Carrizal en comparación con el resto de las poblaciones ($p < 0.0001$, Fig. 21B).

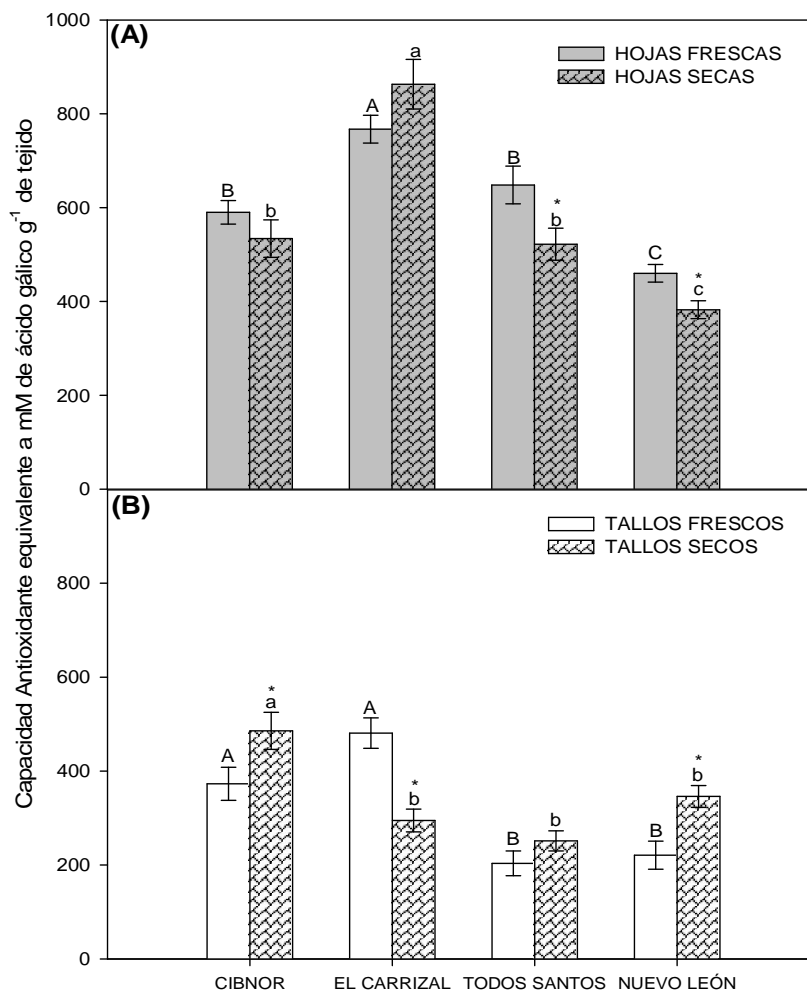


Figura 21. Capacidad antioxidante total (equivalentes de ácido gálico, mM EAG g⁻¹ de tejido) en (A) hojas en fresco y en seco, y (B) tallos en fresco y en seco de damiana (*Turnera diffusa*) de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León. Los datos se presentan como promedio \pm SE, n=15. Las letras indican diferencias significativas entre poblaciones, los asteriscos denotan diferencias significativas entre condiciones (fresco y seco), $\alpha=0.05$.

7.1.6. Lipoperoxidación

La concentración de TBARS cuantificados en hojas frescas fue mayor en la población de Todos Santos y El Carrizal en comparación con CIBNOR y NL ($p < 0.0001$, Fig. 22A). La concentración de TBARS en tallos frescos fue mayor en la población de NL

y menores en la población de Todos Santos ($p=0.0048$, Fig. 22A). Se observó mayor concentración de TBARS en los tejidos (hojas y tallos) secos que en los tejidos frescos en todas las poblaciones de BCS y NL analizadas ($p=0.0030$, Fig. 22). En los tejidos secos, tanto en hojas como en tallos, se observó mayor concentración de TBARS en la población de CIBNOR que en las demás poblaciones estudiadas (El Carrizal, Todos Santos y NL) ($p<0.0001$, Fig. 22A).

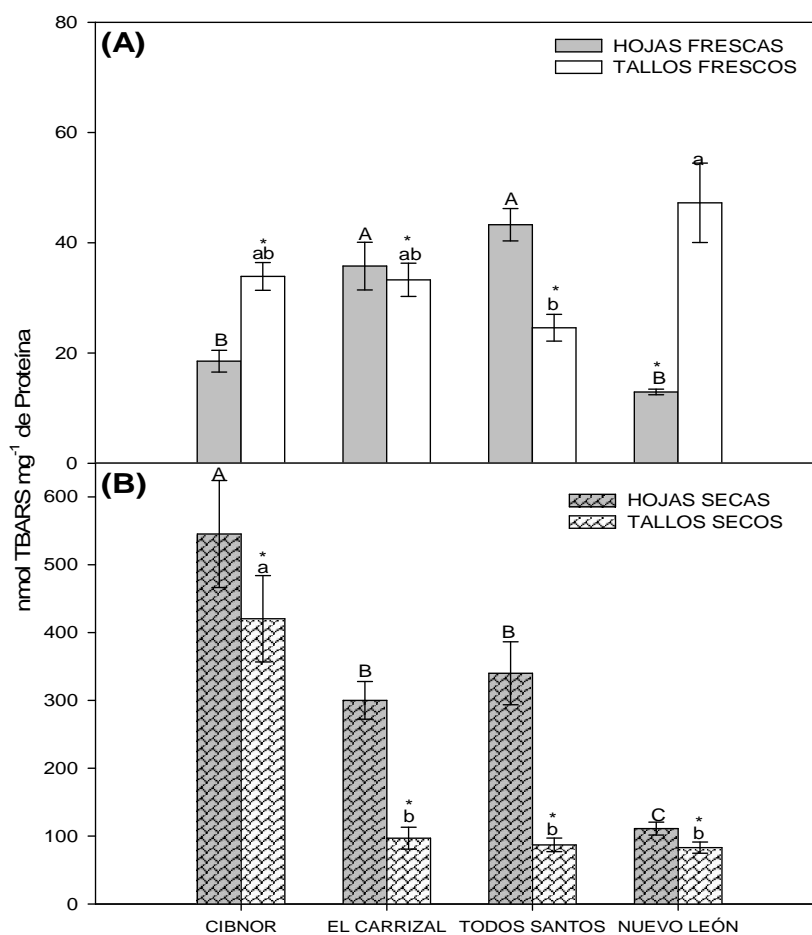


Figura 22. Lipoperoxidación (nmol especies reactivas al ácido tiobarbitúrico [TBARS] mg^{-1} de proteína) en (A) hojas y tallos en fresco, y (B) hojas y tallos en seco de damiana (*Turnera diffusa*) CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=15$. Las letras indican diferencias significativas entre poblaciones, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tejidos, $\alpha=0.05$.

7.1.7. Carbonilos Proteicos

La concentración de carbonilos proteicos en hojas frescas fue CIBNOR>Todos Santos y El Carrizal>NL ($p<0.0001$, Fig. 23). En hojas secas, las plantas de la población de Todos Santos presentaron una concentración de carbonilos proteicos mayor que el resto de las poblaciones estudiadas (CIBNOR, El Carrizal y NL) ($p<0.0001$, Fig. 23). La concentración de carbonilos proteicos en tallos frescos fue menor en las plantas de El Carrizal en comparación con las demás poblaciones (CIBNOR, Todos Santos y NL) ($p=0.0012$, Fig. 23). La concentración de carbonilos proteicos en tallos secos fue mayor en las plantas de CIBNOR que en las demás poblaciones analizadas en este estudio (El Carrizal, Todos Santos y NL) ($p<0.0001$, Fig. 23). Los carbonilos proteicos fueron mayores en hojas y, principalmente, en tallos secos en comparación con los tejidos frescos ($p=0.0064$, Fig. 23).

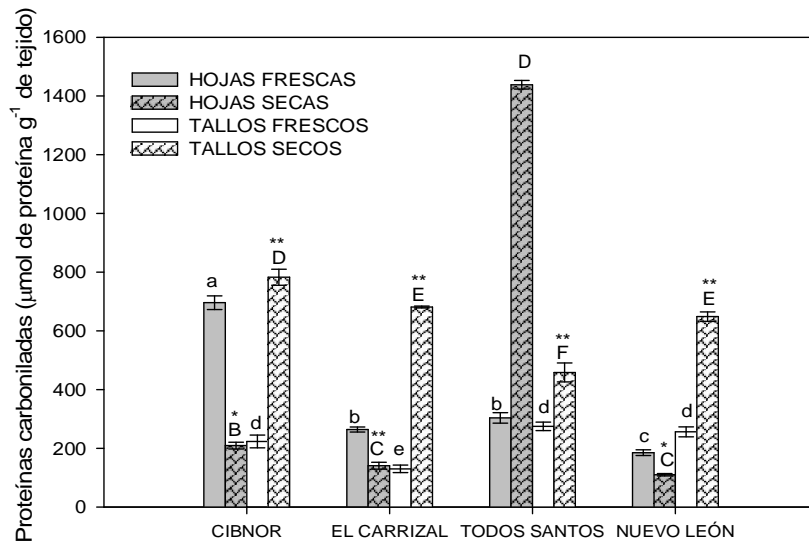


Figura 23. Carbonilos proteicos ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de tejido) en hojas y tallos en fresco y en seco de damiana (*Turnera diffusa*) CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=15$. Las letras indican diferencias significativas entre poblaciones, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tejidos, $\alpha=0.05$.

7.1.8. Correlaciones

No se encontraron correlaciones significativas entre los microelementos (cofactores) y la actividad de las enzimas antioxidantes analizadas, entre la concentración de los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante total, ni entre la capacidad antioxidante y la concentración de lipoperoxidación, para ninguno de los tejidos, poblaciones y procesamientos estudiados. Solamente se encontró una correlación entre el contenido de compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante en tallos frescos de *damiana* colectada en El Carrizal ($R^2=0.8453$, $F= 0.00007$, $p=0.000001$).

7.2. Factores Ambientales: Radiación UV-B

7.2.1. Actividad de Enzimas Antioxidantes

7.2.1.1. Actividad Enzimática de Superóxido Dismutasa

En los resultados obtenidos en plantas *in vitro*, la actividad de SOD en hojas y tallos de *damiana* en respuesta a la exposición a radiación UV-B se presentan en la figura 24. En hojas, la actividad de SOD se incrementó inmediatamente (recién irradiadas considerado día uno) con la exposición de 1 mW cm^{-2} de UV-B (2 y 4 h); esta actividad fue mayor en comparación con las plantas control y con aquellas expuestas al tratamiento de 0.5 mW cm^{-2} de UV-B 2 h ($p=0.0001$). El aumento en la actividad de SOD en hojas de *damiana* se mantuvo durante los 15 días de exposición a UV-B ($p<0.0001$, Fig. 24A). En tallos, se observó un incremento de la actividad de SOD en las plantas recién irradiadas (día uno) con 1 mW cm^{-2} de UV-B (2 h y 4 h, Fig. 24B) en comparación con las plantas control ($p=0.0006$). Este efecto se mantuvo durante los 15 días del experimento, pero solamente en las plantas que recibieron el tratamiento de 1 mW cm^{-2} de UV-B 2 h (Fig. 24B). Los

estadísticos indican diferencias significativas en todos los tratamientos (control, 0.5 mW cm⁻² 2 h, 1 mW cm⁻² 2 h y 1 mW cm⁻² 4 h) con una p=0.0095.

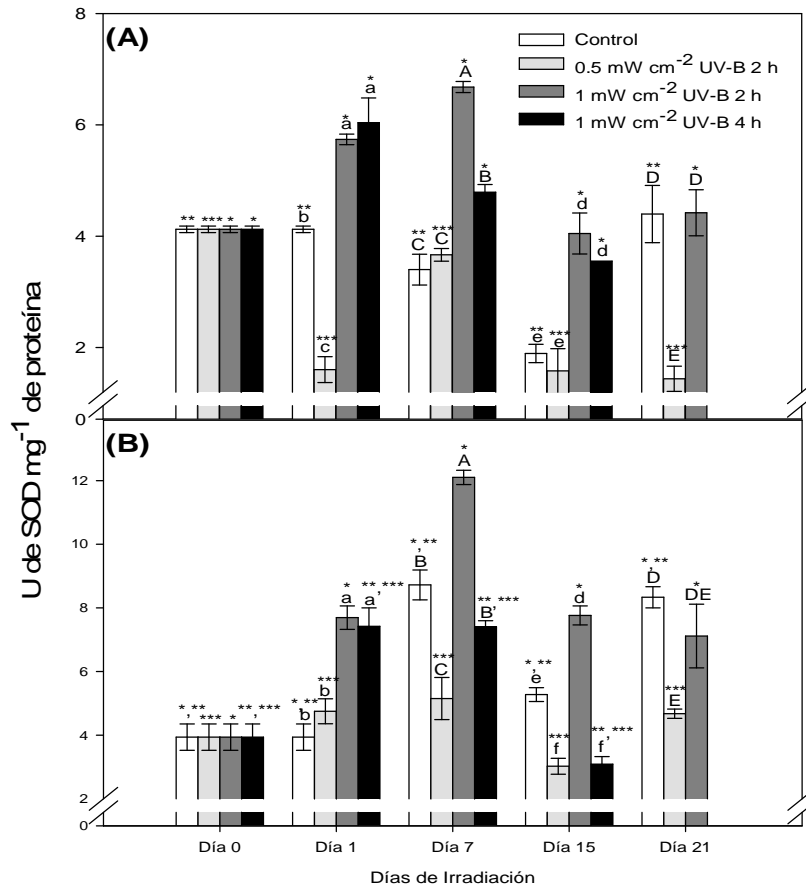


Figura 24. Actividad enzimática específica de superóxido dismutasa (SOD, U mg⁻¹ de proteína) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm⁻² 2 h, 1 mW cm⁻² 2 h y 1 mW cm⁻² 4 h. Los datos se presentan como promedio \pm SE, n=3. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

7.2.1.2. Actividad Enzimática de Catalasa

La actividad de CAT en hojas y en tallos de damiana en respuesta a los diferentes tratamientos de UV-B estuvo por debajo del límite de detección.

7.2.1.3. Actividad Enzimática de las Peroxidasas Totales

La actividad de POX en hojas de *T. diffusa* durante el primer día de tratamiento con 1 mW cm^{-2} de UV-B 2 h fue mayor que en el resto de los tratamientos ($p=0.0004$, Fig. 25A). Sin embargo, la actividad de POX en hojas de todos los tratamientos con UV-B disminuyó y se mantuvo en valores similares a los observados en las plantas control durante el experimento (Fig. 25A; $p=0.5472$). En los tallos se observó una disminución de la actividad de POX en todos los tratamientos de UV-B y las plantas control durante el experimento (Fig. 25B). Sin embargo, en los tallos de las plantas irradiadas con 1 mW cm^{-2} de UV-B 4 h la actividad de POX fue significativamente mayor que en los demás tratamientos de UV-B (0.5 mW cm^{-2} 2 h y 1 mW cm^{-2} 2 h) durante todo el periodo experimental ($p=0.0095$, Fig. 25B).

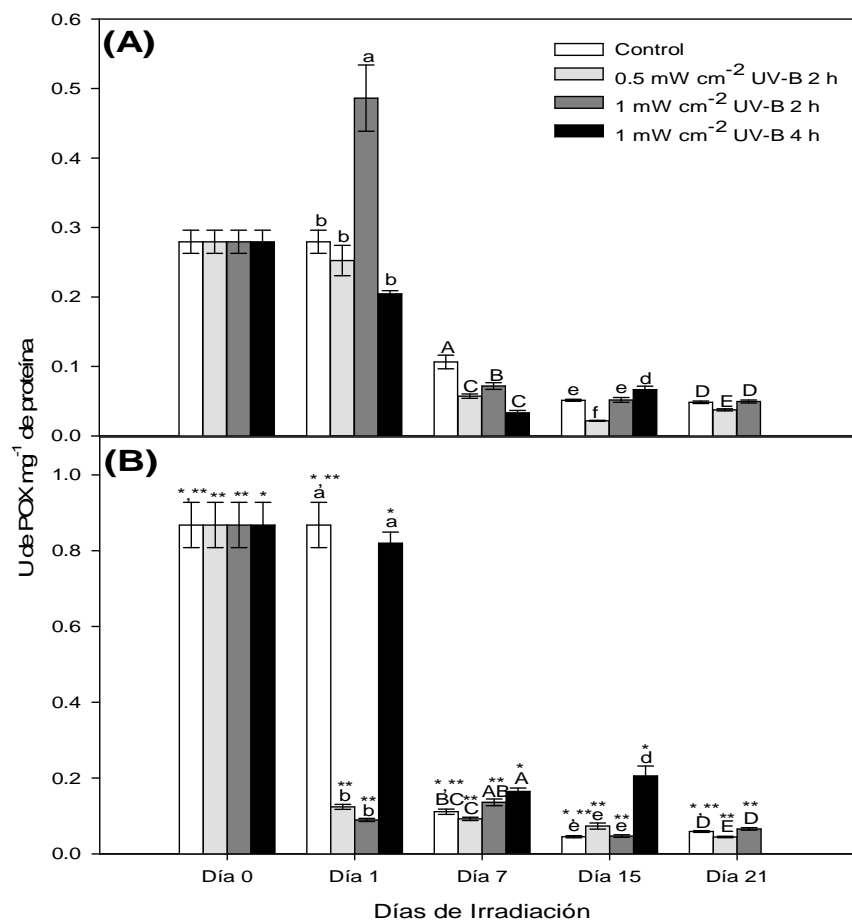


Figura 25. Actividad enzimática específica de peroxidasas totales (POX, U mg⁻¹ de proteína) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm⁻² 2 h, 1 mW cm⁻² 2 h y 1 mW cm⁻² 4 h. Los datos se presentan como promedio \pm SE, n=3. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

7.2.2. Determinación de Compuestos Antioxidantes No Enzimáticos

7.2.2.1. Contenido de Clorofila *a* y Clorofila *b*

En los resultados obtenidos en plantas *in vitro*, el contenido de clorofila *a* en hojas de damiana irradiada con UV-B fue significativamente mayor durante el primer día de exposición en las plantas tratadas con 0.5 mW cm⁻² de UV-B 2 h y 1 mW cm⁻² 4 h en

comparación con las hojas de las plantas control ($p=0.0002$, Fig. 26A). A partir del séptimo día de tratamiento, el contenido de clorofila *a* fue menor en las hojas de las plantas irradiadas con UV-B ($0.5 \text{ mW cm}^{-2} \text{ 2 h}$, $1 \text{ mW cm}^{-2} \text{ 2 h}$ y $1 \text{ mW cm}^{-2} \text{ 4 h}$) en comparación con las plantas control ($p<0.0001$, Fig. 26A). En tallos no se observó un efecto significativo en el contenido de clorofila *a* por la irradiación con UV-B ($p=0.3741$, Fig. 26B). Como en los resultados anteriores de plantas de damiana de diferentes poblaciones (silvestres y cultivadas), el contenido de clorofila *a* fue mayor en hojas con respecto a tallos ($p<0.0001$, Fig. 26B).

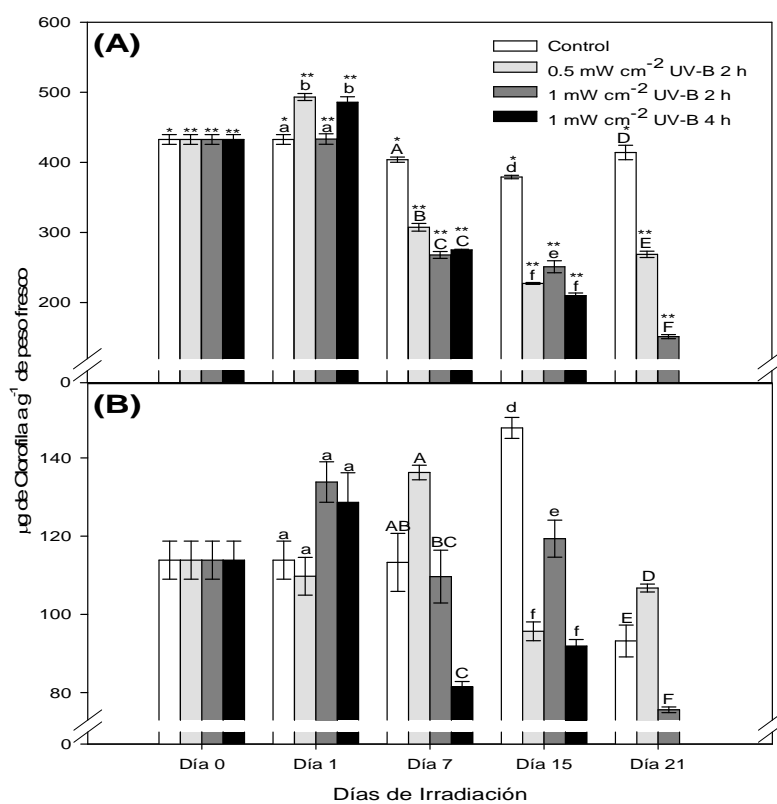


Figura 26. Contenido de clorofila *a* ($\mu\text{g de clorofila a g}^{-1}$ de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) $0.5 \text{ mW cm}^{-2} \text{ 2 h}$, $1 \text{ mW cm}^{-2} \text{ 2 h}$ y $1 \text{ mW cm}^{-2} \text{ 4 h}$. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=3$. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

Los resultados del análisis de clorofila *b* muestran que en las plantas control mantuvieron concentraciones constantes de clorofila *b* en hojas durante todo el periodo experimental, mientras que las hojas de las plantas irradiadas con UV-B, a partir del séptimo día, presentaron valores de clorofila *b* por debajo de las plantas control (Fig. 27^a; $p=0.0223$). En tallos, las plantas control mantuvieron concentraciones constantes de clorofila *b* a lo largo del periodo experimental (Fig. 27B). En las plantas expuestas a radiación UV-B la concentración de clorofila *b* fue significativamente menor que en las plantas control ($p=0.0087$). Al igual que en clorofila *a* las concentraciones de clorofila *b* fueron mayores en hojas que en tallos (Fig. 27).

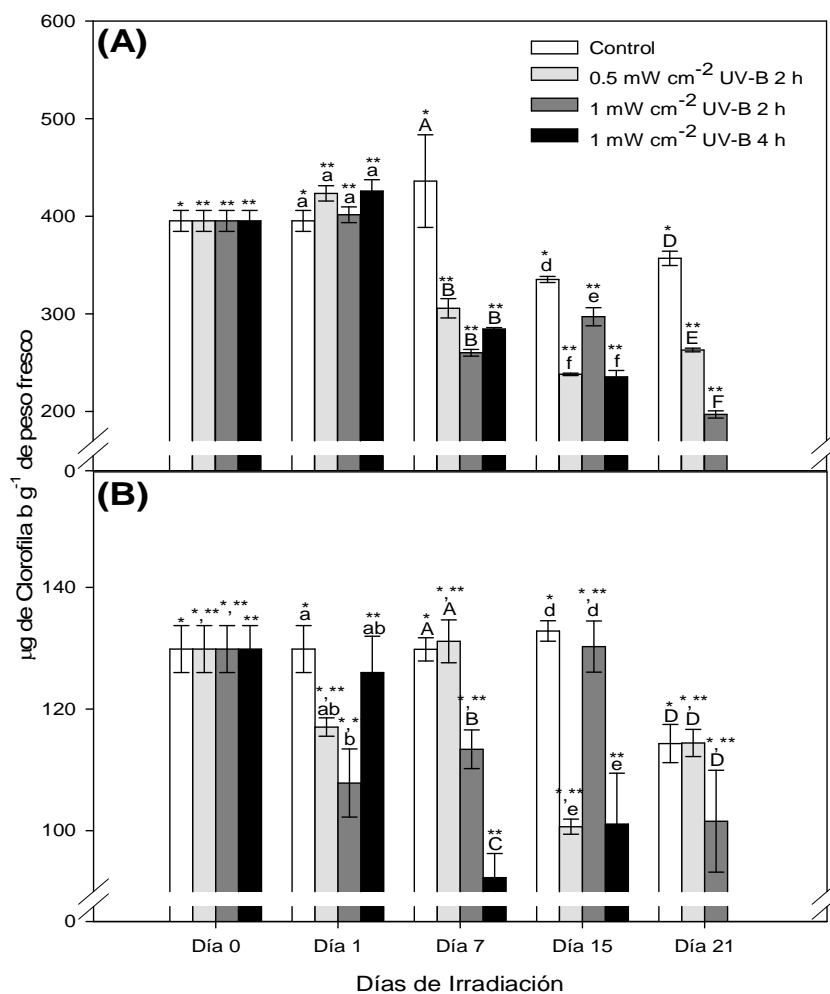


Figura 27. Contenido de clorofila *b* (μg de clorofila b g^{-1} de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm^{-2} 2 h, 1 mW cm^{-2} 2 h y 1 mW cm^{-2} 4 h. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=3$. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

7.2.2.2. Contenido de Carotenoides Totales

No se observó un efecto de los tratamientos con UV-B en el contenido de carotenoides ni en hojas ni en tallos de damiana ($p=0.3217$ y $p=0.3995$, respectivamente, Fig. 28).

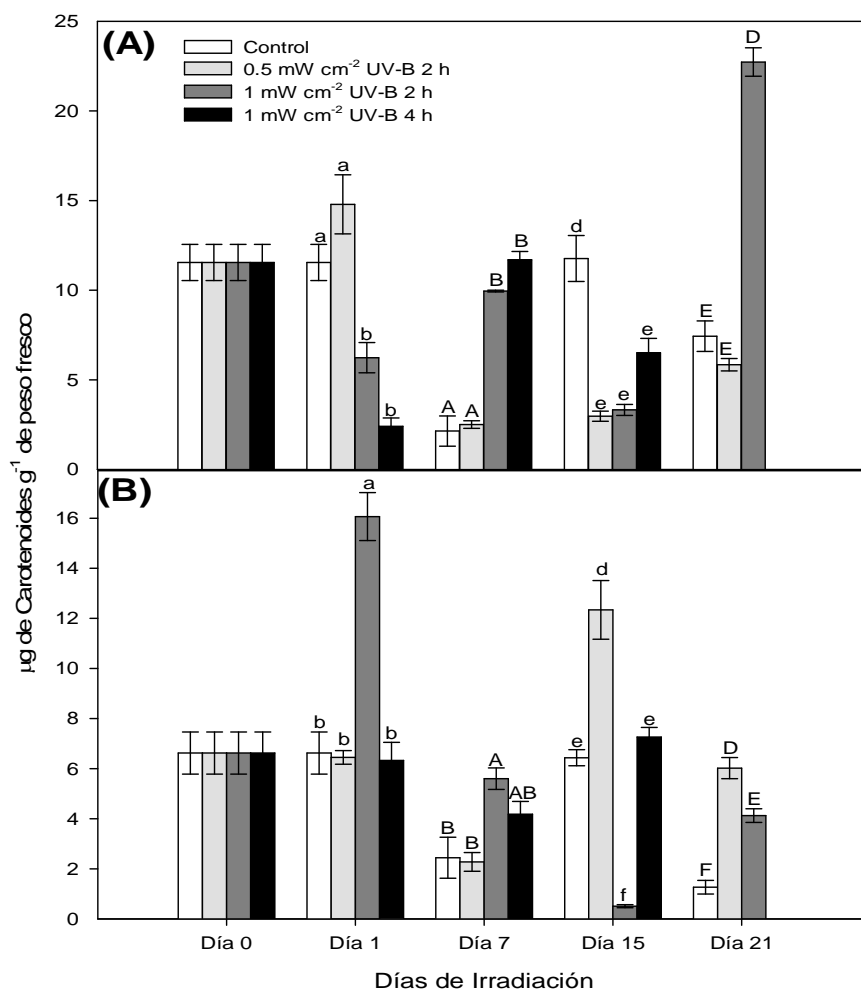


Figura 28. Contenido de carotenoides totales (μg de carotenoides g^{-1} de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm^{-2} 2 h, 1 mW cm^{-2} 2 h y 1 mW cm^{-2} 4 h. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=3$. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

7.2.2.3. Contenido de Vitamina C (Ácido Ascórbico)

El contenido de vitamina C en hojas incrementó en las plantas de damiana expuestas a radiación UV-B, aparentemente, de manera dosis-dependiente durante los primeros 15 días de tratamiento ($p=0.0077$, Fig. 29). En los tratamientos con mayor radiación UV-B (1

mW cm⁻² 2 h), este efecto se revirtió a los 21 días ($p < 0.0001$, Fig. 29). En el día 14 se observó que las plantas irradiadas con UV-B (tanto 0.5 mW cm⁻² 2 h como 1 mW cm⁻² por 2 h y 4 h) tenían mayores concentraciones de vitamina C que las plantas control ($p = 0.0001$, Fig. 29). Este incremento continuó hasta los 21 días con la menor dosis de radiación de UV-B (0.5 mW cm⁻² 2 h) (Fig. 29). En tallos no se determinó el contenido de vitamina C debido a que la cantidad de material biológico (tallos de 15 plántulas *in vitro*) no fue suficiente.

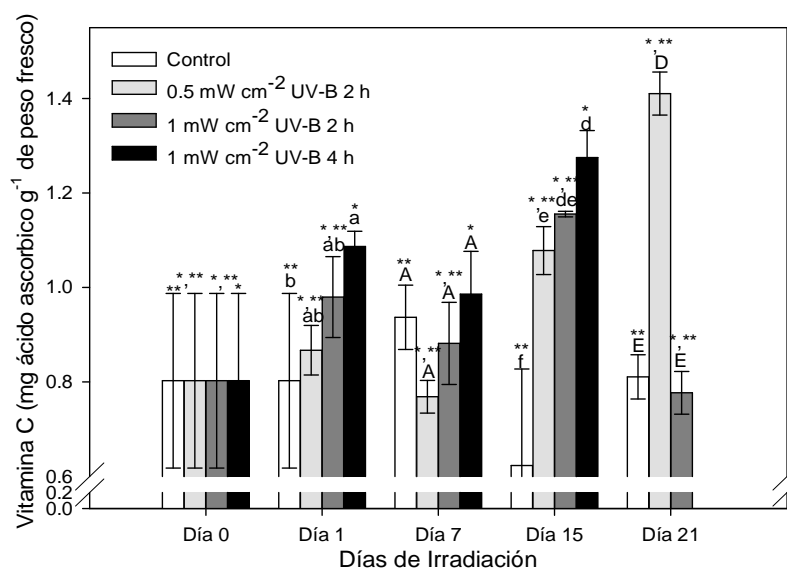


Figura 29. Contenido de vitamina C (mg equivalentes de ácido ascórbico g⁻¹ de peso fresco) en hojas frescas de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm⁻² 2 h, 1 mW cm⁻² 2 h y 1 mW cm⁻² 4 h. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=3$. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

7.2.2.4. Contenido de Vitamina E (α -Tocoferol)

No se determinó el contenido de vitamina E en hojas y tallos de damiana irradiada con UV-B debido a que la cantidad de material biológico (tallos de 15 plántulas *in vitro*) no fue suficiente.

7.2.2.5. Compuestos Fenólicos Totales

En general, el contenido de compuestos fenólicos totales en hojas de plantas irradiadas con UV-B (tanto 0.5 mW cm^{-2} 2 h como 1 mW cm^{-2} por 2 h y 4 h) se mantuvo por debajo de las plantas control ($p < 0.0001$, Fig. 30A). Al final del periodo experimental, el contenido de compuestos fenólicos en las hojas irradiadas disminuyó con respecto al control ($p < 0.0001$, Fig. 30A). El contenido de compuestos fenólicos en tallos de damiana en el primer día de tratamiento fue mayor en las plantas irradiadas con 1 mW cm^{-2} de UV-B 2 h en comparación con las plantas control ($p < 0.0001$, Fig. 30B). Sin embargo, durante los siguientes días de tratamiento, el contenido de compuestos fenólicos en las plantas tratadas con UV-B (0.5 mW cm^{-2} 2 h, y 1 mW cm^{-2} por 2 h y 4 h) fue menor en comparación con las plantas control, principalmente en las plantas irradiadas con UV-B 1 mW cm^{-2} 4 h ($p = 0.0006$; Fig. 30B).

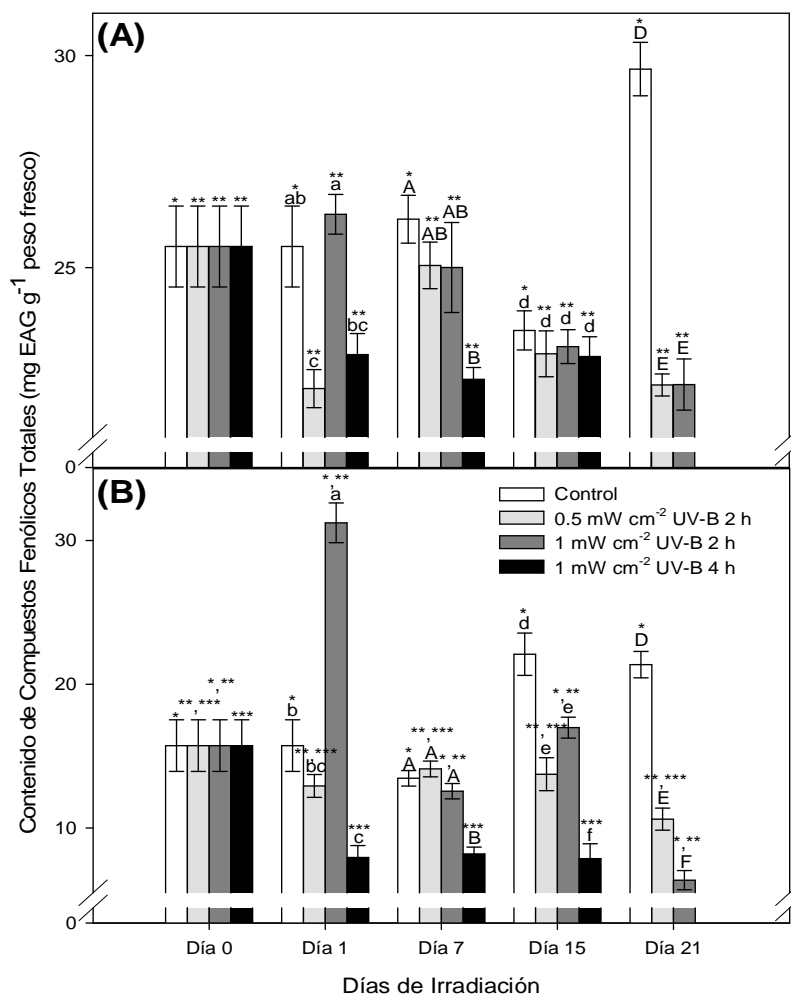


Figura 30. Compuestos fenólicos totales equivalentes de ácido gálico (mg EAG g⁻¹ de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm⁻² 2 h, 1 mW cm⁻² 2 h y 1 mW cm⁻² 4 h. Los datos se presentan como promedio ± SE, n=3. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, α=0.05.

7.2.3. Capacidad Antioxidante Total

La capacidad antioxidante total en hojas de plantas irradiadas con 0.5 mW cm⁻² de UV-B 2 h durante los primeros 7 días de tratamiento fue mayor en comparación con las plantas control (p<0.0001, Fig. 31A). Para el resto de los tratamientos, principalmente 1

mW cm⁻² de UV-B 4 h, y hacia el final del periodo experimental, la capacidad antioxidante de las plantas irradiadas fue menor que la observada en las plantas control ($p < 0.0001$, Fig. 31A). En tallos se observó un efecto similar al de hojas (Fig. 31B); en el primer día del tratamiento con 0.5 mW cm⁻² de UV-B 2 h la capacidad antioxidante fue mayor en comparación con el control ($p < 0.0001$, Fig. 31B). En el resto de los tratamientos, predominantemente con 1 mW cm⁻² de UV-B 4 h, y durante el resto del periodo experimental, la capacidad antioxidante de las plantas irradiadas fue menor en comparación con las plantas control ($p < 0.0001$, Fig. 31B). Se observó que en todos los tratamientos con UV-B y plantas control, la capacidad antioxidante fue mayor en hojas que en tallos de damiana ($p = 0.0002$, Fig. 31).

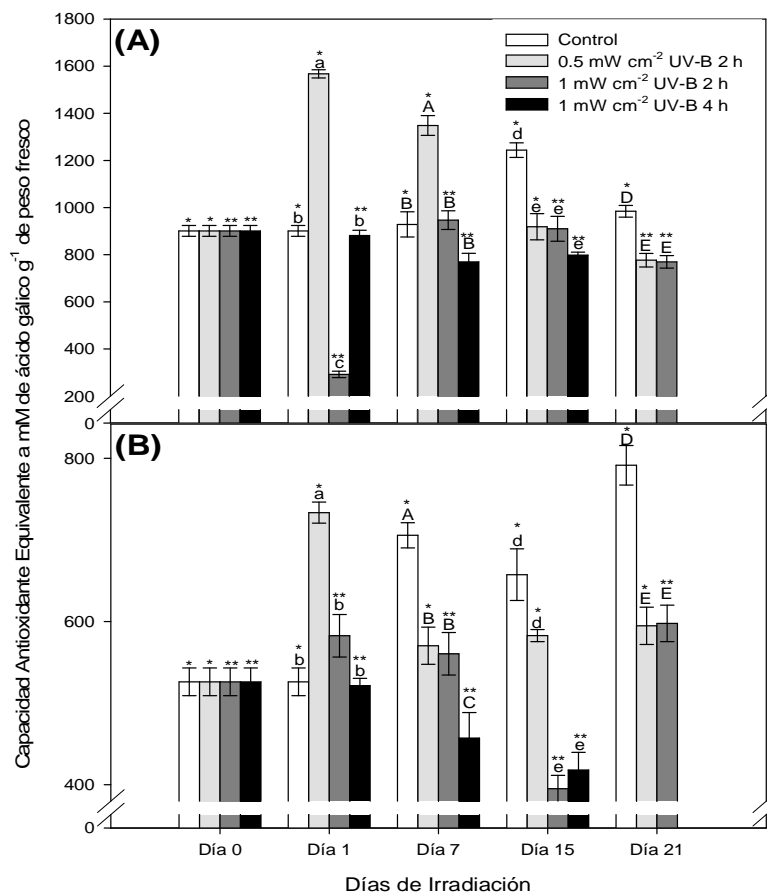


Figura 31. Capacidad antioxidante total (equivalentes de ácido gálico, mM EAG g⁻¹ de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm⁻² 2 h, 1 mW cm⁻² 2 h y 1 mW cm⁻² 4 h. Los datos se presentan como promedio ± SE, n=3. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, α=0.05.

7.2.4. Lipoperoxidación

El daño oxidativo a lípidos, cuantificado como TBARS, varió a lo largo del periodo experimental en hojas y tallos (Fig. 32). En hojas, a los 7 y 21 días de tratamiento la concentración de TBARS fue mayor en las plantas irradiadas con UV-B (p<0.0001 y p=0.0004, respectivamente), mientras que a los 15 días fue menor que en las plantas control (p<0.0001, Fig. 32A). Se observó mayor concentración de TBARS en el tratamiento de 1

mW cm⁻² de UV-B por 2 h en comparación con el resto de los tratamientos ($p < 0.0001$, Fig. 32A). En tallos, la concentración de TBARS de las plantas irradiadas con UV-B durante los primeros 15 días de tratamiento fue menor que aquellos en las plantas control ($p = 0.0323$). Sin embargo, al final del periodo experimental esta concentración fue mayor en las plantas irradiadas con 1 mW cm⁻² de UV-B 2 h que en el control, 0.5 mW cm⁻² de UV-B 2 h y 1 mW cm⁻² de UV-B 4 h ($p < 0.0001$, Fig. 32B).

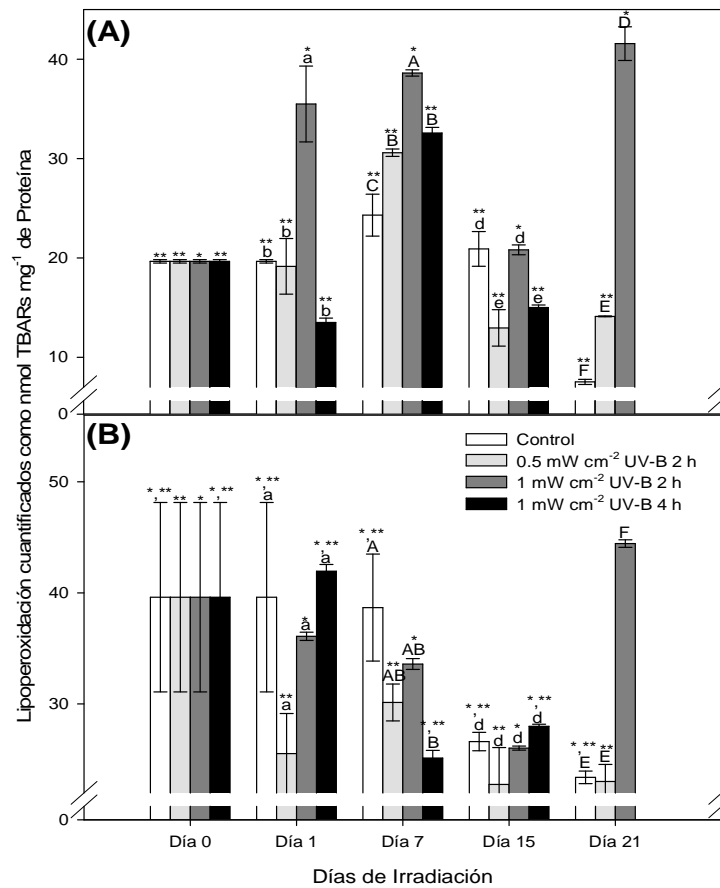


Figura 32. Lipoperoxidación (nmol de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico [TBARS] mg⁻¹ de proteína) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm⁻² 2 h, 1 mW cm⁻² 2 h y 1 mW cm⁻² 4 h. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=3$. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

7.2.5. Carbonilos Proteicos

La concentración de carbonilos proteicos fue mayor durante el primer día de tratamiento en hojas de plantas irradiadas con respecto al control ($p < 0.0001$, Fig. 33A). Sin embargo, al final del periodo experimental, no se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de carbonilos proteicos en hojas de las plantas irradiadas con UV-B en comparación con las plantas control ($p = 0.4774$, Fig. 33A). En tallos, las concentraciones de carbonilos proteicos fueron mayores durante el primer día de tratamiento en todos los tratamientos de UV-B estudiados con respecto al control ($p < 0.0001$, Fig. 33B). Sin embargo, hacia el final del periodo experimental, la concentración de carbonilos proteicos en plantas irradiadas con UV-B fue menor que aquellos en las plantas control ($p = 0.5251$, Fig. 33B).

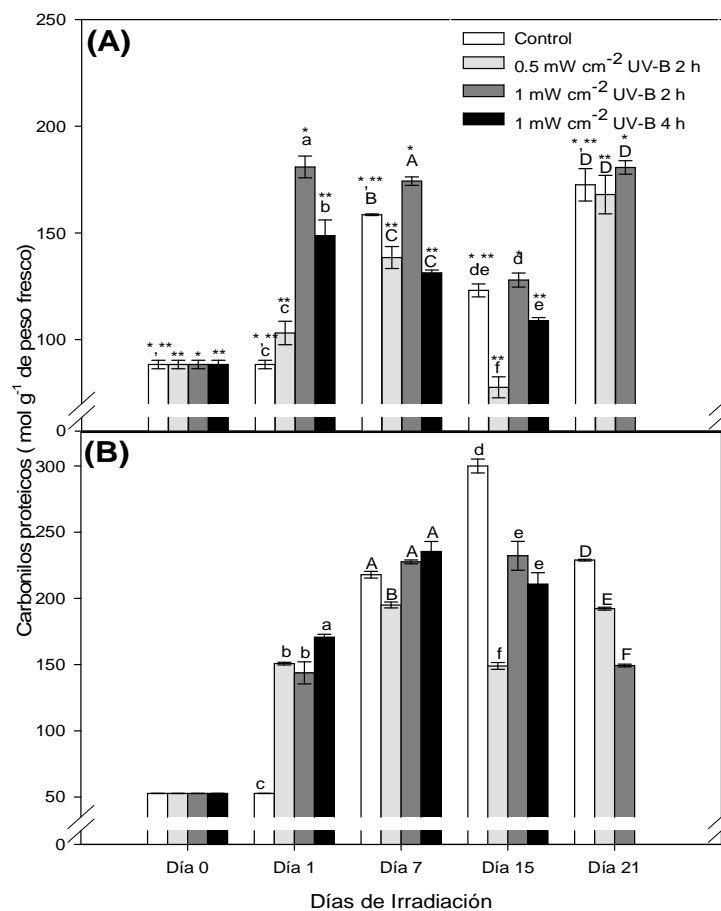


Figura 33. Carbonilos proteicos ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm^{-2} 2 h, 1 mW cm^{-2} 2 h y 1 mW cm^{-2} 4 h. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=3$. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=3$. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

7.2.6. Contenido de Proteínas Totales

El contenido de proteínas totales en hojas fue menor en las plantas irradiadas con UV-B, principalmente en aquellas que recibieron mayores dosis (1 mW cm^{-2} de UV-B 2 h y 4 h) a partir del séptimo día y hacia el final del periodo experimental ($p < 0.0001$, Fig. 34A). En tallos no se observaron diferencias significativas en el contenido de proteínas totales

entre las plantas control y aquellas expuestas a radiación UV-B ($p=0.0540$, Fig. 34B). Las concentraciones de proteínas totales fueron mayores en hojas en comparación con tallos ($p<0.0001$, Fig. 34B).

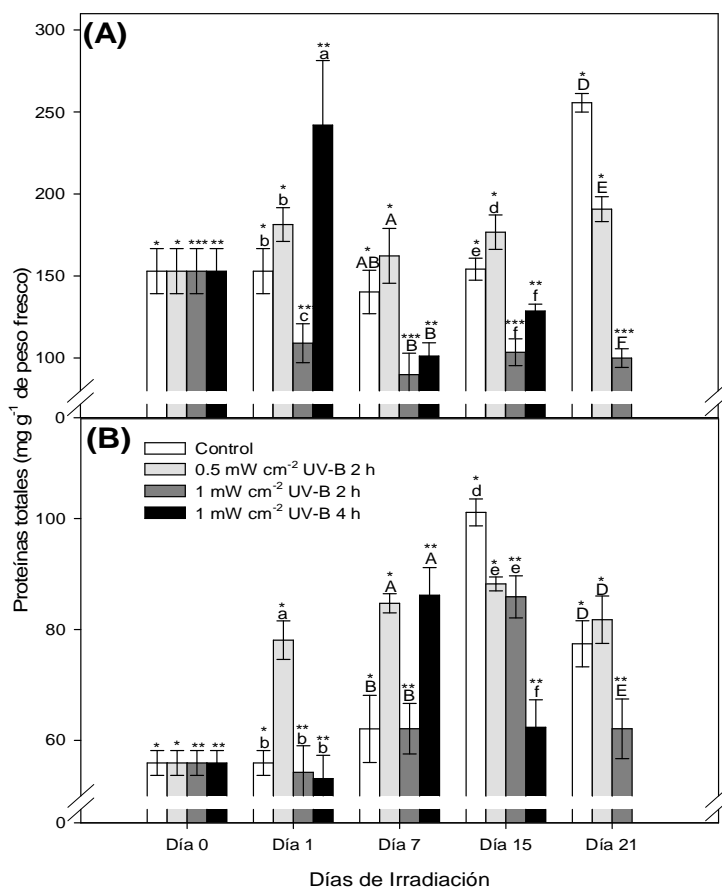


Figura 34. Contenido de proteínas totales (mg g^{-1} de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo B (UV-B) 0.5 mW cm^{-2} 2 h, 1 mW cm^{-2} 2 h y 1 mW cm^{-2} 4 h. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=3$. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

7.2.7. Parámetros Morfológicos

A partir de la primera semana de exposición a radiación UV-B, las plantas de damiana *in vitro* empezaron a marchitarse y a tirar hojas (Fig. 35). En el tratamiento de 1 mW cm^{-2}

de UV-B 4 h, las plantas murieron después de 15 días de tratamiento (Fig. 35). En la figura 36 se muestran imágenes por microscopía electrónica representativas de la morfología de las hojas de damiana *in vitro*, bajo diferentes tratamientos de UV-B. No se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) en el número y área estomática ni en el número de glándulas observados entre las plantas de damiana irradiadas con 0.5 mW cm^{-2} de UV-B 2 h y las plantas control (Tabla III).

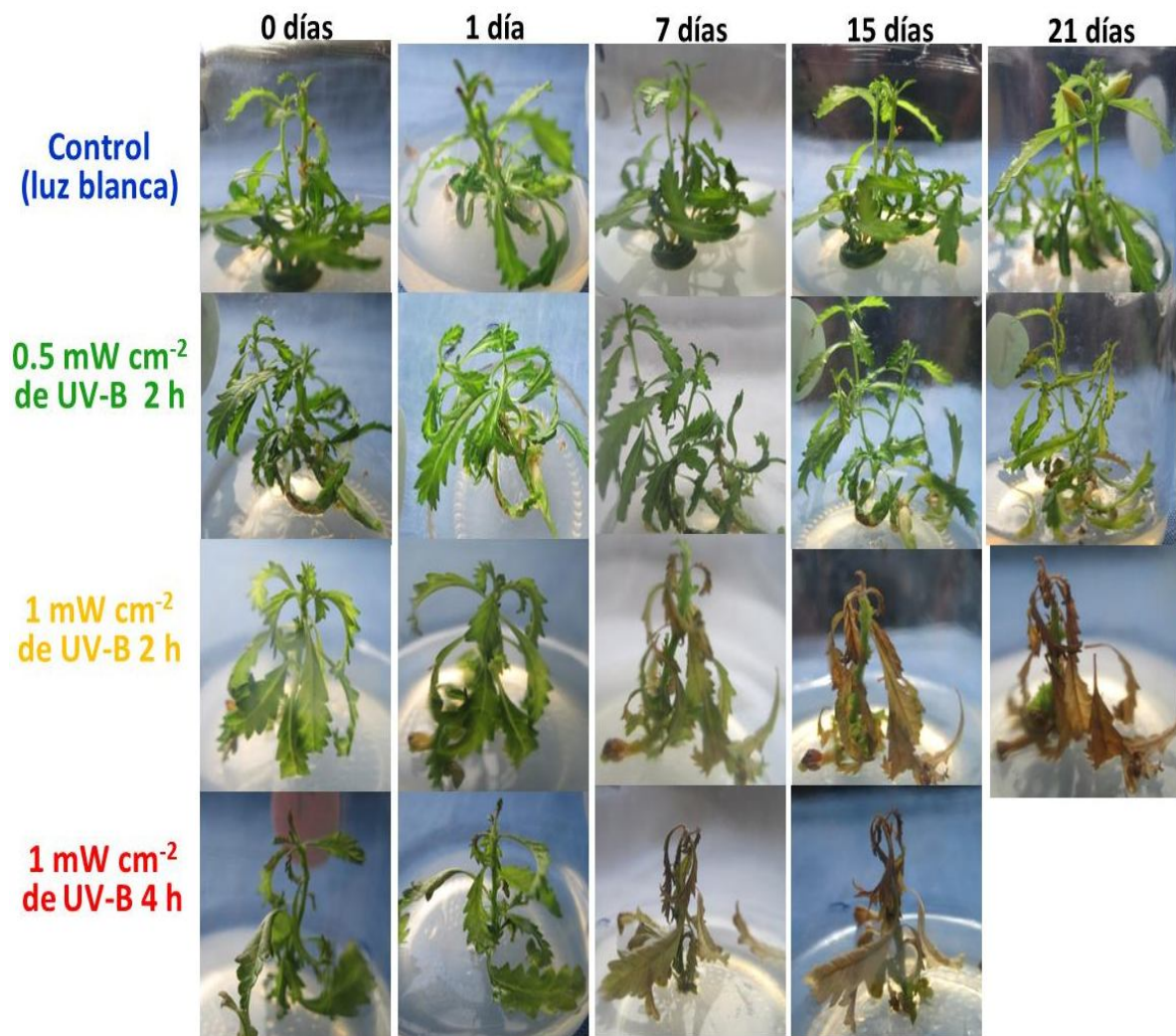


Figura 35. Efecto de los diferentes tratamientos de radiación ultravioleta tipo B (UV-B, 0.5 mW cm^{-2} 2 h, 1 mW cm^{-2} 2 h, 1 mW cm^{-2} 4 h diarias y control) sobre damiana (*Turnera diffusa*) *in vitro* durante el periodo experimental.

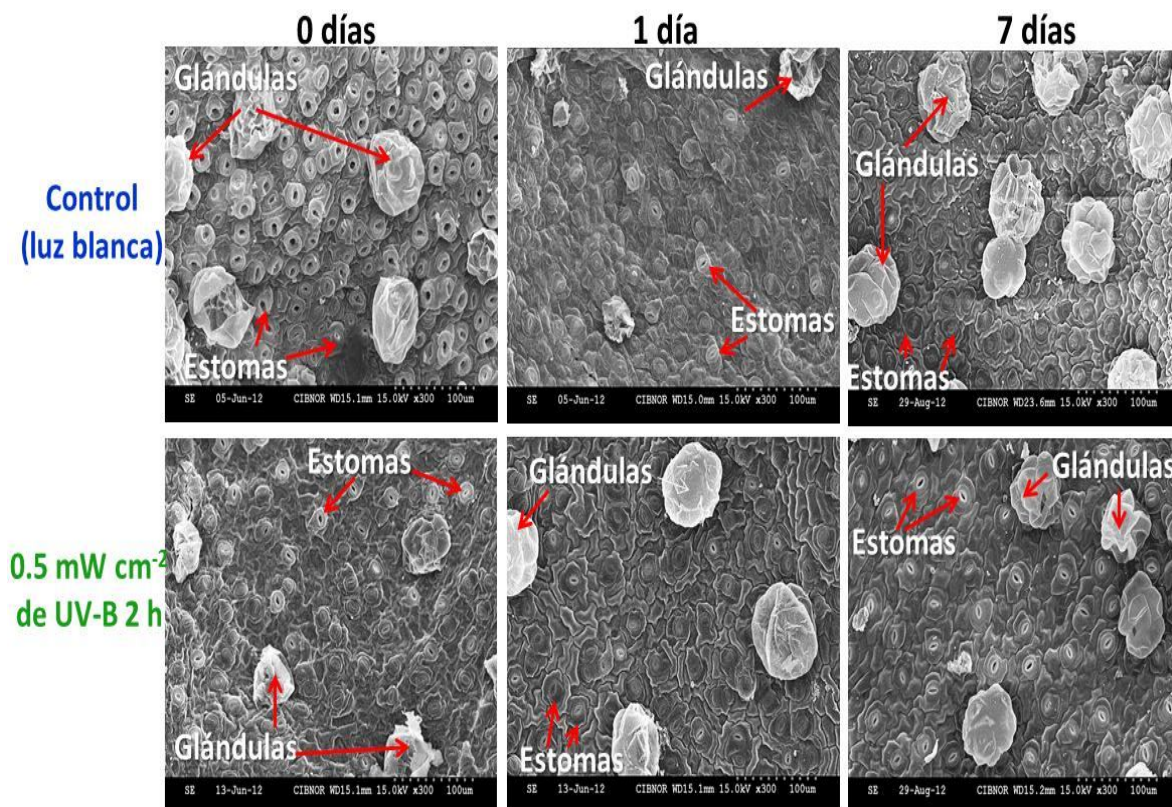


Figura 36. Morfología del envés de las hojas de damiana (*Turnera diffusa* Willd) *in vitro* obtenidas por microscopia electrónica a 300X, para observar el efecto de la radiación ultravioleta tipo B (UV-B, 0.5 mW cm⁻² 2 h diarias y control).

Tabla III. Morfología de las hojas de Damiana (*Turnera diffusa*) *in vitro* control (luz blanca) e irradiadas con UV-B (0.5 mW cm⁻² 2 h diarias) a 0, 1 y 7 días de tratamiento.

Tratamientos	Número de estomas			Área estomática			Apertura y cierre estomático			Número de glándulas			
	Días	0	1	7	0	1	7	0	1	7	0	1	7
Control		988.9 ± 459.9 ^a	988.9 ± 459.9 ^a	766.7 ± 282.9 ^a	242.2 ± 34.9 ^a	242.2 ± 34.9 ^a	186.4 ± 46.6 ^a	C	C	A	26.6 ± 12.4 ^a	26.6 ± 12.4 ^a	30.8 ± 20.8 ^a
UV-B baja 2 h		988.9 ± 459.9 ^a	433.3 ± 88.2 ^a	377.8 ± 83.9 ^a	242.2 ± 34.9 ^a	229.2 ± 34.4 ^a	251.1 ± 66.4 ^a	A	C	A	26.6 ± 12.4 ^a	20.5 ± 16.4 ^a	18.2 ± 7.9 ^a
UV-B alta 2h			nd			nd				nd			nd
UV-B alta 4h			nd			nd				nd			nd
p (días)		---	0.1090	0.4682	---	0.6040	0.2770	---	---	---	---	0.635	0.385
p (tratamientos)			0.215029			0.417091			---			0.317304	

C= Cerrados; A= Abiertos; nd=no determinado. Datos muestran el promedio ± DE; n=5 por triplicado. Diferentes letras indican significancia estadística entre tratamientos; * indican significancia estadística entre días de tratamiento, p<0.05.

7.3. Factores Ambientales: Radiación UV-C

Debido a que la radiación UV-C es más dañina que la UV-B para los tejidos de las plantas, los tratamientos de UV-C empleados fueron aplicados por 5, 10 y 20 min diarios, a diferencia de los tratamientos con UV-B los cuales fueron aplicados por 2 h y 4 h diarias.

7.3.1. Actividad de Enzimas Antioxidantes

7.3.1.1. Actividad Enzimática de Superóxido Dismutasa

La actividad de SOD total en hojas de plantas irradiadas con UV-C fue menor que en las plantas control; sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos ($p=0.0780$, Fig. 37A). Se observó mayor actividad de SOD en las hojas de las plantas control al séptimo día de tratamiento ($p<0.0001$, Fig. 37A). En tallos se observó un incremento significativo en la actividad de SOD durante 7 días de tratamiento con radiación UV-C con dosis de 10 y 20 min ($p=0.0010$, Fig. 37B).

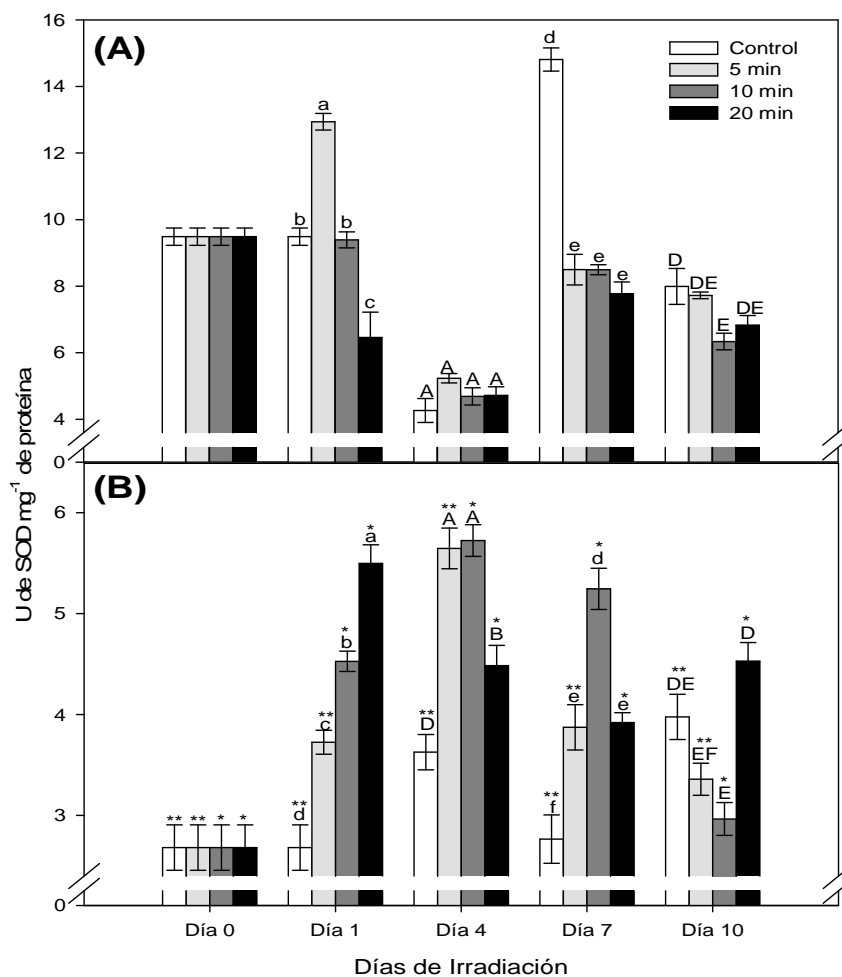


Figura 37. Actividad enzimática específica de superóxido dismutasa (SOD, U mg⁻¹ de proteína) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios. Los datos se presentan como promedio \pm SE, n=3. Los datos se presentan como promedio \pm SE, n=3. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

7.3.1.2. Actividad Enzimática de Catalasa

La actividad de CAT en hojas y en tallos en los diferentes tratamientos de UV-C en damiana estuvo por debajo del límite de detección.

7.3.1.3. Actividad Enzimática de las Peroxidasas Totales

La actividad de POX total en hojas fue menor en las plantas irradiadas con UV-C en comparación con las plantas control ($p=0.0036$, Fig. 38A). La actividad de POX fue mayor en hojas de plantas control al séptimo día de tratamiento ($p<0.0001$, Fig. 38). A mayor radiación UV-C (dosis 20 min diarios) menor actividad de POX en hojas durante el experimento ($p=0.0036$, Fig. 38A). La actividad de POX en tallos fue mayor con el tratamiento de 5 min de exposición diaria, a lo largo del periodo experimental ($p=0.0026$, Fig. 38B). La actividad de POX fue mayor en hojas que en tallos en todos los tratamientos a lo largo del período experimental ($p<0.0001$, Fig. 38).

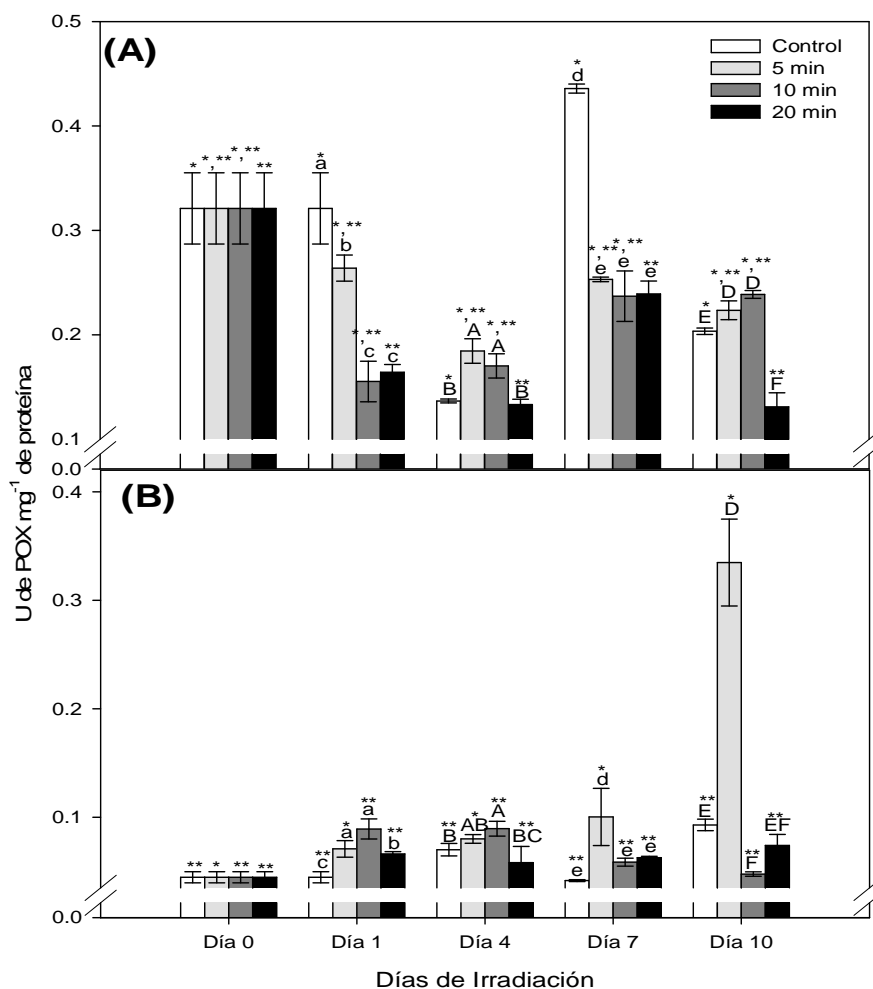


Figura 38. Actividad enzimática específica de peroxidasas totales (POX, U mg⁻¹ de proteína) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios. Los datos se presentan como promedio \pm SE, n=3. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

7.3.2. Determinación de Compuestos Antioxidantes No Enzimáticos

7.3.2.1. Contenido de Clorofila *a* y Clorofila *b*

El contenido de clorofila *a* fue menor en las hojas de plantas de damiana expuestas a radiación UV-C 20 min con respecto al control ($p=0.0001$, Fig. 39A). En tallos, el

contenido de clorofila *a* fue mayor en plantas expuestas a 20 min de UV-C diario con respecto al control ($p=0.0009$, Fig. 39B). No se observaron diferencias significativas en el resto de los tratamientos con respecto al control. Finalmente, el contenido de clorofila *a* fue mayor en hojas con respecto a tallos en todos los tratamientos a lo largo del periodo experimental ($p<0.0001$, Fig. 39).

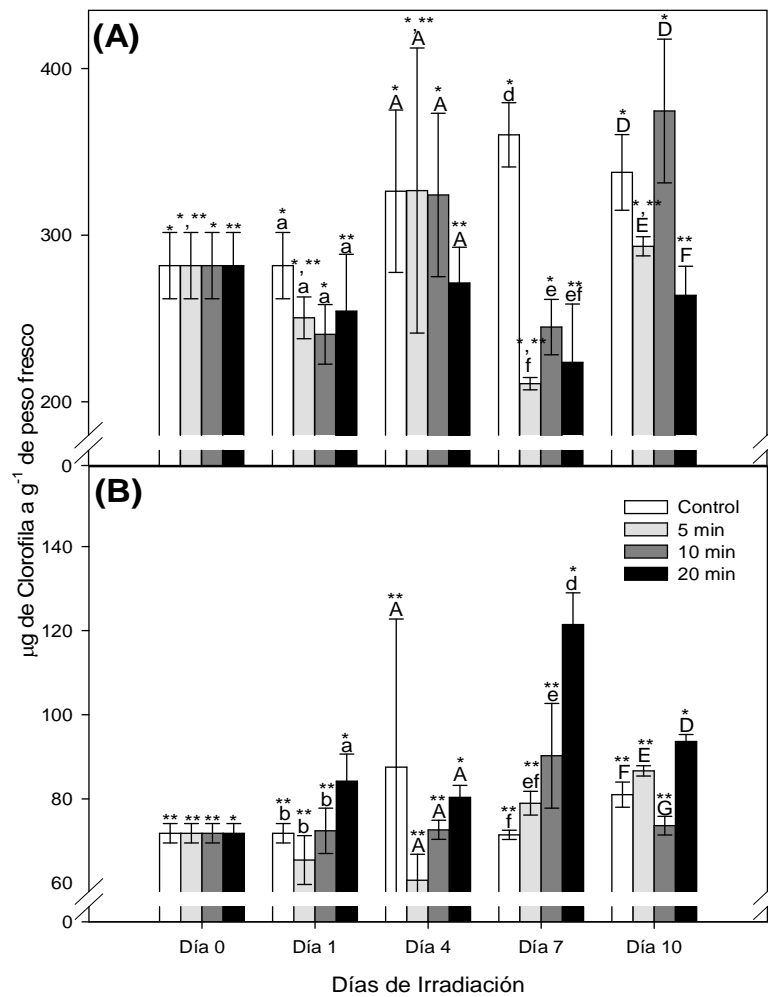


Figura 39. Contenido de clorofila *a* (μg de clorofila *a* g^{-1} de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=3$. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

El contenido de clorofila *b* fue menor en los tratamientos de 20 min de radiación con UV-C en hojas de damiana con respecto al control ($p=0.0011$, Fig. 40A). En tallos, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos a lo largo del periodo experimental ($p=0.1240$, Fig. 40B). El contenido de clorofila *b* fue mayor en hojas con respecto a tallos en todos los tratamientos durante el periodo experimental ($p<0.0001$, Fig. 40).

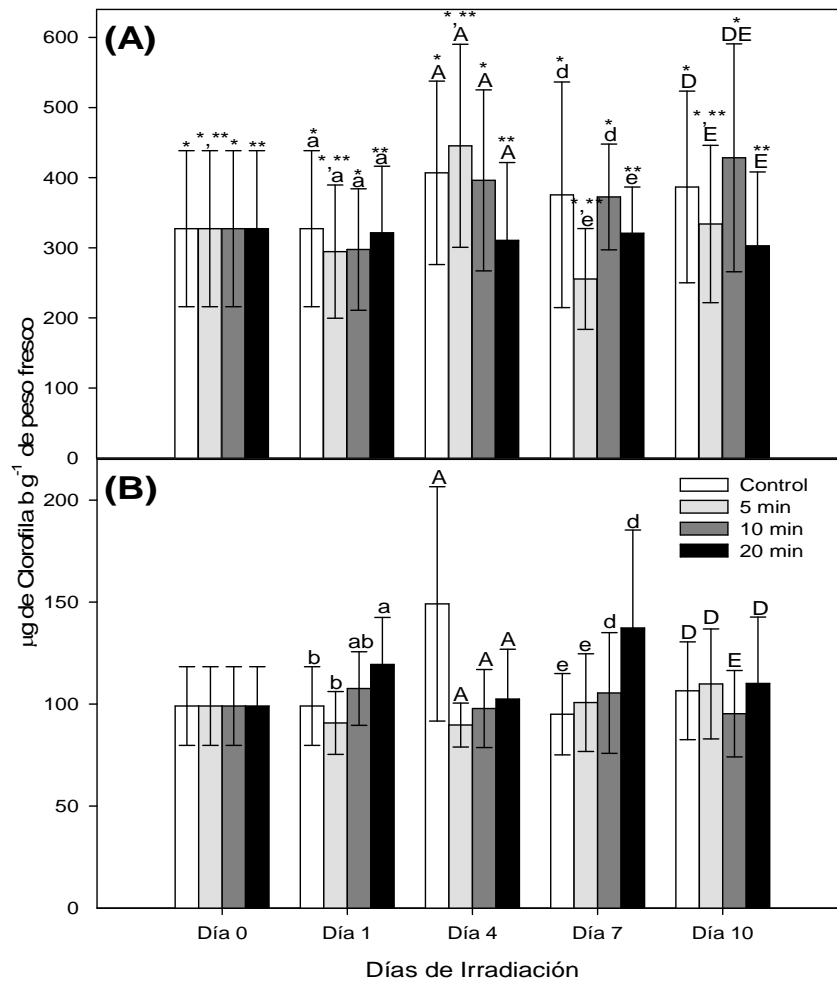


Figura 40. Contenido de clorofila *b* (μg de clorofila *b* g^{-1} de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=3$. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

7.3.2.2. Contenido de Carotenoides Totales

El contenido de carotenoides fue menor en hojas de damiana expuesta a 20 min de radiación UV-C diarios en comparación con las plantas control ($p=0.0351$, Fig. 41A). Al día 10 de irradiación, con el tratamiento de 10 min de UV-C el contenido de carotenoides en damiana aumentó a concentraciones similares al control ($p=0.0033$, Fig. 41A). En tallos, se observaron diferencias significativas en el contenido de carotenoides totales entre tratamientos ($p<0.0001$). El contenido de carotenoides fue mayor en plantas expuestas a 20 min de UV-C en comparación con el resto de los tratamientos y el control (Fig. 41B). El contenido de carotenoides totales fue mayor en hojas con respecto a tallos en todos los tratamientos durante el periodo experimental ($p<0.0001$, Fig. 41).

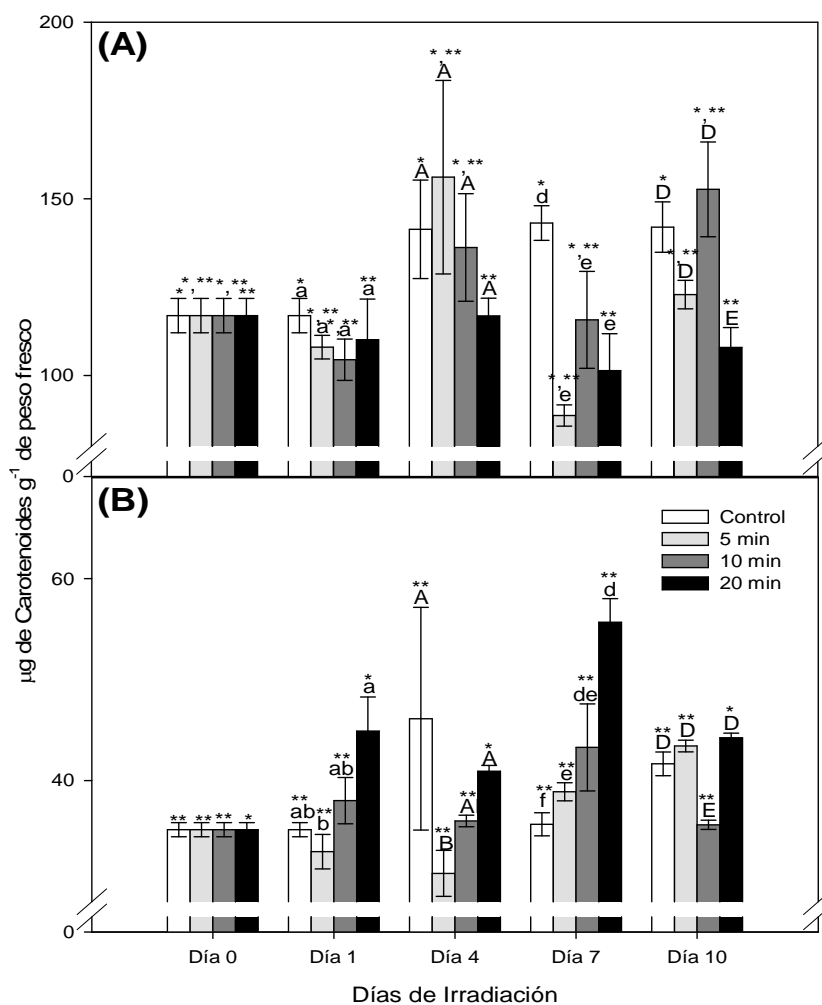


Figura 41. Contenido de carotenoides totales (μg de carotenoides a g^{-1} de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=3$. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

7.3.2.3. Contenido de Vitamina C (Ácido Ascórbico)

Debido a la insuficiencia de material biológico (tallos) el contenido de vitamina C se analizó únicamente en hojas. No se observaron diferencias significativas en el contenido de vitamina C (equivalente a α -tocoferol) en hojas de damiana expuesta a radiación UV-C

a lo largo de todo el periodo experimental ($p=0.9111$, Fig. 42). Sin embargo, se observó que el contenido de vitamina C tuvo una tendencia ($p=0.9111$) a disminuir a lo largo del periodo experimental de exposición a UV-C, tanto en plantas irradiadas como en plantas control (Fig. 42).

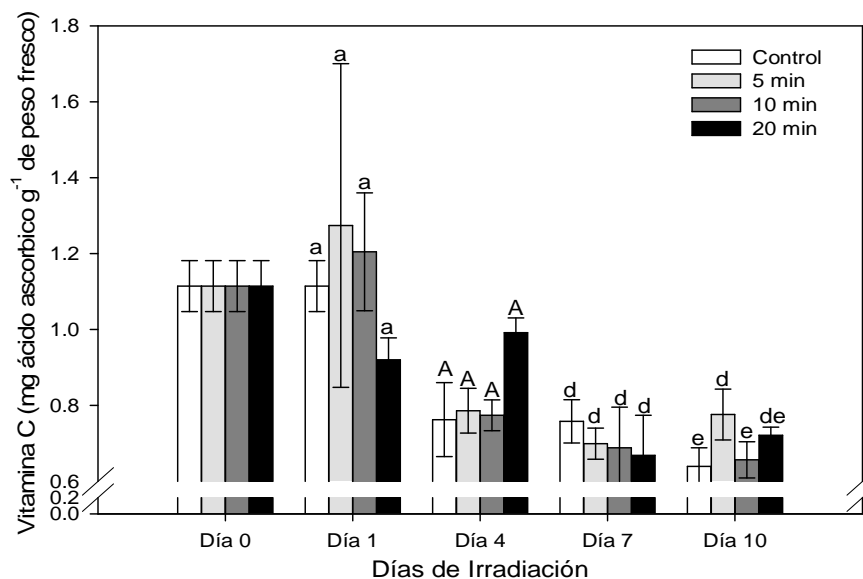


Figura 42. Contenido de vitamina C (mg equivalentes de ácido ascórbico g^{-1} de peso fresco) en hojas frescas de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=3$. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

7.3.2.4. Contenido de Vitamina E (α -Tocoferol)

Debido a la insuficiencia de material biológico, el contenido de vitamina E se analizó únicamente en hojas. El contenido de vitamina E en plantas irradiadas por 20 min diarios de UV-C fue mayor que en las plantas control ($p=0.0487$, Fig. 43).

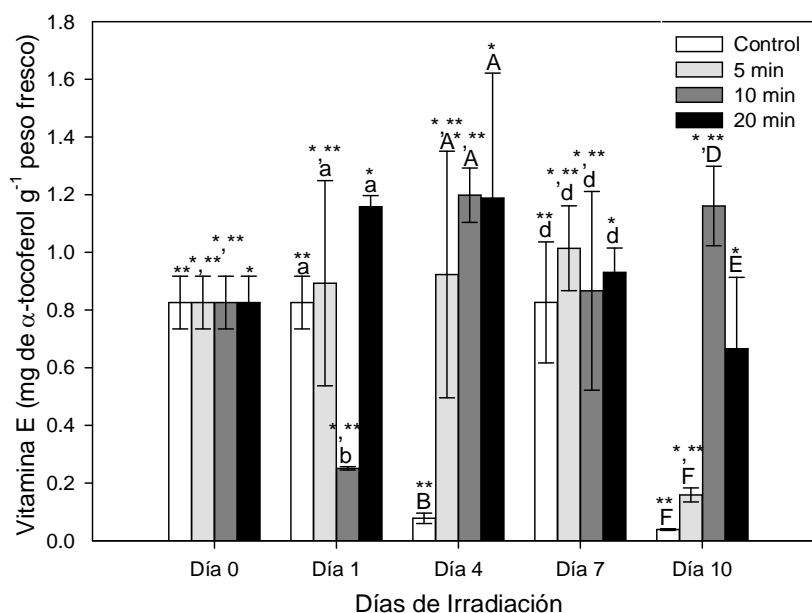


Figura 43. Contenido de vitamina E (mg equivalentes de α -tocopherol g^{-1} de peso fresco) en hojas frescas de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=3$. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

7.3.2.5. Compuestos Fenólicos Totales

En hojas de las plantas recién irradiadas, el contenido de compuestos fenólicos fue mayor en las damianas expuestas a UV-C por 5 min que en las plantas control ($p<0.0001$, Fig. 44A). A partir de los 7 días de tratamiento las plantas irradiadas con UV-C presentaron un mayor contenido de compuestos fenólicos totales que las plantas control ($p<0.0001$ Fig. 44A). Al décimo día de exposición con dosis de 20 min con UV-C el contenido de compuestos fenólicos disminuyó en comparación con las plantas expuestas por 5 y 10 min de UV-C ($p<0.0001$, Fig. 44A). No se observaron diferencias significativas en el contenido de compuestos fenólicos totales entre tratamientos en tallos de damiana expuestos a radiación UV-C ($p=0.2624$, Fig. 44B). Se observó una tendencia de incremento en el

contenido de compuestos fenólicos totales al final del periodo experimental, tal que al décimo día de exposición bajo todos los tratamientos con UV-C el contenido de compuestos fenólicos fue mayor en comparación con el control ($p=0.0004$, Fig. 44B).

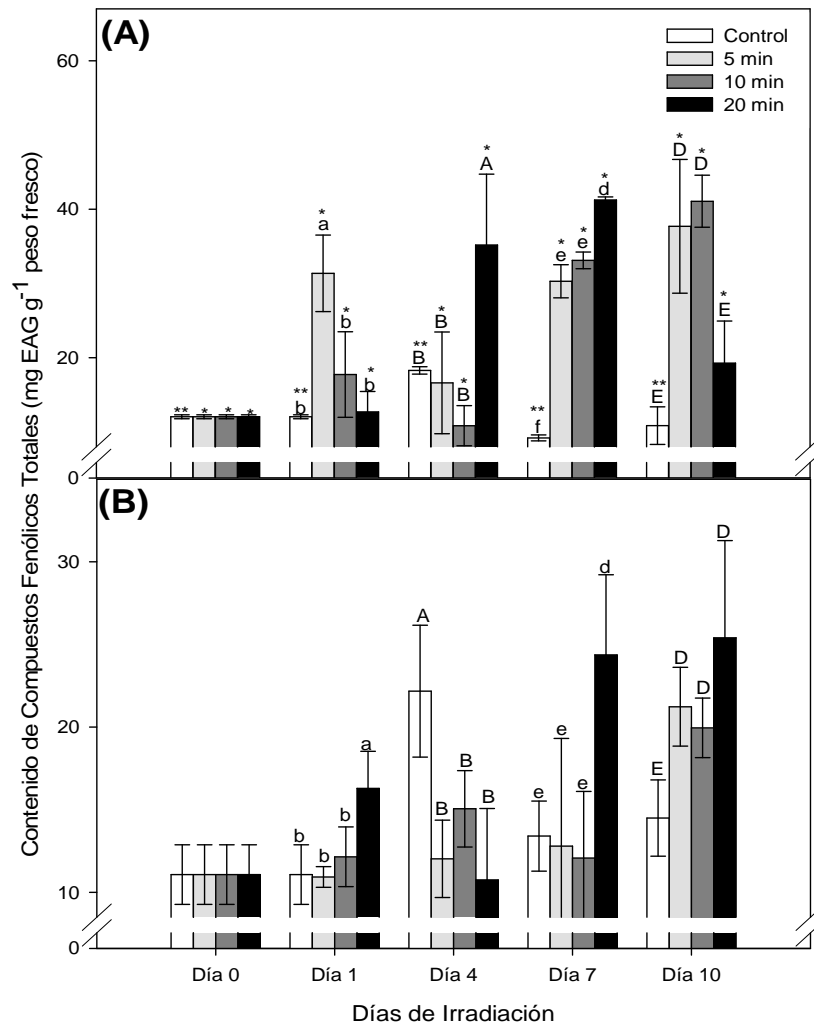


Figura 44. Compuestos fenólicos totales equivalentes de ácido gálico (mg EAG g^{-1} de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=3$. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

7.3.3. Capacidad Antioxidante Total

Se observó una menor capacidad antioxidante total en hojas de damiana irradiadas con UV-C por 5 y 10 min diarios en comparación con el control ($p=0.0001$, Fig. 45A). Al séptimo día de tratamiento, la capacidad antioxidante total en las plantas irradiadas con UV-C por 5, 10 y 20 min fue menor que el control ($p=0.0001$, Fig. 45A). No se observaron diferencias significativas en la capacidad antioxidante total en tallos de damiana entre tratamientos con radiación UV-C por 5, 10 y 20 min ($p=0.0771$, Fig.45B). La capacidad antioxidante total en las plantas tratadas con radiación UV-C por 20 min diarios fue mayor al séptimo día de tratamiento que las plantas control e irradiadas con dosis de 5 y 10 min ($p<0.0001$, Fig. 45B). Al final del periodo experimental (décimo día), la capacidad antioxidante total fue significativamente menor en las plantas irradiadas con UV-C en comparación con las plantas control ($p=0.0003$, Fig. 45B). La capacidad antioxidante total fue mayor en hojas con respecto a tallos en todos los tratamientos con radiación UV-C a lo largo del periodo experimental ($p=0.0026$, Fig. 45).

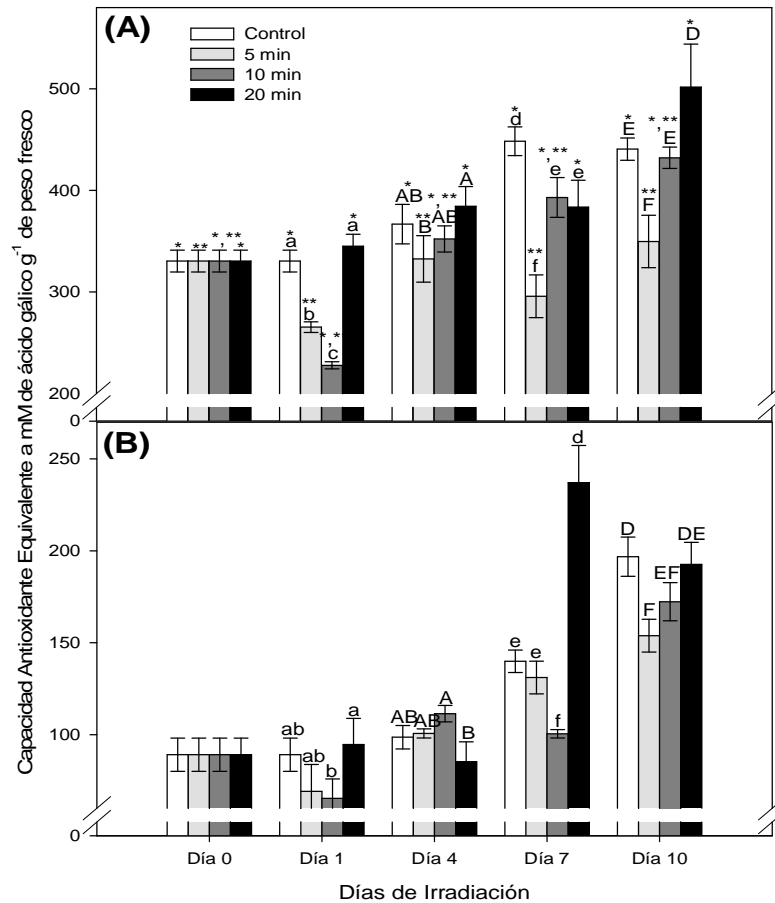


Figura 45. Capacidad antioxidante total (equivalentes de ácido gálico, mM EAG g⁻¹ de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios. Los datos se presentan como promedio \pm SE, n=3. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

7.3.4. Lipoperoxidación

La concentración de daño oxidativo a lípidos, cuantificado como TBARS, no fue significativamente diferente entre tratamientos a lo largo del periodo de exposición en hojas ($p=0.7635$, Fig. 46A) y en tallos ($p=0.0780$, Fig. 46B) de *T. diffusa*. Al final del experimento los niveles de TBARS fueron iguales en las plantas control y los tratamientos

($p=0.0001$, Fig. 46A). En tallos, la concentración de TBARS en las plantas recién irradiadas (día uno) con los tratamientos con UV-C por 5, 10 y 20 min diarios fue mayor que en las plantas control ($p=0.0001$). Al décimo día de tratamiento la concentración de TBARS en los tallos de las plantas irradiadas con UV-C por 5, 10 y 20 min diarios fue mayor que en las plantas control ($p=0.0001$, Fig. 46B).

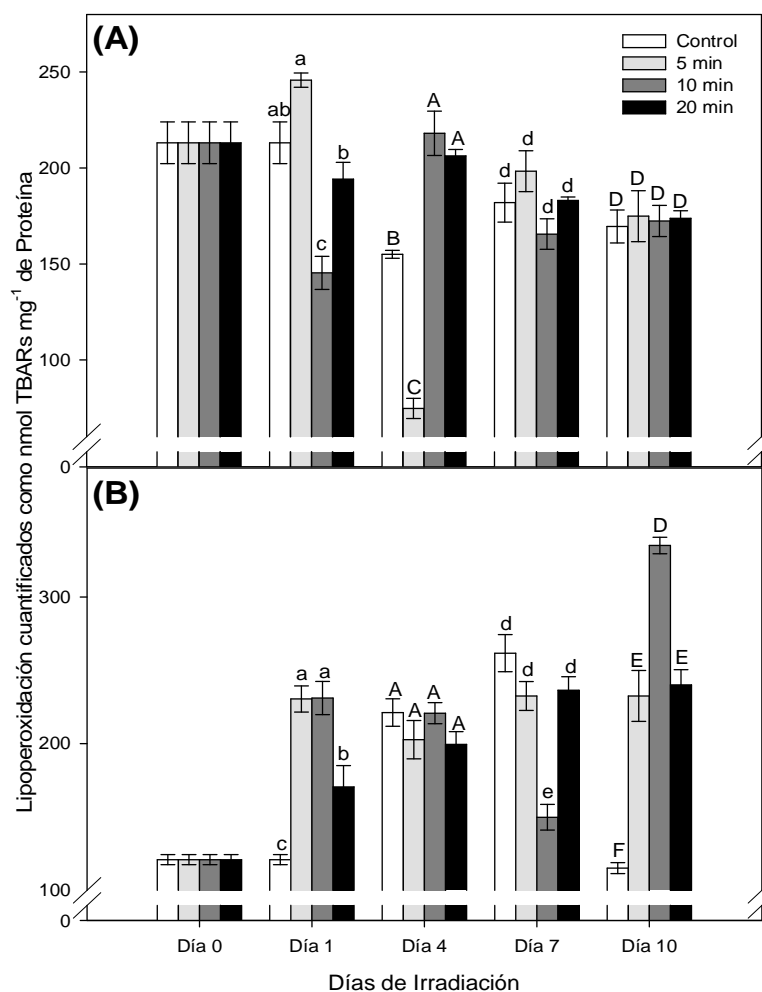


Figura 46. Lipoperoxidación (nmol de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico [TBARS] mg^{-1} de proteína) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=3$. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

7.3.5. Carbonilos Proteicos

No se observaron diferencias significativas en la concentración de carbonilos proteicos en hojas de las plantas control y bajo tratamiento con UV-C por 5, 10 y 20 min ($p=0.7436$, Fig.47A). La concentración de carbonilos proteicos en hojas de damiana, tanto control como bajo tratamiento con UV-C (5, 10 y 20 min), disminuyó a lo largo del periodo experimental (Fig. 47A). Al décimo día de tratamiento las plantas con mayor dosis de UV-C (20 min) presentó mayor contenido de carbonilos proteicos en comparación con el control y los demás tratamientos (Fig. 47A). La concentración de carbonilos proteicos en los tallos de las plantas control, así como de las plantas tratadas por 20 min diarios con UV-C, fue significativamente mayor que en los demás tratamientos ($p=0.0133$, Fig. 47B).

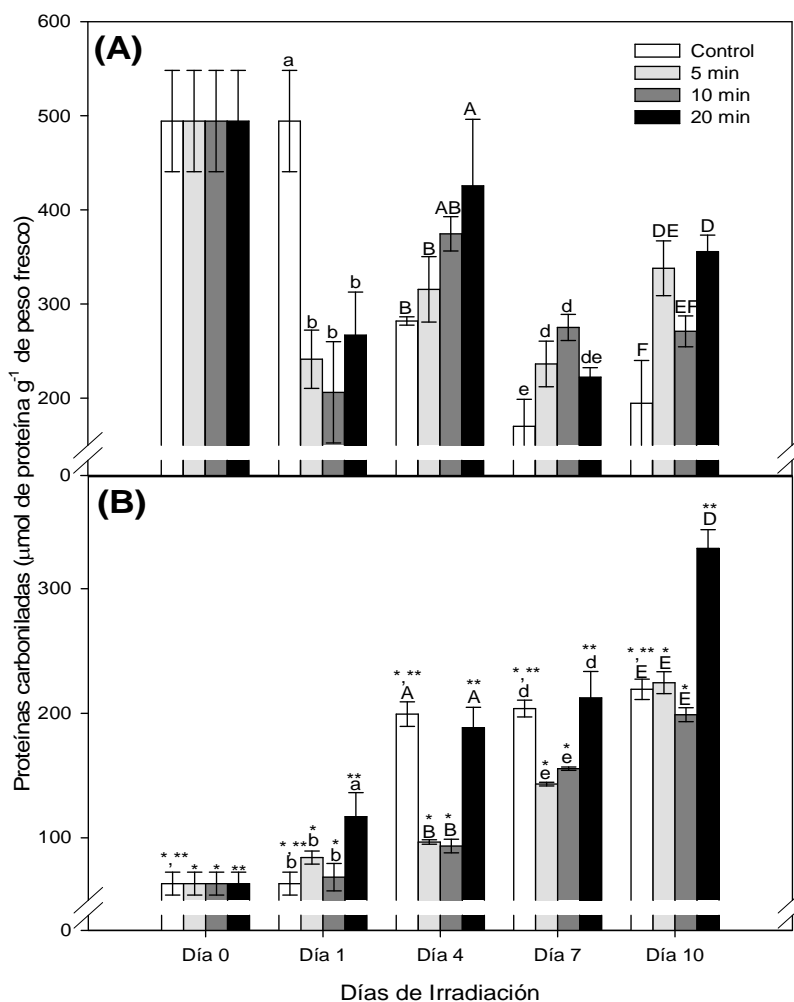


Figura 47. Carbonilos proteicos ($\mu\text{mol de g}^{-1}$ peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=3$. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

7.3.6. Contenido de Proteínas Totales

Se encontró mayor contenido de proteínas totales en las hojas de las plantas irradiadas por 20 min diarios con UV-C en comparación con el control ($p=0.0120$, Fig. 48A). En tallos, no se observaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ni con

respecto al control ($p=0.0538$, Fig. 48B). El contenido de proteínas totales fue mayor en los tallos con respecto a hojas en todos los tratamientos durante el periodo experimental ($p=0.0201$, Fig. 48).

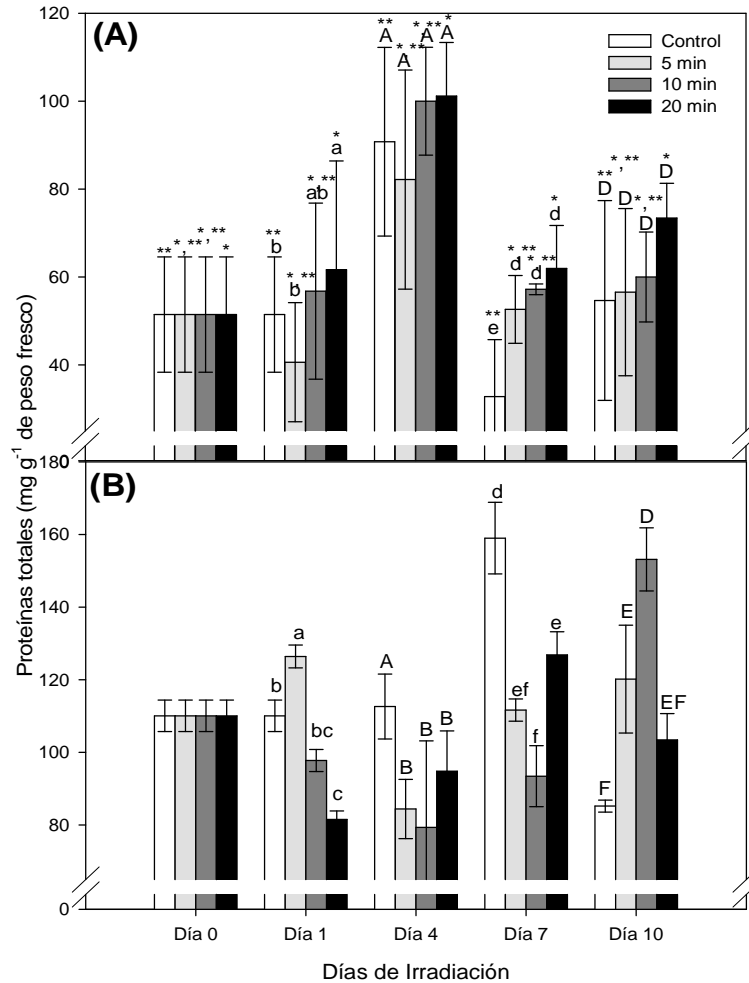


Figura 48. Contenido de proteínas totales (mg g^{-1} de peso fresco) en (A) hojas y (B) tallos frescos de damiana (*Turnera diffusa*) control (luz blanca) e irradiados con ultravioleta tipo C (UV-C) durante 5, 10 y 20 min diarios. Los datos se presentan como promedio \pm SE, $n=3$. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos por día de tratamiento, los asteriscos denotan diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el periodo experimental, $\alpha=0.05$.

7.3.7. Parámetros Morfológicos

Las plantas expuestas a UV-C tendieron a deshidratarse mostrando hojas marchitas y finalmente a perder sus hojas (Fig. 49). A mayor dosis o tiempo de exposición diaria a UV-C, la intensidad del efecto fue aparentemente mayor (Fig. 49).

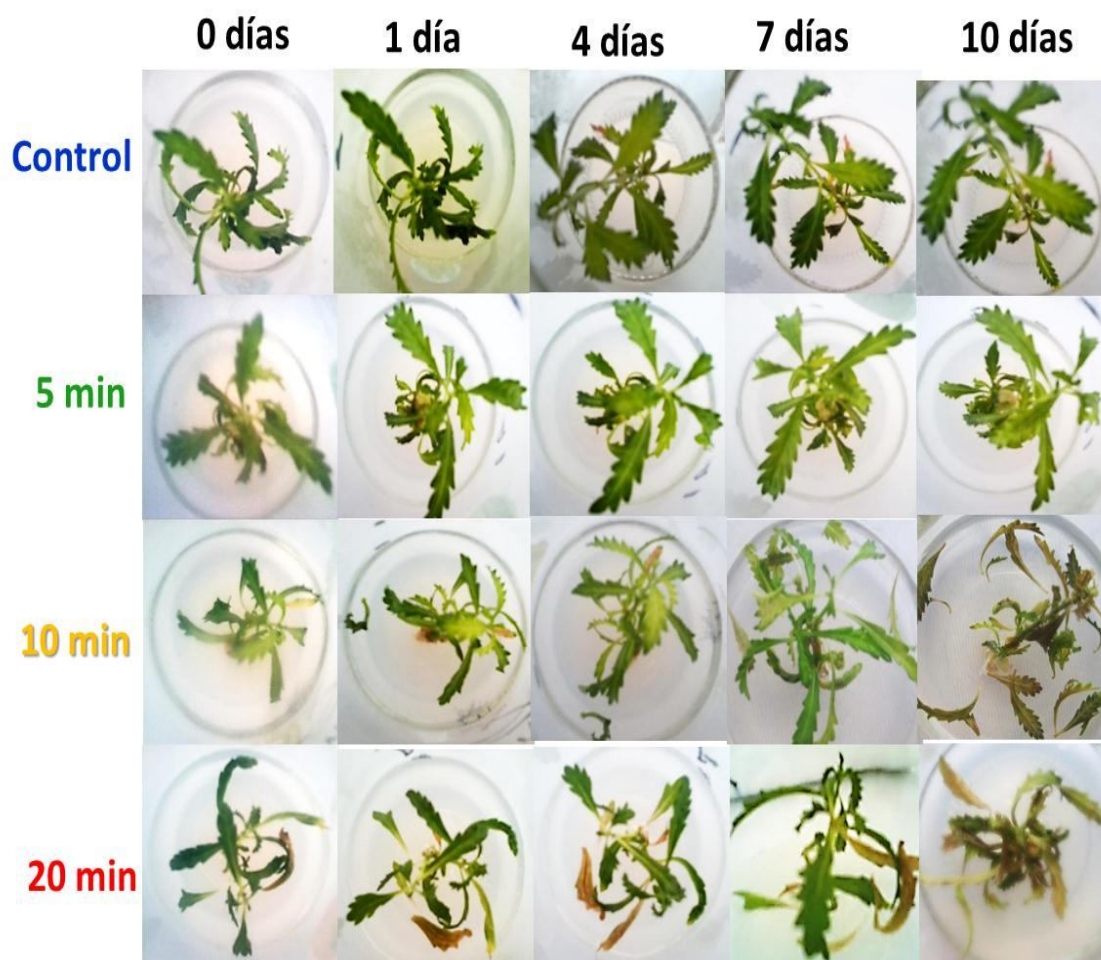


Figura 49. Efecto de los tratamientos de radiación ultravioleta tipo C (UV-C, 5, 10, 20 min diarios y control) sobre damiana (*Turnera diffusa* Willd) *in vitro* durante el periodo experimental.

8. DISCUSIÓN

8.1. Factores de Cultivo y Manejo Poscosecha

En este estudio, las concentraciones más bajas de todos los oligoelementos analizados se observaron en hojas y en tallos de damiana de la población de El Carrizal. Esto puede estar relacionado con la nutrición de las plantas y la calidad del suelo (Fig. 12). El pH del suelo afecta la disponibilidad de los nutrientes y la solubilidad de minerales del suelo (Luters y Salazar, 2000). Los valores de pH entre 6.0 y 7.5 son los óptimos para el crecimiento de la mayoría de los cultivos de las plantas (Luters y Salazar, 2000). Los valores de pH en el suelo de El Carrizal se encuentran en el rango de 7.8-8.9, en La Paz 7.3-8.4, y en Todos Santos 6.5-8.4 (Meza-Sánchez y Martínez-Rodríguez, 2004). Los suelos más alcalinos en la región del El Carrizal podrían afectar la disponibilidad de los macro- y microelementos para las plantas de esta región.

Los suelos de textura media son considerados como los más adecuados para la agricultura, mientras que en los de textura gruesa o arenosa se deben de contemplar prácticas de mejoramiento de suelos o tratamientos que permitan a las plantas alcanzar los niveles de producción deseados (Meza-Sánchez y Martínez-Rodríguez, 2004). La textura del suelo en El Carrizal es gruesa o arenosa, mientras que en Todos Santos y La Paz es de textura media (Meza-Sánchez y Martínez-Rodríguez, 2004). Por lo tanto, es posible que la textura de los suelos afecte la disponibilidad de los nutrientes para las plantas de damiana de El Carrizal.

Los elementos minerales considerados como macronutrientes son requeridos por las plantas en concentraciones de, por lo menos, 1000 mg Kg^{-1} en base seca (Raven *et al.*,

1992). Los datos obtenidos en este estudio muestran valores mínimos de 1000 mg Kg^{-1} en base seca de Mg en todas las poblaciones de *damiana* analizadas, tanto en hojas como en tallos (Fig. 12). Los micronutrientes son elementos que requieren las plantas en concentraciones entre $0.1\text{-}100 \text{ mg Kg}^{-1}$ en base seca, dependiendo del mineral. Por ejemplo, para Fe se manejan concentraciones de 100 mg Kg^{-1} (Raven *et al.*, 1992). Las concentraciones de Fe en las hojas de *damiana* de las poblaciones de CIBNOR y Todos Santos fueron 228.18 ± 48.91 y $185.60 \pm 52.98 \text{ mg Kg}^{-1}$, respectivamente, mientras que en el resto de los tejidos y poblaciones se encontraron concentraciones de Fe por debajo de este valor (Fig. 12). Para Zn se maneja 20 mg Kg^{-1} de base seca (Raven *et al.*, 1992), lo cual corresponde a los datos obtenidos para Zn en las hojas de todas las poblaciones analizadas en este estudio. Sin embargo, las concentraciones de Zn en los tallos se encontraron por debajo del valor requerido (Fig. 11).

Las concentraciones de Cu en hojas y tallos de *damiana* de las poblaciones de CIBNOR y Todos Santos fueron cercanos al valor de 6 mg Kg^{-1} de base seca sugerido por Raven *et al.* (1992). En *damiana* de El Carrizal se encontraron concentraciones de Cu por debajo del valor de referencia (Fig. 12). Spears (1994) reportó que las concentraciones bajas de Cu en las plantas pueden ser causadas por concentraciones elevadas de pH en los suelos. La alcalinidad del suelo causa varios problemas nutricionales en las plantas, como la clorosis, por la incapacidad de las plantas de absorber suficiente Fe o Mn; también pueden ocurrir deficiencias de Cu, Zn, potasio (K) o fósforo (P) a causa de su baja solubilidad, y de N debido al bajo contenido de materia orgánica (Meza-Sánchez y Martínez-Rodríguez, 2004).

Ramírez-Orduña *et al.* (2005) estudiaron el contenido mineral de plantas empleadas en el forraje en BCS, entre ellas la damiana del rancho “Palmar de Abajo” localizado entre El Carrizal y Todos Santos. Dicho estudio reporta valores en los rangos de 1.6-3 g Mg Kg⁻¹, 325.9-405.1 g Fe Kg⁻¹, 6-6.4 g Cu Kg⁻¹ y 17-20.2 g Zn Kg⁻¹, en base seca de las hojas de damiana de ese sitio, dependiendo de la estacionalidad (Ramírez-Orduña *et al.*, 2006). Las concentraciones de Mg en base seca en el presente estudio coinciden con lo reportado por Ramírez-Orduña *et al.* (2006). El contenido del fertilizante que se le adiciona a las plantas cultivadas en CIBNOR tiene una composición de N 17%, P 17%, K 17%, Mg 1.7%, azufre (S) 3.04%, boro (B) 0.10%, Cu 0.08%, Mn 0.08%, Fe 0.06% y Zn 0.04%. La adición de fertilizantes a la damiana cultivada en el CIBNOR puede incrementar la cantidad de macro- y micronutrientes en las plantas. Hu *et al.* (2010) reportan un mayor contenido de N, P, Cu, Zn, Fe y Mn en hojas que en tallos de maíz, y sugieren que la aplicación de fertilizantes modifica el contenido de oligoelementos en los diferentes órganos de tal manera que Cu aumenta en las hojas, mientras que en los tallos disminuye, Fe disminuye en hojas y tallos, y la concentración de Zn depende del fertilizante empleado.

La actividad enzimática de SOD fue mayor en las hojas que en los tallos de damiana (Fig. 13A). Esto podría deberse a que, en general, en las hojas de las plantas hay una mayor actividad metabólica. En este tejido se desarrolla la mayor actividad fotosintética de las plantas y, por lo tanto, puede esperarse una mayor producción de ERO. Se observó mayor actividad de SOD en los tejidos (hojas y tallos) secos en comparación con los frescos (Fig. 13). Ello sugiere que los procesos de deshidratación o manejo poscosecha modifican la actividad de las enzimas antioxidantes. La acción de las enzimas presentes en los productos

hortofrutícolas durante los procesos de deshidratación influyen directamente sobre la calidad y cantidad de los compuestos activos o fitoquímicos de las plantas (Capecka *et al.*, 2005; Sellami *et al.*, (2011)). En particular, Hossain *et al.* (2010) mencionan que la actividad de SOD y POX disminuye debido a la pérdida de agua. Se ha reportado que la actividad de las enzimas SOD y POX incrementa como mecanismo de respuesta también en otros procesos en donde se involucra la pérdida de agua, como es la desecación (Moran *et al.*, 1994; Fazeli *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2011). Esto probablemente se deba a que los genes que codifican para las enzimas SOD, APX y GR se sobre-expresan durante el secado de los tejidos vegetales (Yordanov *et al.*, 2003). Por otra parte, debido a que los microelementos como el Mn, Cu, Zn y Fe son cofactores de las enzimas SOD, POD y CAT (Aqil *et al.*, 2006), se llevó a cabo la correlación entre el contenido de microelementos (Cu, Zn y Fe) y la actividad de las enzimas antioxidantes. Sin embargo, no se encontró correlación entre el contenido de microelementos y la actividad enzimática en plantas de *damiana*. Probablemente debido a que las concentraciones requeridas como cofactores son tan pequeñas que no fueron posibles determinar por el alto contenido de microelementos (Fig. 12).

Se observaron mayores concentraciones de clorofila *a*, clorofila *b* y carotenoides totales en los tejidos (hojas y tallos) frescos que en los secos (Figs. 16 y 17). Estas diferencias se deben, probablemente, al proceso de deshidratación. Las clorofilas son altamente susceptibles a la degradación durante el procesamiento y el almacenamiento (Lajolo y Lanfer-Marquez, 1982; Heaton *et al.*, 1996; Monreal *et al.*, 1999; King *et al.*, 2001). La desnaturalización de las clorofilas a feofitinas y otros derivados por acción de las

lipoxigenasas, generan el cambio de la coloración de los tejidos vegetales de verde olivo a amarillo olivo (Gupte *et al.*, 1963). Lo anterior, en ocasiones, es percibido por los consumidores como pérdida de la calidad de los productos hortofrutícolas o de origen vegetal. Las propiedades de las clorofilas en los tejidos verdes dependen de la naturaleza de la asociación entre lipoproteínas y cloroplastos. El rompimiento de esta asociación genera una desorganización en la estructura de las clorofilas, lo cual se genera durante el procesamiento y almacenamiento de los tejidos vegetales, y va a depender de la temperatura de almacenamiento, pH, tiempo, presencia de oxígeno y luz (Schwartz y Lorenzo, 1991; Heaton *et al.*, 1996; King *et al.*, 2001).

Meléndez-Martínez *et al.* (2004) reportaron degradación de los carotenoides debido a reacciones de oxidación, enzimáticas y no enzimáticas, durante el secado de frutas y verduras, y a la pérdida de la integridad celular por el contacto con sustancias que pueden modificar la estructura de los pigmentos. Rodríguez-Amaya (1999) sugiere que los carotenoides, al ser altamente insaturados, son susceptibles a la isomerización y oxidación, promovidas por el calor y la luz durante el procesamiento, lo cual disminuye el color y la actividad de la vitamina A de los alimentos. Aparentemente, el grado de destrucción de los carotenoides aumenta con el grado de destrucción de las estructuras celulares, el incremento del área superficial, porosidad, tiempo y severidad de las condiciones del proceso, duración, y temperatura de almacenamiento (Rodríguez-Amaya, 1999).

Lefsrud *et al.* (2008) reportaron que el contenido de luteína, β -caroteno y clorofilas para sus modelos de estudio (espinacas y col verde Kale) disminuyó en más del 70% por

efecto de la temperatura de secado o deshidratación de los productos. Tai y Chen (2000) reportaron que, como resultado de la deshidratación con aire caliente, la concentración de luteína y β -caroteno disminuyeron 42% y 47%, respectivamente, en flores de azucena amarilla o lirio de día (*Heimerocallis disticha*).

En el presente estudio, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre poblaciones o por las condiciones de cultivo en el contenido de vitamina C en damiana (Fig. 18). Sin embargo, el contenido de vitamina C osciló en un rango de 0.1 a 3.2 mg de ácido ascórbico g^{-1} de tejido en las poblaciones, tejidos y condiciones de procesamiento estudiados. Estos valores son considerados altos en comparación con los reportados en otras plantas medicinales, como por ejemplo *Oldenlandia corymbosa* (Linn) con 0.86 mg ácido ascórbico g^{-1} en hojas frescas y *Dissotis rotundifolia* (SM) Triana con 0.9 mg ácido ascórbico g^{-1} de hojas frescas. Otros frutos y vegetales o subproductos de éstos con concentraciones elevadas de vitamina C son el pimiento verde, con 1.28 mg ácido ascórbico g^{-1} ; jugo de naranja, 0.50 mg ácido ascórbico g^{-1} ; toronja, 0.38 mg ácido ascórbico g^{-1} ; cebollas, 0.15 mg ácido ascórbico g^{-1} ; tomates, 0.20 mg ácido ascórbico g^{-1} , y papa dulce, 0.23 mg ácido ascórbico g^{-1} (Okere y Alonge, 2006).

La deshidratación de las hojas de damiana parece incrementar el contenido de vitamina C, principalmente en la población de CIBNOR (hojas y tallos). Sin embargo, cuando se considera el porcentaje de humedad presente en los tejidos de damiana (hojas y tallos), el contenido de vitamina C disminuye hasta en un 90% en todas las poblaciones (CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y NL) y tejidos (hojas y tallos) analizados (Fig. 18, ver anexo tabla

1). La disminución del contenido de vitamina C es mayor en tallos que en hojas. Al respecto, Vega-Gálvez *et al.* (2009) reportan que la vitamina C puede ser degradada por procesos de oxidación durante el almacenamiento o procesamiento ya que las vitaminas, particularmente la vitamina C, son sensibles a la luz, temperatura, al secado y a diferentes tratamientos poscosecha (Nindo *et al.*, 2003; Capecka *et al.*, 2005; López *et al.*, 2010). Diversos estudios han reportado modificaciones en la concentración de vitamina C por efecto de la deshidratación, tanto en plantas medicinales como en productos hortofrutícolas (Mahanom *et al.*, 1999; Capecka *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2006; López *et al.*, 2010; Orak *et al.*, 2011; Ozgur *et al.*, 2011). A pesar de la disminución del contenido de vitamina C por el secado, éste sigue siendo alto en las plantas de damiana en comparación con otras plantas medicinales y otros productos hortofrutícolas (Okeri y Alonge, 2006).

El contenido de vitamina E está asociado a las condiciones ambientales de crecimiento de las plantas de damiana, ya que se observó un mayor contenido de esta vitamina en las poblaciones silvestres de BCS en comparación con las plantas cultivadas en CIBNOR y las plantas del estado de NL (Fig. 19). Sin embargo, los estudios de las diferencias en el contenido de vitamina E entre poblaciones de una misma especie de planta son escasos. El contenido de vitaminas en las hojas de damiana es sensible a la deshidratación (Fig. 19). Ello puede deberse al contenido de agua o porcentaje de humedad (65.26% en hojas y 56.92% en tallo) de las plantas de damiana (ver anexo Tabla 1).

El contenido de compuestos fenólicos fue mayor en hojas que en tallos de damiana de todas las poblaciones analizadas (Fig. 20). Estas diferencias pueden ser producto del requerimiento fisiológico de cada uno de los tejidos, ya que se ha reportado que los

compuestos fenólicos se encuentran en diferentes partes de las plantas, tanto partes comestibles como no comestibles, como en el caso de frutas y cereales (Stratil *et al.*, 2007). Además, en las hojas de damiana se ha reportado la presencia de ácido cianhídrico y de aceites esenciales, pero no de alcaloides; mientras que en los tallos si se encuentran alcaloides (Lara y Márquez, 1996). Lo anterior apoya la sugerencia de que los tejidos de las plantas de damiana tienen diferentes requerimientos de metabolitos secundarios y compuestos antioxidantes. Pandino *et al.* (2011) reportan diferencias en la cantidad y calidad de los compuestos fenólicos en hojas y tallos florales de cardo (*Cynara cardunculus* L.) silvestre y cultivado; en hojas se encontraron una mayor cantidad de flavonas, mientras que en tallos florales el ácido cafeoilquinico fue el más abundante. Por lo que la acumulación de los compuestos fenólicos se genera en partes específicas de las plantas, dependiendo del papel que desempeñan. Es posible que algo similar ocurra en los diferentes tejidos (hojas y tallos) de la damiana de BCS, lo que podría contribuir a explicar las diferencias encontradas en la cantidad de compuestos fenólicos entre tejidos (hojas y tallos).

Se encontró mayor contenido de compuestos fenólicos en hojas frescas de damiana de CIBNOR y El Carrizal (Fig. 20A) y en tallos frescos de El Carrizal (Fig. 19B). El contenido de los compuestos fenólicos en las plantas depende de un gran número de factores extrínsecos (agronómico, ambiental, almacenamiento, etc.) e intrínsecos (género, especie, poblaciones) (Pandjaitan *et al.*, 2005; Aberoumand y Deokule, 2008). La aplicación de fertilizantes en las plantas cultivadas del CIBNOR podría modificar el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante en las plantas de damiana.

Štajner *et al.* (2008) obtuvieron en plantas del genero *Allium* una mayor cantidad de compuestos fenólicos y flavonoides en plantas cultivadas (cultivadas bajo el uso de fertilizantes) en comparación con las silvestres y concluyen que la introducción al cultivo de algunas plantas de tipo silvestre, como *A. ursinum*, podría ser una actividad futura importante para producir especies con mejores propiedades antioxidantes. La composición de los compuestos fenólicos en los tejidos de las plantas puede variar como consecuencia de la interacción entre el genotipo y el ambiente, y puede variar de manera intra-especifica (Pinelli *et al.* 2007). Además, la diferencia en el contenido de compuestos fenólicos puede ser una respuesta a las condiciones ambientales, tales como la radiación solar y/o temperatura, ya que se sabe que los compuestos fenólicos incrementan en las plantas como respuesta a la radiación de UV-B (Rozema *et al.*, 1999). La damiana es una planta que se desarrolla en climas áridos y semiáridos. En particular, las regiones de colecta de damiana para éste estudio presentan altas dosis de radiación solar: Nuevo León presenta dosis de radiación solar diaria de entre 4.5-5.8 kWh m⁻² día⁻¹ y Baja California Sur presenta dosis superiores a los 7 kWh m⁻² día⁻¹ (Bermudez-Contreras *et al.*, 2008; INEGI, 2011). Por lo que la cantidad de radiación solar presente en las diferentes zonas de colecta puede estar influenciando el contenido de compuestos fenólicos en damiana; quizá por ello las plantas de damiana provenientes poblaciones de BCS presentan mayor contenido de compuestos fenólicos en comparación con las plantas de damiana de NL. Estos resultados apoyan la percepción de los consumidores de que la damiana de BCS es más eficiente en sus propiedades farmaceuticas en comparación con la de otros Estados de la República Mexicana y por ello es preferida por los consumidores, a pesar de su mayor costo por considerarse de mejor calidad (Gámez *et al.*, 2010).

El contenido de compuestos fenólicos se modifica por efecto de la deshidratación o secado, principalmente al considerar el porcentaje de humedad de los tejidos (Fig. 20, ver anexo Tabla 1). Resultados similares de disminución del contenido de compuestos fenólicos con la deshidratación han sido reportados en hojas y/o infusiones (té) de diversas especies de gengibre (*A. zerumbet*, *E. elatior*, *C. longa* y *K. galanga*), así como en *Centella asiatica*, *Enicostemma littorale*, *Himanthalia elongata*, *Arbutus unedo* L., *Allium porrum* L. y *Cosmos caudatus* (Chan *et al.*, 2009; Mohd-Zainol *et al.*, 2009; Sathishkumar *et al.*, 2009; Gupta *et al.*, 2011; Orak *et al.*, 2011; Ozgur *et al.*, 2011; Sukrasno *et al.*, 2011). Esta disminución en el contenido de compuestos fenólicos puede deberse a la acción de enzimas como las polifenol oxidasas. La polifenol oxidasa degrada compuestos polifenólicos y cataliza la oxidación de fenoles a o-quinonas causando, además de la disminución de los compuestos polifenólicos, el oscurecimiento de los productos hortofrutícolas (Sathishkumar *et al.*, 2009). Además, se ha reportado que las temperaturas óptimas para la conservación de una mayor cantidad de compuestos fenólicos en diferentes plantas es entre 30 y 40°C (Harbourne *et al.*, 2009; Sukrasno *et al.*, 2011). El contenido de compuestos fenólicos en plantas de damiana se encuentra en concentraciones similares a otros productos hortofrutícolas, 19.54-25.80 mg GAE g⁻¹ peso fresco (PF) en pimienta; 22.53- 21.83 mg GAE g⁻¹ PF en *Melissa officinalis* L.; 14.06-22.21 mg GAE g⁻¹ PF en oregano *Origanum vulgare* L.; 1-5mg GAE g⁻¹ PF en nueces; 110.8-119.8 mg GAE g⁻¹ peso seco (PS) en extractos de *Filipendula ulmaria*; y 62.3- 83.1 mg GAE g⁻¹ PS en extractos de *Salix alba* (Capecka *et al.*, 2005; Lim y Murtijaya, 2007; Arcan y Yemenicioglu, 2009; Harbourne *et al.*, 2009).

La capacidad antioxidante en damiana de El Carrizal es mayor comparada con las plantas de damiana de los otros sitios estudiados de BCS y ésta, a su vez, presenta mayor capacidad antioxidante que las plantas de NL (Fig. 21). El periodo y el ambiente de los cultivos pueden generar diferencias en la composición de principios activos y actividad antioxidante entre las plantas silvestres y cultivadas (Jung *et al.* 2005). Es posible que las condiciones climáticas y de cultivo modifiquen la capacidad antioxidante de la damiana. La capacidad antioxidante total, se modifica al tomar en cuenta el porcentaje de humedad de las plantas. En plantas de damiana deshidratadas la capacidad antioxidante fue menor que en plantas frescas (Fig. 21). Resultados similares han sido reportados en tejidos deshidratados de *Satsuma mandarin* y en hojas secas de gengibre (*A. zerumbet*, *E. elatior*, *C. longa* y *K. galanga*), *Allium porrum* L. (Higashi-Okai *et al.*, 2002; Chan *et al.*, 2009; Ozgur *et al.*, 2011). Para evitar comprometer la calidad de los productos hortofrutícolas, es necesario conocer el efecto de la deshidratación en la capacidad antioxidante de los productos y elegir el mejor método de procesamiento (Nindo *et al.*, 2003).

El contenido de compuestos fenólicos (expresados como g de catecol 100 g⁻¹ de tejido) y la actividad antioxidante total en damiana colectada en el estado de NL fue mayor en tallos que en hojas (Salazar *et al.* 2008). La diferencia en las unidades reportadas no permite comparar el contenido de compuestos fenólicos en la damiana del trabajo de Salazar *et al.* (2008) con aquellos del presente estudio (reportadas como equivalentes de ácido gálico).

La concentración de MDA se ha empleado como indicador de daño oxidativo, el cual incrementa cuando las plantas se encuentran sujetas a ciertos retos ambientales. El alto

contenido de antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos se asocian, generalmente, a concentraciones bajas de MDA (Mittova *et al.*, 2004). La concentración de TBARS fue menor en hojas frescas de damiana de la población de Todos Santos y en tallos frescos de la población de NL (Fig. 22A). Estas concentraciones de TBARS podrían ser resultado de la mayor concentración de compuestos fenólicos observada en los mismos tejidos y poblaciones (Fig. 20).

En la damiana, las actividades enzimáticas, principalmente CAT y POX fueron muy bajas, en algunos casos por debajo del límite de detección (Figs. 14 y 15). Sin embargo, las menores concentraciones de TBARS en los tallos de damiana de Todos Santos (Fig. 22A) parecen estar relacionadas con la mayor actividad enzimática registrada para el mismo tejido y población (Fig. 14). En hojas de damiana de Todos Santos, las concentraciones de TBARS fueron mayores en comparación con las otras poblaciones estudiadas, lo cual podría deberse a la menor actividad de POX (Figs. 15 y 22A). Las concentraciones de TBARS en tejidos secos son alrededor de 10 veces mayores que en tejidos frescos para todas las poblaciones de damiana analizadas (Fig. 22), lo que podría resultar del proceso de deshidratación. La desecación, que es un proceso en donde ocurre la pérdida de agua al igual que en el secado o deshidratación de las plantas, genera un desbalance en los mecanismos de control y producción de las ERO y es considerado un factor abiótico que induce estrés oxidativo (Kranner y Birtic, 2005), lo que apoyaría los resultados de TBARS obtenidos en damiana en el presente estudio.

En damiana se observó una disminución en el contenido de vitamina C y compuestos fenólicos, así como una disminución en la capacidad antioxidante e incremento en el daño

oxidativo (TBARS), después de la deshidratación. Esto podría reducir la calidad farmacológica y nutricional de las plantas de damiana, ya que las concentraciones altas de lipoperoxidación se asocian a la ranciedad de los productos alimenticios e impactan negativamente su apariencia, sabor y olor (Belén-Camacho *et al.*, 2007).

El contenido de carbonilos proteicos fue mayor en la damiana cultivada en CIBNOR, seguido de las poblaciones silvestres de BCS y, finalmente, las plantas silvestres del estado de NL (Fig. 23). Es posible que las concentraciones de carbonilos proteicos en hojas frescas estén relacionadas con la población o ambiente en el cual se desarrollan las plantas. Las concentraciones de carbonilos proteicos fueron mayores en tallos secos que en tallos frescos de damiana (Fig. 23). Se sugiere elegir cuidadosamente el método de procesamiento y secado de las plantas de damiana para evitar la pérdida del valor y la calidad nutricional de la damiana.

8.2. Factores Ambientales: Radiación UV-B

En hojas de damiana irradiada con UV-B (dosis de 1 mW cm^{-2} por 2 h y 4 h) se observó mayor actividad de la enzima SOD en comparación con las plantas control (Fig. 24). Esto sugiere que una alta dosis de radiación UV-B incrementa el contenido de ERO, como el $\text{O}_2^{\cdot-}$. La actividad de POX no varió en las plantas expuestas a radiación UV-B (Fig. 25). Kumari *et al.* (2010) observaron un incremento en la actividad de SOD, CAT, APX y GR al exponer a las plantas de *Acorus* a dosis de UV-B ($1.8 \text{ kJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ y $3.6 \text{ kJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, o bien, 0.002 y 0.004 mW cm^{-2}) suplementarias. También, Hideg (2006) considera que la UV-B (ambiental) induce cambios en la actividad de enzimas antioxidantes por acción de las ERO, ya que un exceso de ERO puede inducir estrés oxidativo.

La concentración de los pigmentos fotosintéticos fue menor en las plantas con exposición a radiación UV-B, efecto que aparentemente depende de la dosis (Figs. 26, 27 y 28). Salama *et al.* (2010) observaron una disminución en el contenido de clorofila *a* y *b* por efecto de la radiación UV-B en comparación con las plantas control en plantas anuales de desierto expuestas a lámparas de UV-B (dosis de 6 h durante 6 días). Katerova *et al.* (2009) observaron que la exposición a radiación UV-B (4.4 y $13.3 \text{ kJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, o bien, 0.005 y 0.015 mW cm^{-2}) y UV-C (0.1 y $0.3 \text{ kJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) puede generar daño a los pigmentos fotosintéticos, proteínas, lípidos y ADN, debido a que la radiación UV presenta la energía suficiente para destruir los enlaces químicos de estas moléculas. Es posible que las dosis de irradiación UV-B (0.5 y 1 mW cm^{-2}) artificial añadida a las plantas de *damiana* en este estudio hayan sido demasiado severas (de hasta 6 veces superior al ambiental), generando ruptura y pérdida de los compuestos fotosintéticos. La exposición a UV-B incrementa la concentración de pigmentos captadores de luz, precisamente para poder captar toda la luz y radiación a la cual la planta es sometida (Hideg, 2006). Sin embargo, la radiación excesiva puede generar fotoinhibición y daño en la función y estructura de los fotosistemas, principalmente el fotosistema II (Hideg, 2006). Esto sugiere que los pigmentos fotosintéticos podrían ser indicadores de la sensibilidad o tolerancia de las plantas a la radiación UV (Kumari *et al.*, 2009).

Como se mencionó anteriormente, las concentraciones de vitamina C en *damiana* son altas en comparación con otras especies de frutas y verduras. Además, la radiación UV-B (0.5 y 1 mW cm^{-2}) incrementó las concentraciones de vitamina C en plantas de *damiana* (Fig. 29). La radiación UV-B (0.002 y 0.004 mW cm^{-2}) no tiene efecto en las

concentraciones de vitamina C en plantas de *Acorus* (Kumari *et al.* 2010). Se sugiere que una exposición controlada a radiación UV-B puede usarse para aumentar el contenido de vitamina C, y por ende, el valor comercial de la damiana.

Los compuestos fenólicos, como los flavonoides, incrementan en respuesta a la radiación de UV-B (ambiental) ya que son pigmentos que absorben este tipo de radiación (Rozema *et al.*, 1999). Sin embargo, los compuestos fenólicos disminuyen significativamente en las plantas de damiana expuestas a radiación UV-B (0.5 y 1 mW cm⁻²) suplementaria o artificial (Fig. 30). Es posible que la cantidad de radiación UV-B aplicada en este estudio sea demasiado alta para las plantas de damiana; alternativamente, la damiana es más sensible a la radiación UV-B que otras plantas.

La radiación UV-B (ambiental y artificial) incrementa el contenido de ERO generando, a su vez, un estado de estrés oxidativo en plantas, lo cual puede causar daños importantes a nivel de lípidos, proteínas, ADN, etc. (Xu *et al.*, 2008; Kumari *et al.*, 2009). El daño oxidativo a lípidos, medido como TBARS, fue mayor en damiana expuesta a radiación UV-B (0.5 y 1 mW cm⁻²) suplementaria (Fig. 32). Ello puede deberse a un incremento en ERO (no cuantificados en este estudio), al menor contenido de compuestos fenólicos (Fig. 30) y la menor capacidad antioxidante (Fig. 31) en las plantas de damiana expuestas a radiación UV-B (0.5 y 1 mW cm⁻²). Kumari *et al.* (2010) observaron que la exposición a UV-B (0.002 y 0.004 mW cm⁻²) incrementa la peroxidación de lípidos, lo cual podría estar asociado a la disminución o pérdida de antioxidantes. Sin embargo, el daño oxidativo a proteínas, cuantificado como carbonilos proteicos en damiana expuesta a radiación UV-B (0.5 y 1 mW cm⁻²) suplementaria, no fue significativamente diferente entre tratamientos

(Fig. 33). El contenido de proteínas totales disminuyó en *damiana* expuesta a radiación UV-B (0.5 y 1 mW cm⁻²) suplementaria (Fig. 34). Salama *et al.* (2010) en plantas anuales de desierto reportan una disminución en el contenido de proteínas totales por efecto de la UV-B (dosis de 6 h durante 6 días con lámparas UV-B) en comparación con las plantas control. Es posible que en tejidos de *damiana* la exposición a radiación UV-B genere la disminución de proteínas totales.

Kumari *et al.* (2010) concluyen que la irradiación con dosis de UV-B (0.002 y 0.004 mW cm⁻²) suplementaria en las plantas de *Acorus* estimula el sistema de defensa antioxidante de la planta, tanto a nivel enzimático como no enzimático, siendo mayor el incremento de antioxidantes a dosis más bajas. En *damiana* irradiada con dosis de 1 mWcm⁻² por 2 h diarias de UV-B el contenido de los antioxidantes enzimáticos (actividad de la SOD) y no enzimáticos (contenido de vitamina C) incrementó a 7 días de tratamiento. A dosis mayores de UV-B (1 mW cm⁻² por 4 h diarias) se observó una disminución en el contenido de antioxidantes en los tejidos de *damiana* después de 10 días de tratamiento. Ravindran *et al.* (2010) observaron que la síntesis de compuestos antioxidantes, metabolitos secundarios y pigmentos, tales como flavonoides y carotenoides en plantas de indigo (*Indigofera tinctoria*) irradiadas con UV-B artificial (2 h durante 8 días), contribuye a disminuir el daño oxidativo causado por la radiación UV-B.

Las plantas pueden ser introducidas fácilmente en cultivo de tejidos, pero la producción de metabolitos secundarios puede ser modificada por el ambiente generado dentro del propio cultivo (Laurain-Mattar 2008). Además, Jacobo-Velázquez y Cisneros-Zevallos (2012) mencionan que las plantas son un modelo importante para la formación de

biofábricas productoras de compuestos deseados, los cuales pueden ser manipulados de acuerdo al previo conocimiento de cómo se modifica la síntesis de compuestos por las plantas en estudio. Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio, se sugiere que pueden combinarse las condiciones de cultivo de tejidos con una exposición controlada a radiación UV-B para inducir la síntesis de antioxidantes en damiana.

8.3. Factores Ambientales: Radiación UV-C

La actividad de las enzimas antioxidantes, como POX, CAT y GR, aumenta como parte de los mecanismos de respuesta y adaptación en las plantas irradiadas con UV-B (5.8 Wm^{-2} , o bien, 0.58 mW cm^{-2}) y UV-C (5.7 Wm^{-2} , o bien, 0.57 mW cm^{-2}) suplementarias (Mahdavian *et al.*, 2008) en plantas de chile (*Capsicum annuum* L.). En damiana, la actividad de POX disminuyó en hojas e incrementó en tallos con exposición a UV-C (dosis de 5, 10 y 20 min diarios) (Fig. 38). Es posible que los tratamientos de UV-C utilizados en este estudio sean severos causando la pérdida de la actividad enzimática antioxidante en damiana.

En damiana, la actividad de SOD no mostró diferencias significativas, entre las plantas tratadas con UV-C (5, 10 y 20 min diarios) y las plantas control. Sin embargo, pareciera existir una tendencia a disminuir la actividad de la enzima por efecto de la UV-C (Fig. 37). La actividad enzimática es una de las primeras señales de defensa que se activan en respuesta a la radiación, debido a que ésta genera un incremento en las ERO, como se mencionó anteriormente.

La exposición a UV (tanto UV-B como UV-C) también genera otras modificaciones de respuesta inmediata ante la radiación; un incremento en la expresión de genes asociados

a la síntesis de pigmentos para captar energía y bloquear el paso y daño de la radiación (Casati y Andreo, 2001). Maharaj *et al.* (2010) observaron un incremento significativo en el contenido de carotenoides en frutos de tomate irradiados con UV-C (3.7 kJ m^{-2} y 24.4 kJ m^{-2} , o bien, 0.004 mW cm^{-2} y 0.28 mW cm^{-2}) en comparación con los frutos que no fueron tratados. Sin embargo, en plantas de damiana en este estudio, el contenido de pigmentos (clorofila *a* y *b*, y carotenoides, Figs. 39, 40 y 41) disminuyó en las hojas e incrementó en los tallos irradiados con UV-C (dosis de 5, 10 y 20 min diarios). Es posible que el efecto de la radiación UV-C sea dependiente de la especie vegetal. En damiana, el menor contenido de compuestos pigmentos fotosintéticos disminuye por efecto de las dosis de radiación UV-C, por lo que la UV-C empleada es demasiado severa en hojas (la principal captadora de luz), generando el rompimiento o pérdida de los compuestos fotosintéticos, tal como sugieren Katerova *et al.* (2009). Por las diferencias en morfología y función, es posible que los tallos de damiana presente mecanismos de respuesta diferentes a los de las hojas, que favorezcan el incremento en otros compuestos captadores de luz, como los carotenoides, o el incremento de procesos de lignificación que pudieran ayudar a disminuir el daño en este tejido. Existen escasos reportes sobre el efecto de UV-C en hojas y tallos de plantas; se considera que la radiación UV-C se absorbe en su totalidad por la capa de ozono y que sólo se encuentra de manera artificial en la superficie terrestre (Meisel *et al.*, 2011). La radiación UV-C se emplea en tratamientos germicidas en productos hortofrutícolas en poscosecha. Wang *et al.* (2009) emplearon la radiación UV-C como tratamiento germicida poscosecha y observaron modificaciones en el contenido de compuestos fenólicos; de esta manera, la apariencia, calidad y vida poscosecha de los productos hortofrutícolas mejorara. De ahí, nuestro interés por determinar el efecto que causa la exposición a radiación UV-C y su

posible empleo para tratamientos durante el crecimiento de las plantas, como potencial tratamiento para modificar el contenido antioxidante. En las plantas de damiana el contenido de compuestos fenólicos incrementó, tanto en hojas como en tallos, expuestos a radiación con UV-C (en dosis de 5, 10 y 20 min diarios) (Fig. 44). En hojas irradiadas con UV-C por 20 min diarios al final del periodo experimental (10 días), los compuestos fenólicos disminuyeron significativamente (Fig. 44), lo que podría deberse a que la dosis de radiación UV-C fue mayor a la capacidad de tolerancia de damiana. Efectos similares fueron observados por Wang *et al.* (2009) quienes reportan un incremento en el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante como mecanismo de defensa de las plantas ante la radiación UV-C; sin embargo, a mayores dosis de UV-C, este incremento se suprime. A partir de los resultados del presente estudio, dosis de 10 min diarios de UV-C durante el desarrollo de la damiana, incrementaron el contenido de compuestos antioxidantes (compuestos fenólicos y vitamina E), por lo que el implemento de esta dosis de UV-C puede ser una buena alternativa para incrementar compuestos de interés en plantas medicinales, tales como la damiana.

La capacidad antioxidante disminuyó en las plantas de damiana irradiadas con UV-C (dosis de 5, 10 y 20 min diarios) lo que se relaciona con la pérdida de otros antioxidantes (enzimas SOD y POX, pigmentos fotosintéticos y vitamina C) (Fig. 45). Lo opuesto fue observado por Wang *et al.* (2009) en frutos de mora azul, sugiriendo que los diferentes tejidos (tallos, hojas y frutos) responden a la radiación UV de manera específica a su estructura y función.

En damiana, la radiación UV-C generó la disminución de los pigmentos y antioxidantes enzimáticos en hojas, el aumento de los pigmentos y antioxidantes

enzimáticos en tallos y la disminución de TBARS en tallos con respecto a hojas (Figs. 37, 38, 39, 40 y 41). Lo anterior sugiere que las hojas absorben la mayor cantidad de radiación UV-C; esto puede ocasionar que la cantidad de radiación UV-C que llega a los tallos sea menor, provocando un efecto benéfico (aumento de pigmentos y antioxidantes enzimáticos) en tallos de *damiana*. Las menores concentraciones de TBARS en tallos sugieren menor daño oxidativo (TBARS) en tallos con respecto a las hojas por el incremento en los compuestos antioxidantes (pigmentos y antioxidantes enzimáticos).

Se observó un aumento en la actividad de SOD y de POX en las plantas control a los 7 días de tratamiento (Figs. 37 y 38). Estos resultados coinciden con la disminución del contenido de compuestos fenólicos (Fig. 44), vitamina E (Fig. 43), de la capacidad antioxidante (Fig. 44), y del daño oxidativo medido como TBARS (Fig. 45). Lo anterior sugiere que las plantas control se encuentran bajo condiciones de restricción de nutrientes y humedad.

La radiación UV-C genera la pérdida de proteínas en diversas plantas (Casati y Andreo, 2001; Katerova *et al.*, 2009). En *damiana* irradiada con UV-C (5, 10 y 20 min diarios), el contenido de proteínas totales fue similar a las plantas control (Fig. 48). Se sugiere que el contenido proteínico en la *damiana* se modifica debido al desarrollo normal de las plantas bajo cultivo de tejidos y no por efecto de la radiación UV-C. Se sugiere que, para evitar daño por deficiencia de nutrientes y humedad en el cultivo de tejidos, el medio de cultivo de las plantas *in vitro* se recambie antes de las 7 semanas de introducción en el medio MS.

9. CONCLUSIONES

Factores ambientales y de cultivo (suelo, fertilizantes, riego, humedad, clima y radiación solar) afectan el contenido antioxidante en plantas de damiana. El cultivo agronómico de las plantas de damiana no modifica el contenido antioxidante. El empleo de fertilizantes y riego mantienen el contenido antioxidante en niveles similares a los que se observaron en poblaciones silvestres. Se sugiere que el cultivo agronómico puede ser una alternativa viable, sin alterar la composición antioxidante de la planta, para la propagación y potencial reforestación de las poblaciones silvestres de damiana. El cultivo agronómico de la damiana podría disminuir la explotación de las poblaciones silvestres y potenciar el comercio de esta planta.

El contenido antioxidante (vitaminas C y E, y compuestos fenólicos) en tallos es menor que en hojas de damiana, pero es similar o superiores en comparación con otros productos hortofrutícolas. Por lo anterior, se sugiere que los tallos de damiana pueden ser una fuente alternativa e importante para la obtención de fitoquímicos de interés.

El procesamiento (secado o deshidratación) disminuye el contenido antioxidante. Por lo que se sugiere considerar cuidadosamente el método elegido para la conservación y manejo poscosecha de la damiana. A pesar de la pérdida de antioxidantes (pigmentos fotosintéticos, vitamina C y compuestos fenólicos), el contenido de compuestos antioxidantes (pigmentos fotosintéticos, vitamina C y E, compuestos fenólicos) y la capacidad antioxidante total de la damiana aún es alto en comparación con otros productos hortofrutícolas.

Las plantas de damiana en Baja California Sur presentan una mayor cantidad de compuestos antioxidantes en comparación con las del Estado de Nuevo León. Estos resultados permiten apoyar el potencial comercial que presenta la damiana (*T. diffusa*) para el estado de Baja California Sur, sustentando la percepción del consumidor de que la damiana Sudcaliforniana es de mejor calidad.

La radiación solar, particularmente la radiación UV (B y C), modifica el contenido antioxidante en damiana. De manera artificial, la exposición controlada de radiación UV-B a dosis bajas o por periodos de exposición cortos, incrementa el contenido de vitamina C y pigmentos fotosintéticos (clorofilas *a* y *b*), y por ende el valor comercial y la apariencia de la damiana. Dosis severas (1 mW cm^{-2} por 4 h diarias) de radiación UV-B disminuye la concentración de los compuestos antioxidantes (pigmentos fotosintéticos y compuestos fenólicos), y por ende la calidad nutracéutica de las plantas de damiana.

La exposición a UV-C (5, 10 y 20 min diarios) incrementa el contenido de compuestos fenólicos en hojas de damiana después de 7 días de tratamiento. La exposición a radiación UV-C modifica el contenido antioxidante en hojas y tallos de damiana, incrementando el contenido de vitamina E y compuestos fenólicos. Un exceso de radiación UV-C (mayores dosis, 20 min por más de 10 días) suprime el incremento en el contenido antioxidante, generando la pérdida de pigmentos y de antioxidantes enzimáticos en damiana *in vitro*. El implemento de dosis controladas de UV-C (10 min diarios) puede ser una buena alternativa para incrementar compuestos de interés en plantas medicinales como la damiana.

Con base en los resultados obtenidos en este estudio, se sugiere que pueden combinarse las condiciones de cultivo *in vitro* con una exposición controlada a radiación UV-B y/o UV-C para inducir la síntesis de antioxidantes en plantas de damiana. Las plantas en cultivo *in vitro* sin tratamiento no modifican la producción natural de metabolitos secundarios por el ambiente generado dentro del propio medio de cultivo. El empleo de este modelo para el estudio y la aplicación de tratamientos con radiación UV (B o C) puede ser una alternativa para la generación de biofábricas de plantas productoras de compuestos de interés, mediante el previo conocimiento de cómo se modifica la síntesis de compuestos por las plantas de estudio. De esta manera se genera una manipulación deseada en las plantas sin emplear métodos de ingeniería genética para evitar los efectos secundarios de los organismos genéticamente modificados.

10. LITERATURA CITADA

- Aberoumand, A. y S.S. Deokule. 2008. Comparison of phenolic compounds of some edible plants of Iran and India. *Pakistan J of Nutrit.* 7:582-585.
- Abushita, A.A., E.A. Hebshi, H.G. Daood y P.A. Biacs. 1997. Determination of antioxidant vitamins in tomatoes. *Food Chem.* 2:207-212.
- Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*. En: Packer, L. (Ed.). *Methods in enzymology, oxygen radicals in biological systems.* Academic Press, Inc. EUA. 105:121-126.
- Agilent Technologies Company. 2001. HPLC for Food Analysis. Publication Number 5988-3294EN. September 01.
- Ahmad, P., C.A. Jaleel, M.A. Salem, G. Nabi, y S. Sharma. 2010. Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Crit Rev Biotechnol.* 30:161-175.
- Alava, V.R., A. Kanazawa, S. Teshima y S. Koshio. 1993. Effects of dietary vitamins A, E, and C on the ovarian development of *Panaeus japonicus*, *Nippon Sussian Gakkaishi*, 59: 235-242.
- Alcaraz-Meléndez, L. y S. Real-Cosio. 1992. Propagación, cultivo y aprovechamiento de la damiana (*Turnera diffusa* Willd). En: Ortega A. (ed.). *Uso y manejo de los recursos naturales en la sierra de La Laguna, B.C.S. Pub. No. 5.* Centro de Investigaciones Biológicas de B.C.S. A.C. La Paz, B.C.S., México. pp. 97-107.
- Alcaraz-Meléndez, L., S. Real-Cosio y Y. Bashan. 1994. Domestication of micropropagated plants of the spice damiana (*Turnera diffusa*). *Plant Cell Rep.* 13:679-682.

- Alcaraz-Meléndez, L. 1999. Estudio de las condiciones para la micropropagación de damiana (*Turnera diffusa*). Tesis de Doctorado (Biología). Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F. México. 98 p.
- Alcaraz-Meléndez, L, S. Real-Cosío y M.G. Véliz-Murillo. 2003. Damiana: una especie de importancia comercial para las zonas semi-áridas de México. SIMC (ed.). 43 p.
- Alcaraz-Meléndez, L, J. Delgado-Rodríguez y S. Real-Cosío. 2004. Analysis of essential oils from wild and micropropagated plants of damiana (*Turnera diffusa*). Fitoterapia 75:696-701.
- Alcaraz-Meléndez, L. y M.G. Véliz-Murillo. 2006. Comercialización de una planta del desierto: damiana (*Turnera diffusa*). Revista Mexicana de Agronegocios. Cuarta Época, Año X, Volumen 19:83-94.
- Alcaraz-Meléndez, L., S. Real-Cosío, V. Suchý y E. Svajdlenka. 2007. Differences in essential oil production and leaf structure in phenotypes of damiana (*Turnera diffusa* Willd.). J Plant Biol. 50:378-382.
- Alcaraz-Meléndez, L., S. Real-Cosío y M. Rodríguez-Álvarez. 2011. Manual de procedimientos para la propagación y el cultivo de damiana (*Turnera diffusa*, Willd.). Comisión Nacional Forestal. CONAFOR. México. 34 p.
- Apel, K. y H. Hirt. 2004. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annals Rev Plant Biol. 55:373-399
- Aqil, F., I. Ahmad y Z. Mehmood. 2006. Antioxidant and free radical scavenging properties of twelve traditionally used indian medicinal plants. Turk J Biol. 30:177-183.

- Arcan, I. y A. Yemenicioglu. 2009. Antioxidant activity and phenolic content of fresh and dry nuts with or without the seed coat. *J Food Comp Anal.* 22:184-188.
- Arnao, M.B., A. Cano, J. Hernández-Ruiz, F. García-Cánovas y M. Acosta. 1996. Inhibition by L-ascorbic acid and other antioxidants of the 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzhiiazoline-6-sulfonic acid) oxidation catalysed by peroxidase: A new approach for determining total antioxidant status of foods. *Anal Biochem.* 236:255-261.
- Arora, A., R.K. Sairam y G.C. Srivastava. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Sci.* 82:1227-1238.
- Arriaga, L. y A. Ortega. 1988. La Sierra de la Laguna de Baja California Sur. Publicación no. 1. CIB, BCS. México.
- Belén-Camacho, D.R., J.C. Román, D. García-Pantaleon, M.J. Moreno-Alvarez, C. Medina-Martínez y C.E. Ojeda-Escalona. 2007. Efecto del secado solar en los contenidos de humedad, carbohidratos, carotenoides totales e índice de peróxidos del mesocarpio de la palma (*Coroba Attalea* spp.). *Interciencia.* 32:257-261.
- Bermúdez-Contreras, A., M. Thomson y D.G. Infield. 2008. Renewable energy powered desalination in Baja California Sur, Mexico. *Desalination.* 220:431-440.
- Beyer, W. y I. Fridovich. 1987. Assaying for superoxidase dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions. *Annal Biochem.* 161:559-566.
- Blokhina, O., E. Virolainen y K.V. Fagerstedt. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals Bot.* 91:179-194.

- Bønsayer, B.C., A. Shahpiri, C. Finnie y B. Svensson. 2010. Proteomic and activity profiles of ascorbate-glutathione cycle enzymes in germinating barley embryo. *Phytochemistry*. 71:1650-1656.
- Bowler, C., M. Van Montagu y D. Inze. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*. 43:83-116.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 72:248-254.
- Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier y C. Berset. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technol*. 28:25-30.
- Cabrera, L. 1986. Plantas curativas de México. Ed. Mexicanos Unidos, S. A. México, 4ª ed. pp. 79.
- Capecka, E., A. Mareczek y M. Leja. 2005. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. *Food Chem*. 93:223-226.
- Carletti, P., A. Masi, A. Wonisch, D. Grill, M. Tausz y M. Ferretti. 2003. Changes in antioxidant and pigment pool dimensions in UV-B irradiated maize seedlings. *Environ Exp Bot*. 50:149-157.
- Casati, P. y C.S. Andreo. 2001. UV-B and UV-C induction of NADP-malic enzyme in tissues of different cultivars of *Phaseolus vulgaris* (bean). *Plant Cell Environ*. 24:621-630.
- Chan, E.W.C., Y.Y. Lim, S.K. Wong, K.K. Lim, S.P. Tan, F.S. Lianto y M.Y. Yong. 2009. Effects of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. *Food Chem*. 113:166-172.

- Cho, U.H. y N.H. Seo. 2005. Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. *Plant Science*. 168:113-120.
- Constantinescu, A., D. Han y L. Packer. 1993 Vitamin E recycling in human erythrocyte membranes. *J Biol Chem*. 268:10906-10913.
- Crozier, A., L. Mc Donald. y C. Black. 1997. Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce and celery. *J Agric Food Chem*. 45:590-595.
- Dat, J., S. Vandenabeele, E. Vranová, M. Van Montagu, D. Inzé y F. Van Breusegem. 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cell Mol Life Sci*. 57:779-795.
- Dinkova-Kostova, A.T. 2008. Phytochemicals as protectors against ultraviolet radiation: versatility of effects and mechanisms. *Planta Med*. 74:1548-1559.
- Diffey, B.L. 1991. Solar ultraviolet radiation effects on biological systems. *Phys Med Biol* 36:299-328.
- Djeridane, A., M. Yousfi, B. Nadjemi, D. Boutassouna, P. Stocker y N. Vidal. 2006. Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem*. 97:654-660.
- Domínguez, X.A. y M. Hinojosa. 1976. Isolation of 5-hidroxy-7,3',4'-trimethoxy-flavone from *Turnera diffusa*. *Planta Medica*. 30:68-71.
- Du, G., M. Li, F. Ma y D. Liang. 2009. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in Actinidia fruits. *Food Chem*. 113:557-562.
- Dudonn, S., X. Vitrac, P. Coutire, M. Woillez y J.M. Mrillon. 2009. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial

- interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *J Agric Food Chem.* 57:1768-1774.
- Elkahoui, S., J.A. Hernández, C. Abdelly, R. Ghrir y F. Limam. 2005. Effects of salt on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of *Catharantus roseus* suspension cells. *Plant Sci.* 168:607-613.
- EPA - United States Environmental Protection Agency (1994). Method 3051. Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils. Revision 0. En: Test methods for evaluating solid wastes. Physical/chemical methods. SW-846, Volumen 1, Section A, Parte I, Capítulo 3. 3051-1 - 3051-14.
- EPA - United States Environmental Protection Agency (1996). Method 3050B. Acid digestion of sediments, sludges, and soils. Revision 2. En: Test methods for evaluating solid wastes. Physical/chemical methods. SW-846, Volumen 1, Sección A, Parte I, Capítulo 3, 3050B-1 - 3050B-12.
- Escamilla-Jiménez, C.I., E.Y. Cuevas-Martínez y J. Guevara-Fonseca. 2009. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Rev Fac Med UNAM.* 52:73-75.
- Esterbauer, H., R.J. Schaur y H. Zollner. 1991. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde and related aldehydes. *Free Rad Biol Med.* 11:81-128.
- Fazeli, F., M. Ghorbanli y V. Niknam. 2007. Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars. *Biologia Plantarum.* 51:98-103.

- Figiel, A., A. Szumny, A. Gutierrez-Ortiz y A.A. Carbonell-Barrachina. 2010. Composition of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as affected by drying method. *J Food Engin.* 98:240-247.
- Fonnegra, G.R., R. Fonnegra-Gomez y S.L. Jiménez. 2007. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Publicado por Universidad de Antioquia. pp. 221-224.
- Frohn Mayer, H. y D. Staiger. 2003. Ultraviolet-B radiation -mediated responses in plants. Balancing damage and protection. *Plant Physiol.* 133:1420-1428.
- Gámez, A.E., A. Ivanova, J.A. Martínez. 2010. La comercialización mundial de damiana y los pequeños productores de Baja California Sur. *Comercio exterior.* 60:209-220.
- Garza-Juárez, A., J. Pérez-Meseguer, R. Salazar-Aranda, M.L. Salazar-Cavazos, N. Waksman-De Torres. 2010. Desarrollo y validación de métodos analíticos para estandarización de fitofármacos con *Turnera difusa* (damiana). *Ciencia UANL*, vol. XIII:397-404.
- Geleijnse, J.M. y P.C.H. Hollman. 2008. Flavonoids and cardiovascular health: which compounds, what mechanisms?. *Am.J Clinical Nutrition.* 88:12-13.
- German, J.B. 1999. Food processing and lipid oxidation. *Adv Exp Med Biol.* 459:23-50.
- Gill, S.S. y N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol Biochem.* 48:909-930.
- Gratão, P.L., A. Polle, P.J. Lea y R.A. Azevedo. 2005. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Funct Plant Biol.* 32:481-494.
- Groot, H. y U. Rauen. 1998. Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. *Fundam Clin Pharmacol.* 3:249-255.

- Gupte, S.M., H.M. El-Bisi y F.J. Francis. 1963 Kinetics of thermal degradation of chlorophyll in spinach puree. *J Food Sci.* 29:379-382.
- Gupta, S., S. Cox, Cox y N. Abu-Ghannam. 2011. Effect of different drying temperatures on the moisture and phytochemical constituents of edible Irish brown seaweed. *Food Sci Technol.* 44:1266-1272.
- Harbourne, N., E. Marete, J.C. Jacquier y D. O’Riordan. 2009. Effect of drying methods on the phenolic constituents of meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) and willow (*Salix alba*). *LWT - Food Sci Technol.* 42:1468-1473.
- Haripyaee, A., K. Guneshwor y M. Damayanti. 2010. Evaluation of antioxidant properties of some medicinal plants by sulfur free radical reactivity with Curcumin as reference. *EJEAFChe.* 9:(2).
- Hassanbaglou, B., A.A. Hamid, A.M. Roheeyati, N.M. Saleh, A.S. Abdulmir, A. Khatib y M.C. Sabu. 2012. Antioxidant activity of different extracts from leaves of *Pereskia bleo* (Cactaceae). *J Med Plant Res.* 6:2932-2937.
- Heaton, J.W., R.W. Lencki y A.G. Marangoni. 1996. Kinetic model for chlorophyll degradation in green tissue. *J Agric Food Chem.* 44:399-402.
- Heo, H.J., Y.J. Kimb, D. Chung y D. Kimd. 2007. Antioxidant capacities of individual and combined phenolics in a model system. *Food Chem.* 104:87-92.
- Hess, S.A., J.L. Álvarez, M.G. Iturra y M.M. Romero. 2002. Evidence of UV-B differential response in *Sophora microphylla* from shady and sunny places. *Bol Soc Chil Quím.* 47:501-510.

- Hideg, É. 2006. Detecting stress-induced reactive oxygen species in plants under UV stress. En: F. Ghetti *et al.* (eds.). *Environmental UV Radiation: Impact on Ecosystems and Human Health*. Springer. Netherlands. pp. 147-157.
- Higashi-Okai, K., K. Kamimoto, A. Yoshioka¹ y Y. Okai. 2002. Potent suppressive activity of fresh and dried peels from Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marcov.) on hydroperoxide generation from oxidized linoleic acid. *Phytotherapy Research*. 16:781-784.
- Hossain, M.B., C. Barry-Ryan, A.B. Martin-Diana y N. Brunton. 2010. Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Lamiaceae herbs. *Food Chem*. 123:85-91.
- Hounsome, N., B. Hounsome, D. Tomos, G. Edwards-Jones. 2008. Plant metabolites and nutritional quality of vegetables. *J Food Sci*. 73:48-65.
- Hu, H., Y.I. Bai, L.P. Yang, Q.B. Kong, Y.L. Lu, L. Wang, y Z.Y. Wang. 2010. Response of element distribution of various organs of maize to fertilizer application. *Agric Sci China*. 9: 401-407.
- Huda-Faujan, N., A. Noriham, A. Norrakiah y A.S. Babji. 2009. Antioxidant activity of plants methanolic extracts containing phenolic compounds. *African J Biotechnol*. 8:484-489.
- INEGI. 2011. Anuario de estadísticas por entidad federativa. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México. Información digital. ISSN 1405-910X, 596 p.
- Jacobo-Velázquez, D.A. y L. Cisneros-Zevallos. 2012. An alternative use of horticultural crops: stressed plants as biofactories of bioactive phenolic compounds. *Agriculture*. 2:259-271.

- Jung, C.H., H.M. Scog, I.W. Choi y H.Y. Cho. 2005. Antioxidants activities of cultivated and wild Korean ginseng leaves. *Food Chem.* 92:535-540.
- Kar, M. y D. Mishra. 1976. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiol.* 57:315-319.
- Karou, D., M.H. Dicko, J. Simporé y A.S. Traore. 2005. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African J Biotechnol.* 4:823-828.
- Kaur, C. y H.C. Kapoor. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. *Int J Food Sci Technol.* 36:703-725.
- Katerova, Z., S. Ivanov, E. Prinsen, H. Van-Onckelen, V. Alexieva y A. Azmi. 2009. Low doses of ultraviolet-B or ultraviolet-C radiation affect phytohormones in young pea plants. *Biol Plantarum.* 53:365-368.
- Khalaf, N.A., A. K. Shakya, A. Al-Othman, Z. El-Agbar y H. Farah. 2008. Antioxidant activity of some common plants. *Turk J Biol.* 32:51-55.
- Kim, H., F. Chen, X. Wang y N. Rajapakse. 2005. Effect of chitosan on the biological properties of sweet basil. *J Agric Food Chem.* 53:3696-3701.
- Kim, S., K.W. Lee, J. Park, H.J. Lee y I.K. Hwang. 2006. Effect of drying in antioxidant activity and changes of ascorbic acid and colour by different drying and storage in Korean red pepper (*Capsicum annuum*, L.). *Int J Food Sci Technol.* 41:90-95.
- King, V.A.E., C.F. Liu y Y. J. Liu. 2001. Chlorophyll stability in spinach dehydrated by freeze-drying and controlled low-temperature vacuum dehydration. *Food Res Intl.* 34:167-175.

- Kranner, I., y S. Birtic. 2005. A modulating role for antioxidants in desiccation tolerance. *Integrative and Comparative Biology*. 45:734-740.
- Krinsky, N.I. 1993. Actions of carotenoids in biological systems. *Annu Rev Nutr*. 13:561-587.
- Krishnaiah, D., R. Sarbatly y R. Nithyanandam. 2011. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food bioprod Process*. 89:217-233.
- Kumar, S. y D. Kumar. 2009. Antioxidant and free radical scavenging activities of edible weeds. *African J Food Agric Nut Develop*. 9:1174-1190.
- Kumari, R., S.B. Agrawal, S. Singh y N.K. Dubey. 2009. Supplemental ultraviolet-B induced changes in essential oil composition and total phenolics of *Acorus calamus* L. (sweet flag). *Ecotoxicol Environ Saf*. 72:2013-2019.
- Kumari, R., S. Singh y S.B. Agrawal. 2010. Response of ultraviolet-B induced antioxidant defense system in a medicinal plant, *Acorus calamus*. *J Environ Biol*. 31:907-911.
- Kumar, M., V. Gupta, N. Trivedi, P. Kumari, A.J. Bijo, C.R.K. Reddy y B. Jha. 2011. Desiccation induced oxidative stress and its biochemical responses in intertidal red alga *Gracilaria corticata* (Gracilariales, Rhodophyta). *Environ Exp Bot*. 72:194-201.
- Lajolo, F.M. y U.M. Lanfer-Marquez. 1982. Chlorophyll degradation in a spinach system at low and intermediate water activities. *J Food Sci*. 47:1995-1998.
- Lara, F. y C. Marquéz. 1996. Plantas medicinales de México: Composición, usos y actividades biológicas. UNAM, México. pp. 47-48.
- Larson, R.A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*. 27:969-978.

- Laurain-Mattar, D. 2008. Bioactive molecules and medicinal plants. In: Ramawat, K.G., J.M. Mérillon, (eds). Production of alkaloids in plant cell and tissue cultures. New York. Springer. pp. 165.
- Ledezma-Gairaud, M. 2004. Validación del método: Determinación de Vitamina C Total por Cromatografía Líquida de Alta Resolución. Tecnología en Marcha. 17:15.
- Lefsrud, M.G., D.A. Kopsell, J. Wills, C. Sams y A.J. Both. 2008. Dry matter content and stability of carotenoids in kale and spinach during drying. HortScience. 43:1731-1736.
- León de la L., J.L. y R. Coria. 1992. Flora iconográfica de Baja California Sur. Pub. No. 3. Centro de Investigaciones Biológicas de Baja California Sur S. C. La Paz, B.C.S. México. pp. 52-53.
- Levine, R.L., J.A. Williams, E.R. Stadtman y E. Shacter. 1994. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. Methods Enzymol. 233:346-357.
- Lewis, D.A. y P.J. Hanson. 1991. Anti-ulcer drugs of plant origin. Progr Med Chem. 28:201-231.
- Lichtenthaler, H.K. y A.R. Wellburn. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents, Biochem Soc Trans. 11:591-592.
- Lim, Y.Y. y J. Murtijaya. 2007. Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. LWT - Food Sci Technol. 40:1664-1669.
- Liu, C.L., Y.S. Chen, J.H. Yang, B.H. Chiang, C.K. Hsu. 2007. Trace element water improves the antioxidant activity of Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) sprouts. J. Agric. Food Chem. 55, 8934–8940.

- Liu, Z., X. He, W. Chen, F. Yuan, K. Yan y D. Tao. 2009. Accumulation and tolerance characteristics of cadmium in a potential hyperaccumulator-*Lonicera japonica* Thunb. *J Hazardous Mat.* 169:170-175.
- López, J., E. Uribe, A. Vega-Gálvez, M. Miranda, J. Vergara, E. Gonzalez y K. Di Scala, 2010. Effect of air temperature on drying kinetics, vitamin C, antioxidant activity, total phenolic content, non-enzymatic browning and firmness of blueberries variety O'Neil. *Food Bioproc Technol.* 3:772-777.
- Lozada, S.M. y L. García. 2009. Oxidative stress and antioxidants: how to keep the balance. *Re Asoc Colombia Dermatol.* 17:172-179.
- Lubbe, A. y R. Verpoorte. 2011. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Ind Crops Prod.* 34:785-801.
- Luters, A. y J.C. Salazar. 2000. Guía para la evaluación de la calidad y salud del suelo. USDA. SIA. SCR.N. Instituto de Calidad de Suelos. Traducción al Español del: "Soil Quality Test Kit Guide". Instituto de Suelos. Argentina. 82 p.
- Macpherson, A.N., J.B. Arellana, N.J. Fraser, R.J. Cogdell y T. Gilboro. 2001. Efficient energy transfer from the carotenoid S₂ state in a photosynthetic light-harvesting complex. *Biophysical J.* 80:923-930.
- Mahanom, H., A.H. Azizah y M.H. Dzulkifly. 1999. Effect of different drying methods on concentrations of several phytochemicals in herbal preparation of 8 medicinal plants leaves. *Malaysian J Nut.* 5:47-54.
- Mahattanatawee, K., J.A. Manthey, G. Luzio, S.T. Talcott, K. Goodner y E.A. Baldwin. 2006. Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-grown tropical fruits. *J Agric Food Chem.* 54:7355-7363.

- Maharaj, R., J. Arul, P. Nadeau. 2010. UV-C irradiation of tomato and its effects on color and pigments. *Adv. Environ. Biol.* 4:308-315.
- Mahdavian, K., M. Ghorbanli, M. Kalantari. 2008. The effects of ultraviolet radiation on some antioxidant compounds and enzymes in *Capsicum annuum* L. *Turk. J. Bot.* 32:129-134.
- Martínez-González, M.A., E. Fernández-Jarne, E. Martínez-Losa, M. Prado-Santamaría, C. Brugarolas-Bufrau y M. Serrano-Martínez. 2002. Role of fiber and fruit in the Mediterranean diet to protect against myocardial infarction: a case-control study in Spain. *Eur J Clin Nutr.* 56:715-722.
- Meisel, L., D. Urbina y M. Pinto. 2011. Fotorreceptores y respuestas de plantas a señales lumínicas. En: Squeo, F. y L. Cardemil (eds.). *Fisiología vegetal*. Ediciones Universidad de La Serena, La Serena, Chile. 18:1-10.
- Meléndez-Martínez, A.J., I.S. Vicario y F.J. Heredia. 2004. Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Arch Latinoamericanos de Nutrit.* 54:209-215.
- Mendoza-Cózatl, D.G. y R. Moreno-Sánchez. 2006. Control of glutathione and phytochelatin synthesis under cadmium stress. *Pathway modeling for plants. J Theor Biol.* 238:919-936.
- Mercado-Mercado, G., L. de la Rosa-Carrillo, A. Wall-Medrano, J.L. López-Díaz, E. Álvarez-Parrilla. 2013. Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutrición Hospitalaria.* 28:36-46.
- Meza-Sánchez, R. y J.G. Martínez-Rodríguez. 2004. Características ambientales y áreas potenciales para cultivos en el municipio de La Paz, B.C.S. *Publicación técnica No. 2. Campo Experimental Todos Santos. Instituto Nacional de Investigaciones*

- Forestales, Agrícolas y Pecuarias INIFAP. México. Comité Editorial del INIFAP en B.C.S. 52 p.
- Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Sci.* 7:405-410.
- Mittova, V., M. Guy, M. Tal y M. Volokita. 2004. Salinity up-regulates the antioxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. *J Exp Bot.* 55:1105-1113.
- Mishra, S., R.D. Tripathi, S. Srivastava, S. Dwivedi, P.T. Trivedi, O.P. Dhankher y A. Khare. 2009. Thiol metabolism play significant role during cadmium detoxification by *Ceratophyllum demersum* L. *Biores Techn.* 100:2155-2161.
- Mohamed, R., M. Pineda y M. Aguilar. 2007. Antioxidant capacity of extracts from wild and crop plants of the mediterranean region. *J Food Sci.* 72:59-63.
- Mohd-Zainol, M.K., A. Abdul-Hamid, F. Abu-Bakar y S. Pak-Dek. 2009. Effect of different drying methods on the degradation of selected flavonoids in *Centella asiatica*. *Int Food Res J.* 16:531-537.
- Monreal, M., B. De Ancos y M.P. Cano. 1999. Influence of critical storage temperatures on degradative pathways of pigments in green beans (*Phaseolus vulgaris* Cvs. Perona and Boby). *J Agric Food Chem.* 47:19-24.
- Moon, J.K. y T. Shibamoto. 2009. Antioxidant assays for plant and food components. *J Agric Food Chem.* 57:1655-1666.
- Moran, J.F., M. Becana, I. Iturbe-Ormaetxe, S. Frechilla, R.V. Klucas y P. Aparicio-Tejo. 1994. Drought induces oxidative stress in pea-plants. *Planta.* 194:346-352.

- Mustafa, R.A., A.A. Hamid, S. Mohamed y F.A. Bakar. 2010. Total phenolic compounds, flavonoids and radical scavenging activity of 21 selected tropical plants. *Food Chem.* 75:28-35.
- Narayana, K., R. Reddy, M. Sripal, M.R. Chaluvadi y D.R. Krishna. 2001. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical, effects and therapeutic potencial, *Indian J Pharmacol.* 33:2-16.
- Nasibi, F. y K.M. Kalantari. 2005. The effects of UV-A, UV-B and UV-C on protein and ascorbate content, lipid peroxidation and biosynthesis of screening compounds in *Brassica napus*. *Iran J Sci Technol. Transaction A-Science Winter.* 29:39-48.
- Nindo, C.I., T. Sun, S.W. Wang, J. Tang y J.R. Powers. 2003. Evaluation of drying technologies for retention of physical quality and antioxidants in asparagus. *LWT - Food Sci Technol.* 36:507-516.
- Noctor, G. y C.H. Foyer. 1998. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* 49:249-279.
- Okeri, H.A. y P.O. Alonge. 2006. Determination of the ascorbic acid content of two medicinal plants in Nigeria. *Pakistan J Pharm Sci.* 19:39-44.
- Orak, H.H., T. Aktas, H. Yagar, H.S. Isbilir, N. Ekinci y F. H. Sahin. 2011. Antioxidant activity, some nutritional and colour properties of vacuum dried Strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) Fruit. *ACTA Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria.* 10: 327-338.
- Osuna-Leal, E. y R. Meza-Sánchez. 2000. Produccion de plantas y establecimiento y manejo de plantaciones de damiana (*Turnera diffusa* Willd). Folleto técnico No. 4. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP),

- Centro de Investigación Regional del Noroeste. Comité editorial Campo Experimental Todos Santos. pp. 1-27.
- Ozgur, M., A. Akpinar-Bayazit, T. Ozcan y L. Yilmaz-Ersan. 2011. Effect of dehydration on several physico-chemical properties and the antioxidant activity of Leeks (*Allium porrum* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 39:144-151.
- Packer, L., S.U. Weber y G. Rimbach. 2001. Molecular aspects of α -tocotrienol antioxidant action and cell signalling. *J Nutr*. 131:369S-373S.
- Paiva, S. y R.B. Russell. 1999. Carotene and other carotenoids as antioxidants. *J Am Coll Nutr*. 8:426-433.
- Pandino, G., S. Lombardo, G. Mauromicale, G. Williamson. 2011. Phenolic acids and flavonoids in leaf and floral stem of cultivated and wild *Cynara cardunculus* L. genotypes. *Food Chem*. 126:417-422.
- Pandjaitan, N., L.R. Howard, T. Morelock y M.I. Gil. 2005. Antioxidant capacity and phenolic content of spinach as affected by genetics and maturation. *J Agric Food Chem*. 53:8618-8623.
- Parra-Hake, E. 1993. Estudio etnobotánico de las plantas alimenticias de Baja California Sur. Folleto Técnico No. 3. SARH-INIFAP-CIBNOR. Campo Experimental Todos Santos. La Paz, B.C.S. México. 15 p.
- Persky, A.M., P.S. Green, L. Stublely, C.O. Howell, L. Zaulyanov, G.A. Brzaeau y J.W. Simpkins. 2000. Protective effect of estrogens against oxidative damage to heart and skeletal muscle *in vivo* and *in vitro*. *Proc Soc Exp Biol Med*. 223:59-66.

- Piacente, S., E.E.S. Camargo, A. Zampelli, J.S. Gracioso, A.R. Souza-Brito, C. Pizza y W. Vilegas. 2002. Flavonoids and Arbutin from *Turnera diffusa*. *Z. Naturforsch.* 57:983-985.
- Pinelli, P., F. Agostini, C. Comino, S. Lanteri, E. Portis, A. Romani. 2007. Simultaneous quantification of caffeoyl esters and flavonoids in wild and cultivated cardoon leaves. *Food Chem.* 105:1695-1701.
- Piña-Puente, F. 1993. Catálogo de plantas útiles de Baja California Sur. INIFAP. Folleto Técnico No. 2. SARH-INIFAPCIRNO. Campo Experimental Todos Santos La Paz, B.C.S. México. 46 p.
- Pourmorad, F., S.J. Hosseinimehr y N. Shahabimajd. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African J Biotechnol* 5:1142-1145.
- Prakash, D., S. Suri, G. Upadhyay y B.N. Singh. 2007. Total phenol, antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants. *Int J Food Sci Nutr.* 58:18-28.
- Raffo, A., G. La Malfa, F.V. Fogliano, G. Maiani y G. Quaglia. 2006. Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1), en: *J Food Comp Anal.* 19:11-19.
- Ramírez-Orduña, R., R.G. Ramírez, H. González-Rodríguez y G.F.W. Haenleind. 2005. Mineral content of browse species from Baja California Sur, México. *Small Ruminant Res.* 57:1-10.
- Rao, A.V. y L.G. Rao. 2007. Carotenoids and human health. *Pharmacol Res.* 55:207-216.
- Raven, P.H., R.F. Evert y S.E. Eichhorn. 1992. La biología de las plantas. Volumen 2. Reverté. pp. 518.

- Ravindran, K.C., A. Indrajith, P.V. Pratheesh, K. Sanjiviraja y V. Balakrishnan. 2010. Effect of ultraviolet-B radiation on biochemical and antioxidant defence system in *Indigofera tinctoria* L. seedlings. *Int J Engin Sci Technol.* 2:226-232.
- Rietveld, A. y S. Wiseman. 2003. Antioxidant effects of tea: Evidence from human clinical trial. *Proceedings of the Third International Scientific Symposium on Tea and Human Health: Role of Flavonoids in the Diet.* *Am Soc Nut Sci J Nut.* 3285-3292.
- Rodríguez-Amaya, D.B. 1999. Changes in carotenoids during processing and storage of foods. *Arch Latinoamericanas Nutrit.* 49:38-47.
- Rozema J., J. Staaij, L. Björn y D. Nancy. 1999. Depletion of stratospheric ozone and solar UV-B radiation: evolution of land plants, UV-screens and function of polyphenolics. *Stratospheric ozone depletion: the effects of enhanced UV-B radiation on terrestrial ecosystems.* Rozema, J (ed). Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands pp.1-19.
- Salama, H.M.H., A.A. Watban y A.T. Al-Fughom. 2010. Effect of ultraviolet radiation on chlorophyll, carotenoid, protein and proline contents of some annual desert plants. *Saudi J Biol Sci.* 18:79-86.
- Salazar, R., M.E. Pozos, P.Cordero, J. Pérez, M.C. Salinas y N. Waksman. 2008. Determination of the antioxidant activity of plants from northeast Mexico. *Pharmaceutical Biology.* 56-166-170.
- Sandoval, G. 1982. La damiana (*Turnera diffusa*, Willd) una revisión bibliográfica y experiencias en su aprovechamiento e inducción al cultivo. Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México. 205 p.

- Saranz-Camargo, E.E., M. Telascra y W. Vilegas. 2008. Effect of the decontamination using gamma irradiation on the essential oil of *Turnera diffusa* Wild. J Pharmacognosy. 18:356-359.
- Sathishkumar, R., P.T.V. Lakshmi y A. Annamalai. 2009. Effect of drying treatment on the content of antioxidants in *Enicostemma littorale* blume. Res J Med Plants. 3:93-101.
- Scandalios, J.G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. Plant Physiol. 101:7-12.
- Schippmann, U., D. Leaman y A.B. Cunningham. 2006. A comparison of cultivation and wild collection of medicinal and aromatic plants under sustainability aspects, en Bogers, R.J., L.E. Craker y D. Lange (eds.). Medicinal and Aromatic Plants. Springer. Netherlands. pp. 75-95.
- Schützendübel, A. y A. Polle. 2002. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization J Exp Bot. 53:1351-1365.
- Schwartz, S.J. y T.V. Lorenzo. 1991. Chlorophyll stability during continuous aseptic processing and storage. J Food Sci. 56:1056-1062.
- Sellami, I.H., W.A. Wannes, I. Bettaieb, S. Berrima, T. Chahed, B. Marzouk y F. Limam. 2011. Qualitative and quantitative changes in the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves as affected by different drying methods. Food Chem. 126:691-697.
- Sen-Gupta, A., R.P. Webb, A.S. Holaday y R.D. Allen. 1993. Overexpression of superoxide dismutase protects plants from oxidative stress. Plant Physiol. 103:1067-1073.
- Shewfelt, R.L. y B.A. del Rosario. 2000. The role of lipid peroxidation in storage disorders of fresh fruits and vegetables. HortScience. 35:575-579.
- Sies, H. 1997. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. Exp Physiol. 82:291-295.

- Singleton, V.L. y J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolyb-
dicphosphotungstic acid reagents. *American J Enol Viticulture*. 16:144-158.
- Sinha, S., R. Saxena y S. Singh. 2005. Chromium induced lipoperoxidation in plants of
Pistia stratiotes L.: Role of antioxidants and antioxidants enzymes. *Chemosphere*.
58:595-604.
- Snaich, K.M. 1992. Metals and lipid oxidation. *Contemporary issues*. *Lipids*. 27:209-218.
- Sobukola, O.P., O.U. Dairo, L.O. Sanni, A.V. Odunewu, B.O. Fadiolu. 2007. Thin layer
drying process of some leafy vegetables under open sun. *Food Sci Tech Int*. 13:35-40.
- Solartronic, S.A. de C. V. 2003. Irradiación global, directa y difusa, en superficies
horizontales e inclinadas, así como irradiación directa normal, para la República
Mexicana. Av. Morelos Sur No. 90. 62070. Col. Chipitlán. Cuernavaca, Morelos,
México.
- Spears, J.W. 1994. Minerals in forages. In: Fahey Jr., G.C. (Ed.), *Proceedings of the
National Conference on Forage Quality, Evaluation and Utilization*. University of
Nebraska, Lincoln, NE, pp. 281-317.
- Spencer, K.C. y D.S. Seigler. 1981. Tetraphyllin B from *Turnera diffusa*. *Planta Medica, J
Med Plant Res*. 43:175-178.
- Štajner, D., Igić, B.M. Popović y Dj.Malenčić. 2008. Comparative study of antioxidant
properties of wild growing and cultivated *Allium* species. *Phytother Res*. 22:113-
117.
- Stratil, P., B. Klejdus y V.Kuban. 2007. Determination of phenolic compounds and their
antioxidant activity in fruits and cereals. *Talanta*. 71:1741-1751.

- Sudheesh, S., C. Sandhya, K.A. Sarah y N.R. Vijayalakshmi. 1999. Antioxidant activity of flavonoids from *Solanum melongena*. *Phytother Res.* 13:393-396.
- Sukrasno, I.F., K. Anggadiredja, W.A. Handayani y K. Anam. 2011. Influence of drying method on flavonoid content of *Cosmos caudatus* (Kunth) Leaves. *Res J Med Plant.* 5: 189-195.
- Sultana, B. y F. Anwar. 2008. Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. *Food Chem.* 108:879-884.
- Suzuki, K. 2000. Measurement of Mn-SOD and Cu, Zn-SOD. In: Taniguchi, N., Gutteridge, J. (Eds.). *Experimental protocols for reactive oxygen and nitrogen species.* Oxford University Press. R. U. pp. 91-95.
- Svilaas, A., A.K. Sakhi, L.F. Andersen, T. Svilaas, L.C. Ström, D.R.Jr. Jacobs, L. Ose y R. Blomhoff. 2004. Intakes of antioxidants in coffee, wine, and vegetables are correlated with plasma carotenoids in humans. *J Nutr.* 134:562-567.
- Szalai, G., T. Kellös, G. Galiba y G. Kocsy. 2009. Glutathione as an antioxidant and regulatory molecule in plants under abiotic stress conditions. *J Plant Growth Regul.* 28:66-80.
- Tai, C.Y. y B.H. Chen. 2000. Analysis and stability of carotenoids in the flowers of daylily (*Hemerocallis disticha*) as affected by various treatments. *J Agr Food Chem.* 48:5962-5968.
- Taíz, L. y E. Zeiger. 2006. *Plant Physiology.* 4ª ed. Sinauer, Sunderland. MA. EUA. 764 p.
- Tavarini, S., E. Degl'Innocenti, D. Remorini, R. Massai y L. Guidi. 2008. Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwifruit. *Food chemistry.* 107:282-288.

- Tee, E.S. y C.L. Lim. 1990. Carotenoid composition and content of Malaysian vegetables and fruits by AOAC and HPLC methods. *Food Chem.* 41:309-339.
- Tevini, M. 2004. Plant responses to ultraviolet radiation stress. En: Papageorgiou GC, Govindjee (eds) *Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis*. Springer, Netherlands, pp. 605-621.
- Thomson, W.A.R. 1980. Guía práctica ilustrada de las plantas medicinales. De. Blume. España. pp. 106-107.
- Toor, R.K., G.P. Savage y A. Heeb. 2006. Influence of different types of fertilizers on the major antioxidant components of tomatoes. *J Food Comp Anal.* 19:20-27.
- Torabinejad, J. y M. M. Caldwell. 2000. Inheritance of UV-B tolerance in seven ecotypes of *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. and their F1 hybrids. *J Hered.* 91:228-233.
- Turyanitsa, I., M. Baloghova, B. Paulovicsova, M. Burdova, J. Hudec y E. Balint. 2006. Antioxidant and antiradical activity of plant resources as indicators of food value. *Annales Universitatis Mariae E. Curie – Skłodowska. Lublin-Polonia.* Vol. XIX, N.1, 15. pp. 91-94.
- Vázquez, C.J. 1993. Guía para el establecimiento de plantaciones de damiana (*Turnera diffusa* Willd), en Baja California Sur. Folletos para Productores No. 1. SARH-INIFAP-CIRNO. Campo Experimental Todos Santos La Paz B.C.S. México. 14 p.
- Vázquez-Yáñez, O. 2009. Aprovechamiento de la energía alterna o renovable en Baja California. Instituto Municipal de Investigación y Planeación de Ensenada, B.C. IMIP. www.imipens.org.
- Veeru, P., M. Pankaj-Kishor y M. Meenakshi. 2009. Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. *J Medicinal Plants Res.* 3:608-612.

- Vega-Gálvez, A., R. Lemus-Mondaca, C. Tello-Ireland, M. Miranda y F. Yagnam. 2009. Kinetic study of convective drying of blueberry variety O'Neil (*Vaccinium corymbosum*). Chilean J Agric Res. 69:171-178.
- Wang, C.Y., C. Chen y S.Y. Wang. 2009. Changes of flavonoid content and antioxidant capacity in blueberries after illumination with UV-C. Food Chem. 17:426-431.
- Wiggins, I. 1980. Flora of Baja California. Stanford University Press. California, U.S.A. 1025 p.
- Wong, C.C., H.B. Li, K.W. Cheng y F. Chen. 2006. A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. Food Chem. 97:705-711.
- Xu, C., J.H. Sullivan, W.M. Garrett, T. J. Caperna y S. Natarajan. 2008. Impact of solar Ultraviolet-B on the proteome in soybean lines differing in flavonoid contents. Phytochemistry. 69:38-48.
- Yanishlieva-Maslarova, N.V. 2001. Inhibición de la oxidación. en: Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. Antioxidantes de los alimentos. Aplicaciones prácticas. Zaragoza. Edit. Acribia. pp. 23-68.
- Yesilada, E., K. Tsuchiya, Y. Takaishi y K. Kazuyoshi. 2000. Isolation and characterization of free radical scavenging flavonoid glycosides from the flowers of *Spartium junceum* by activity-guided fractionation. J Ethnopharmacol. 73:471-478.
- Yordanov, I., V. Velikova y T. Tsonev. 2003. Plant responses to drought and stress tolerance. Bulgarian J Plant Physiol. Special Issue, 187-206.
- Zhang, W. J. y L.O. Björn. 2009. The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants. Fitoterapia. 80:207-218.

ANEXOS

Anexo 1. Tabla 1. Resumen de resultados obtenidos. Comparación y efecto de los tejidos, las poblaciones y el secado en la composición antioxidante y estrés oxidativo de las plantas de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) obtenidas de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León.

Anexo 2. Tabla 2. Reporte estadístico del porcentaje de humedad en hojas y tallos de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) de diferentes poblaciones.

Anexo 3. Tabla 3. Reporte estadístico de los oligoelementos en hojas y tallos de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) de distintas poblaciones.

Anexo 4. Tabla 4. Reporte estadístico del contenido antioxidante enzimático en hojas y tallos de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) de diferentes poblaciones bajo condiciones en fresco y en seco.

Anexo 5. Tabla 5. Reporte estadístico de los pigmentos fotosintéticos en hojas y tallos de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) de diferentes poblaciones bajo condiciones en fresco y en seco.

Anexo 6. Tabla 6. Reporte estadístico del contenido antioxidante no enzimático en hojas y tallos de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) de diferentes poblaciones bajo condiciones en fresco y en seco.

Anexo 7. Tabla 7. Reporte estadístico del contenido de compuestos fenólicos e indicativos del estado de estrés oxidativo en hojas y tallos de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) de diferentes poblaciones bajo condiciones en fresco y en seco.

Anexo 8. Tabla 8. Reporte estadístico de los pigmentos fotosintéticos en hojas de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-B suplementaria.

Anexo 9. Tabla 9. Reporte estadístico de los pigmentos fotosintéticos en tallos de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-B suplementaria.

Anexo 10. Tabla 10. Reporte estadístico del contenido antioxidante enzimático en hojas de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-B suplementaria.

Anexo 11. Tabla 11. Reporte estadístico del contenido antioxidante enzimático en tallos de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-B suplementaria.

Anexo 12. Tabla 12. Reporte estadístico del contenido antioxidante no enzimático en hojas de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-B suplementaria.

Anexo 13. Tabla 13. Reporte estadístico del contenido de compuestos fenólicos e indicativos del estado de estrés oxidativo en hojas de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-B suplementaria.

Anexo 14. Tabla 14. Reporte estadístico del contenido de compuestos fenólicos e indicativos del estado de estrés oxidativo en tallos de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-B suplementaria.

Anexo 15. Tabla 15. Reporte estadístico de los pigmentos fotosintéticos en hojas de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-C suplementaria.

Anexo 16. Tabla 16. Reporte estadístico de los pigmentos fotosintéticos en tallos de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-C suplementaria.

Anexo 17. Tabla 17. Reporte estadístico del contenido antioxidante enzimático en hojas de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-C suplementaria.

Anexo 18. Tabla 18. Reporte estadístico del contenido antioxidante enzimático en tallos de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-C suplementaria.

Anexo 19. Tabla 19. Reporte estadístico del contenido antioxidante no enzimático en hojas de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-C suplementaria.

Anexo 20. Tabla 20. Reporte estadístico del contenido de compuestos fenólicos e indicativos del estado de estrés oxidativo en hojas de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-C suplementaria.

Anexo 21. Tabla 21. Reporte estadístico del contenido de compuestos fenólicos e indicativos del estado de estrés oxidativo en tallos de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-C suplementaria.

Anexo 22. Artículo Publicado. Soriano-Melgar, L.A.A., L. Alcaraz-Meléndez, L. Méndez-Rodríguez, M.E. Puente, F. Rivera-Cabrera y T. Zenteno-Savín. 2012. Antioxidant and trace element content of damiana (*Turnera diffusa* Willd) under wild and cultivated conditions in semiarid zones. *Ind. Crops Prod.* 37:321-327.

Anexo 23. Soriano-Melgar, L.A.A., L. Alcaraz-Meléndez, A.E. Estrada-Castillón, L.C. Méndez-Rodríguez, M.E. Puente, F. Rivera-Cabrera y T. Zenteno-Savín. Antioxidant constituents in two populations of damiana (*Turnera diffusa* Willd) from arid regions. *Journal of Arid Environments*. Sometido.

Anexo 24. Soriano-Melgar, L.A.A., L. Alcaraz-Meléndez, A.E. Estrada-Castillón, L.C. Méndez-Rodríguez, M.E. Puente, F. Rivera-Cabrera y T. Zenteno-Savín. Antioxidant responses of Damiana (*Turnera diffusa* Willd) to *in vitro* exposure to artificial ultraviolet (UV) radiation. Part I: UV-B radiation. Sometido.

Anexo 25. Soriano-Melgar, L.A.A., L. Alcaraz-Meléndez, A.E. Estrada-Castillón, L.C. Méndez-Rodríguez, M.E. Puente, F. Rivera-Cabrera y T. Zenteno-Savín. Antioxidant responses of Damiana (*Turnera diffusa* Willd) to *in vitro* exposure to artificial ultraviolet (UV) radiation. Part II: UV-C radiation. Sometido.

Tabla 1. Resumen de resultados obtenidos. Comparación y efecto de los tejidos, las poblaciones y el secado en la composición antioxidante y estrés oxidativo de las plantas de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) obtenidas de CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León.

Determinaciones	Tejidos	Poblaciones	Secado
Oligoelementos	Tallo < Hoja	El Carrizal < Todos Santos y CIBNOR < N. León El Carrizal < Todos Santos y CIBNOR < N. León	H T
SOD	Tallo < Hoja	Nuevo León < Silvestres BCS < CIBNOR Nuevo León < Silvestres BCS < CIBNOR	H T
CAT	-----	----- El Carrizal < Todos Santos y CIBNOR	H T
POX	-----	Nuevo León < Silvestres BCS < CIBNOR -----	H T
Pigmentos (Clorofilas a y b y carotenoides)	Tallo < Hoja	CIBNOR < Silvestres BCS < Nuevo León CIBNOR < Silvestres BCS < Nuevo León	H T
Vitamina C	Tallo < Hoja	N. León y Todos Santos < El Carrizal < CIBNOR N. León y CIBNOR < Todos Santos < El Carrizal	H T
Vitamina E	Tallo < Hoja	Nuevo León y CIBNOR < El Carrizal < Todos Santos No hay diferencias significativas	H T
Fenólicos totales	Tallo < Hoja	Nuevo León < Todos Santos < CIBNOR y El Carrizal Nuevo León < Todos Santos y CIBNOR < El Carrizal	H T
Capacidad Antioxidante	Tallo < Hoja	Nuevo León < Todos Santos < CIBNOR y El Carrizal Nuevo León y Todos Santos < CIBNOR y El Carrizal	H T
Lipoperoxidación	Hoja < Tallo	Nuevo León < CIBNOR y El Carrizal < Todos Santos Todos Santos < CIBNOR y El Carrizal < Nuevo León	H T
Carbonilos Proteicos	Tallo < Hoja	Nuevo León < El Carrizal y Todos Santos < CIBNOR El Carrizal < Nuevo León, CIBNOR y Todos Santos	H T

< = menor que; H = Hoja; T = Tallo; ----- = No determinado; ***** = Efecto diferente entre poblaciones; Silvestres BCS = Incluye las poblaciones de El Carrizal y Todos Santos; En negritas se remarca la población con el mayor efecto del secado.

Tabla 2. Reporte estadístico del porcentaje de humedad en hojas y tallos de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) de diferentes poblaciones.

Población	Porcentaje de humedad (%)		
	Tejido/Condición	Hoja	Tallo
CIBNOR		62.963 ±0.516 a*	51.137 ±0.523 b**
P (Tejido)		0.000000	
EL CARRIZAL		43.502 ±1.089 b*	31.282 ±0.551 c**
P (Tejido)		0.000000	
TODOS SANTOS		46.070 ±1.525 b*	32.193 ±1.996 c**
P (Tejido)		0.000007	
NUEVO LEÓN		65.263 ±0.785 a*	56.914 ±0.796 a**
P (Tejido)		0.000000	
P (Población)		0.000000	0.000000

Los resultados muestran el promedio ± error estándar de una muestra de n=15 por triplicado.

Las diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas entre población, las diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas entre condiciones y los asteriscos diferencias significativas entre tejidos con una $p < 0.05$.

Tabla 3. Reporte estadístico de los elementos traza en hoja y tallo de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) de distintas poblaciones.

Población	Mg (mg Kg ⁻¹)		Fe (mg Kg ⁻¹)		Cu (mg Kg ⁻¹)		Zn (mg Kg ⁻¹)		Cd (mg Kg ⁻¹)		Pb (mg Kg ⁻¹)	
	Hoja	Tallo	Hoja	Tallo	Hoja	Tallo	Hoja	Tallo	Hoja	Tallo	Hoja	Tallo
CIBNOR	3908.4880 ±131.6540 a*	1324.5329 ±74.8741 a**	224.364 ±11.141 a*	64.3815 ±11.1963 b**	5.5305 ±0.2070 b	5.2864 ±0.3268 b	39.2363 ±3.2039 a*	14.6491 ±1.3425 b**	3.9097 ±1.1010 *	1.3421 ±0.1924 **	2.3097 ±0.2885	nd
P (Tejido)	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.533124	0.000000	0.000000	0.000000	0.042456	0.042456	---	---
EL CARRIZAL	2876.9860 ±118.3011 b*	810.1420 ±38.0240 b**	66.032 ±2.781 b*	25.4890 ±3.3747 c**	2.5628 ±0.1466 b	3.2848 ±0.1642 b	19.1135 ±1.0439 c*	8.0585 ±0.6509 c**	0.1272 ±nd	nd	nd	nd
P (Tejido)	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.002786	0.000000	0.000000	0.000000	---	---	---	---
TODOS SANTOS	3665.0550 ±118.8007 a*	916.4009 ±36.9423 b**	187.846 ±13.931 a*	63.8798 ±4.4245 b**	5.2814 ±0.2309 b	2.8598 ±0.2960 c	25.5070 ±1.3689 b*	12.2213 ±0.9786 b**	nd	nd	1.7620 ±0.3740	nd
P (Tejido)	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000001	0.000000	0.000000	0.000000	---	---	---	---
NUEVO LEÓN	3510.8801 ±129.2175 a*	1951.5477 ±120.0459 a**	317.251 ±32.611 a**	448.1558 ±7.0245 a*	12.6500 ±0.2778 a	12.1160 ±0.3914 a	49.3580 ±2.7626 a*	35.0297 ±1.4198 a**	1.0238 ±nd	nd	31.3425 ±16.6901	8.2901 ±1.6783
P (Tejido)	0.000000	0.029925	0.029925	0.029925	0.275363	0.000080	0.000080	0.000080	---	---	0.572596	---
P (Población)	0.000002	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000

Los resultados muestran el promedio ± error estándar de una muestra de n=15 por triplicado.

Las diferentes letras indican diferencias significativas entre población (CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León) y los asteriscos diferencias significativas entre tejidos (hoja y tallo) con una p<0.05.

Tabla 4. Reporte estadístico del contenido antioxidante enzimático en hojas y tallos de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) de diferentes poblaciones bajo condiciones en fresco y en seco.

Población	SOD (U mg ⁻¹ Proteína)				POX (U mg ⁻¹ Proteína)				
	Tejido/ Condición	Hoja Fresca	Hoja Seca	Tallo Fresco	Tallo Seco	Hoja Fresca	Hoja Seca	Tallo Fresco	Tallo Seco
CIBNOR		4.256 ±0.369 aB*	9.732 ±1.404 aA	1.385 ±0.133 aB**	8.455 ±0.900 aA	1.319 ±0.128 aB	2.943 ±0.469 aA	nd	nd
P (Condición)		0.000771		0.000000		0.003136		---	
EL CARRIZAL		1.677 ±0.137 bB*	3.739 ±0.523 bcA	0.926 ±0.062 bB**	3.746 ±0.686 bA	1.402 ±0.095 aB	1.943 ±0.212 abA	0.067 ±0.006	nd
P (Condición)		0.000693		0.000327		0.032103		---	
TODOS SANTOS		1.692 ±0.174 bB*	5.172 ±0.854 bA	0.756 ±0.066 bB**	3.043 ±0.287 bA	0.531 ±0.044 bB	1.941 ±0.246 abA	nd	nd
P (Condición)		0.000427		0.000000		0.000008		---	
NUEVO LEÓN		0.281 ±0.022 cB*	1.097 ±0.073 cA	0.824 ±0.096 bB**	1.585 ±0.181 bA	0.311 ±0.014 bB	1.295 ±0.132 bA	nd	nd
P (Condición)		0.000000		0.000895		0.000000		---	
P (tejido)		F 0.000014		S 0.323013		F ---		S ---	
P (Población)		0.000000	0.000000	0.000050	0.000000	0.000000	0.003511	---	---

Los resultados muestran el promedio ± error estándar de una muestra de n=15 por triplicado.

Las diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas entre población (CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León), las diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas entre condiciones (fresco y seco) y los asteriscos diferencias significativas entre tejidos (hoja y tallo) con una p<0.05.

Tabla 5. Reporte estadístico de los pigmentos fotosintéticos en hojas y tallos de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) de diferentes poblaciones bajo condiciones en fresco y en seco.

Población	Clorofila a ($\mu\text{g g}^{-1}$ tejido)				Clorofila b ($\mu\text{g g}^{-1}$ tejido)				Carotenos ($\mu\text{g g}^{-1}$ tejido)			
	Hoja Fresca	Hoja Seca	Tallo Fresco	Tallo Seco	Hoja Fresca	Hoja Seca	Tallo Fresco	Tallo Seco	Hoja Fresca	Hoja Seca	Tallo Fresco	Tallo Seco
CIBNOR	133.093 ±4.492 cA*	94.488 ±3.214 bB***	25.468 ±1.250 bA**	19.594 ±0.884 bB***	60.711 ±1.731 cA*	55.027 ±3.358 cA***	22.768 ±0.840 bA**	19.083 ±0.487 bB****	13.425 ±1.476 bA*	0.929 ±0.526 bB***	1.311 ±0.246 bB**	2.746 ±0.340 aA****
P (Condición)	0.000000	0.000000	0.000651	0.000729	0.143643	0.000253	0.000729	0.000000	0.000000	0.000000	0.001920	0.000000
EL CARRIZAL	169.265 ±9.263 abA*	111.901 ±5.752 bB***	24.789 ±1.204 bA**	16.911 ±0.716 bB****	76.035 ±3.536 abA*	71.834 ±6.477 bA***	23.062 ±0.844 bA**	19.268 ±0.327 bB****	43.705 ±6.422 aA*	9.860 ±2.943 aB***	3.369 ±0.449 aA**	2.780 ±0.452 aA****
P (Condición)	0.000014	0.000014	0.000005	0.000253	0.573688	0.000253	0.000253	0.000049	0.000049	0.000049	0.363450	0.000000
TODOS SANTOS	163.167 ±8.171 bA*	66.372 ±4.069 cB***	18.534 ±1.390 cA**	15.782 ±0.627 bA****	72.554 ±3.808 bA*	38.972 ±2.021 cB***	19.632 ±0.707 bA**	19.905 ±0.421 bA****	25.485 ±2.586 bA*	2.685 ±0.692 bB***	1.445 ±0.289 bB**	3.362 ±0.552 aA****
P (Condición)	0.000000	0.000000	0.081853	0.000000	0.000000	0.000000	0.742137	0.000000	0.000000	0.000000	0.004650	0.000000
NUEVO LEÓN	193.167 ±7.975 aB*	252.774 ±7.408 aA***	47.237 ±2.187 aB**	62.339 ±4.403 aA****	86.387 ±2.963 aB*	117.869 ±4.801 aA***	35.751 ±1.262 aB**	51.121 ±4.993 aA****	19.051 ±0.948 bA*	9.535 ±1.155 aB***	3.055 ±0.393 aA**	4.107 ±0.463 aA****
P (Condición)	0.000008	0.000008	0.004701	0.005837	0.000006	0.000006	0.005837	0.000001	0.000001	0.000001	0.094134	0.000000
P (tejido)	F 0.000000	S 0.000000	F 0.000000	S 0.000000	F 0.000000	S 0.000000	F 0.000000	S 0.000000	F 0.000000	S 0.000000	F 0.000000	S 0.012025
P (Población)	0.000016	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000001	0.000172	0.000052	0.133377

Los resultados muestran el promedio \pm error estándar de una muestra de $n=15$ por triplicado.

Las diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas entre población (CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León), las diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas entre condiciones (fresco y seco) y los asteriscos diferencias significativas entre tejidos (hoja y tallo) con una $p < 0.05$.

Tabla 6. Reporte estadístico del contenido antioxidante no enzimático en hojas y tallos de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) de diferentes poblaciones bajo condiciones en fresco y en seco.

Población	Vitamina C (mg ácido ascórbico g ⁻¹ tejido)				Vitamina E (mg α -tocoferol g ⁻¹ tejido)			
	Hoja Fresca	Hoja Seca	Tallo Fresco	Tallo Seco	Hoja Fresca	Hoja Seca	Tallo Fresco	Tallo Seco
CIBNOR	0.573 ±0.249 aA**	0.978 ±0.221 abA***	0.248 ±0.099 bA*	0.561 ±0.444 aA****	1.011 ±0.289 bA*	0.360 ±0.028 bA***	0.864 ±0.161 aA*	0.557 ±0.010 aA****
P (Condición)	0.378852	0.02046	0.325977	0.024960	0.088059	0.757742	0.129402	
EL CARRIZAL	0.227 ±0.101 aB**	1.008 ±0.130 aA***	2.428 ±0.792 aA*	0.051 ±0.020 aB****	1.663 ±0.046 abA*	1.560 ±0.308 aA***	0.844 ±0.231 aA*	0.466 ±0.213 aA****
P (Condición)	0.002046	0.024960	0.024960	0.024960	0.757742	0.757742	0.129402	
TODOS SANTOS	0.455 ±0.048 aA**	0.493 ±0.160 abA***	0.670 ±0.325 abA*	0.200 ±0.088 aA****	2.156 ±0.067 aA*	1.678 ±0.125 ab***	1.094 ±0.215 aA*	0.817 ±0.081 aA****
P (Condición)	0.121990	0.116650	0.116650	0.116650	0.028001	0.028001	0.291092	
NUEVO LEÓN	0.333 ±0.129 aA**	0.110 ±0.021 bA***	0.745 ±0.432 abA*	0.493 ±0.328 aA****	1.099 ±0.114 bA*	1.163 ±0.128 abA***	1.310 ±0.643 aA*	0.729 ±0.019 aA****
P (Condición)	0.495470	0.150931	0.150931	0.150931	0.726059	0.726059	0.416864	
P (tejido)	F 0.025962	S 0.025962	S 0.025962	S 0.025962	F 0.058669	F 0.058669	S 0.007067	
P (Población)	0.630852	0.018337	0.018145	0.430494	0.003216	0.003158	0.784223	0.203927

Los resultados muestran el promedio \pm error estándar de una muestra de n=15 por tipificado.

Las diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas entre población (CIBNOR, El Carrizal, Todos Santos y Nuevo León), las diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas entre condiciones (fresco y seco) y los asteriscos diferencias significativas entre tejidos (hoja y tallo) con una p<0.05.

Tabla 7. Reporte estadístico del contenido de compuestos fenólicos e indicadores del estado de estrés oxidativo en hojas y tallos de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) de diferentes poblaciones bajo condiciones en fresco y en seco.

Población	Compuestos fenólicos (mg ácido gálico g ⁻¹ tejido)						Capacidad Antioxidante (mM ácido gálico g ⁻¹ tejido)						TBARS (nM TBARS mg ⁻¹ de proteína)						Carbonilos proteicos (µM de proteína g ⁻¹ tejido)					
	Tejido/ Condición	Hoja Fresca	Hoja Seca	Tallo Fresco	Tallo Seco	Hoja Fresca	Hoja Seca	Tallo Fresco	Tallo Seco	Hoja Fresca	Hoja Seca	Tallo Fresco	Tallo Seco	Hoja Fresca	Hoja Seca	Tallo Fresco	Tallo Seco	Hoja Fresca	Hoja Seca	Tallo Fresco	Tallo Seco			
CIBNOR	8.097 ±0.257 aB*	10.436 ±0.410 bA***	4.102 ±0.312 bcB**	5.578 ±0.187 ba***	590.129 ±25.161 bA*	534.115 ±39.920 bA***	372.885 ±35.268 aB**	485.678 ±39.435 aA***	18.520 ±1.973 bB**	545.330 ±78.916 aA***	33.893 ±2.512 abB*	420.353 ±63.682 aA***	209.148 ±11.559 bB***	695.953 ±23.347 aA*	223.253 ±21.699 aB**	782.646 ±27.307 aA***								
P (Condición)	0.000039	0.000360	0.000000	0.041921	0.245185	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000020	0.000048	0.000000	0.000088									
EL CARRIZAL	8.048 ±0.191 aB*	12.645 ±0.419 aA***	6.269 ±0.389 aA***	6.922 ±0.186 aA***	767.336 ±29.635 aA*	863.029 ±52.863 aA***	480.957 ±32.432 aA**	294.787 ±24.260 bB***	35.773 ±4.321 aB**	300.133 ±27.877 bA***	33.281 ±3.017 abB*	96.983 ±16.194 bA***	140.595 ±11.69 cB***	264.052 ±8.562 b*	129.978 ±12.743 bB**	681.226 ±3.291 abA***								
P (Condición)	0.000000	0.141223	0.000000	0.125670	0.000083	0.000000	0.000000	0.000599	0.001041						0.000002									
TODOS SANTOS	6.725 ±0.187 bB*	10.913 ±0.447 bA***	4.994 ±0.395 bB**	6.951 ±0.257 aA***	648.283 ±40.117 bA*	522.003 ±34.198 bcB***	203.500 ±26.351 bA**	251.381 ±21.425 bA***	43.271 ±2.928 aB**	340.052 ±46.381 bA***	24.581 ±2.427 bB*	87.121 ±9.932 bA***	1438.31 ±14.844 aA***	303.485 ±17.718 bB*	274.805 ±14.503 aB**	458.337 ±32.113 cA***								
P (Condición)	0.000000	0.000275	0.000275	0.169609	0.000001	0.000001	0.000001	0.000001	0.000001	0.000001	0.000001	0.000001	0.000001	0.000001	0.006478									
NUEVO LEÓN	4.867 ±0.166 cB*	6.875 ±0.271 cA***	3.578 ±0.221 cA***	3.563 ±0.282 cA***	460.040 ±18.752 cA*	382.422 ±18.984 cB***	221.033 ±29.865 bB**	346.006 ±23.246 bA***	12.934 ±0.506 bB**	111.097 ±9.559 cA***	47.247 ±7.204 aB*	83.020 ±8.335 bA***	109.958 ±3.935 cB***	185.079 ±9.576 cA*	256.165 ±16.944 aB**	648.512 ±15.923 bA***								
P (Condición)	0.000001	0.000001	0.967325	0.007030	0.002826	0.000000	0.000000	0.003020	0.001915	0.000000	0.000000	0.003020	0.001915	0.000072										
P (tejido)	F 0.000000	S 0.000000	F 0.000000	S 0.000000	F 0.025357	S 0.000000	F 0.000000	S 0.000000	F 0.000000	S 0.000000	F 0.000000	S 0.000195	F 0.034573	S 0.339225										
P (Población)	0.000000	0.000000	0.000003	0.000000	0.000000	0.000000	0.000001	0.000001	0.000000	0.000001	0.004899	0.000000	0.000000	0.000000	0.001296	0.000054								

Los resultados muestran el promedio ± error estándar de una muestra de n=15 por triplicado.

Las diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas entre población, las diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas entre condiciones y los asteriscos diferencias significativas entre tejidos con una p<0.05.

Tabla 8. Reporte estadístico del contenido antioxidante enzimático en hoja de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-B suplementaria.

Tratamiento	SOD (U mg ⁻¹ Proteína)						POX (U mg ⁻¹ Proteína)					
	Día	0	1	7	14	21	0	1	7	14	21	
Control	4.124	4.124	4.124	3.401	1.895	4.398	0.279	0.279	0.106	0.051	0.048	
	±0.058	±0.058	±0.058	±0.276	±0.165	±0.515	±0.017	±0.017	±0.010	±0.001	±0.002	
	a**	b**	b**	c**	b**	a**	a	b	a	b	a	
UV-B Baja 2 hr	4.124	1.604	1.604	3.666	1.581	1.440	0.279	0.252	0.057	0.022	0.037	
	±0.058	±0.232	±0.232	±0.114	±0.400	±0.226	±0.017	±0.022	±0.003b	±0.001	±0.002	
	a***	c***	c***	b***	b***	b***	a	b	c	c	b	
UV-B Alta 2 hr	4.124	5.739	5.739	6.680	4.049	4.421	0.279	0.486	0.072	0.052	0.050	
	±0.058	±0.094	±0.094	±0.099	±0.368	±0.414	±0.017	±0.048	±0.005	±0.003	±0.002	
	a*	a*	a*	a*	a*	a*	a	a	b	b	a	
UV-B Alta 4 hr	4.124	6.039	6.039	4.791	3.554	---	0.279	0.205	0.033	0.067	---	
	±0.058	±0.445	±0.445	±0.138	±0.100	---	±0.017	±0.005	±0.003	±0.005	---	
	a*	a*	a*	b*	a*	---	a	b	c	a	---	
P (día)	---	0.000007	0.000003	0.000610	0.002867	---	0.000427	0.000163	0.000050	0.006728		
P (tratamiento)	---	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	---	0.547289	0.000000	0.000000	0.000000		

El día uno es considerado como recién irradiado.

Los resultados muestran el promedio ± error estándar de una muestra de n=5 por triplicado.

Las diferentes letras indican diferencias significativas entre días de exposición y los asteriscos diferencias significativas entre tratamientos con una p<0.05.

Tabla 9. Reporte estadístico del contenido antioxidante enzimático en tallo de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-B suplementaria.

Tratamiento	SOD (U mg ⁻¹ Proteína)						POX (U mg ⁻¹ Proteína)					
	Día	0	1	7	14	21	0	1	7	14	21	
Control	3.939	0.868	0.868	0.868	0.111	0.045	0.059	3.939	8.722	5.275	8.333	
	±0.415	±0.060	±0.060	±0.060	±0.007	±0.003	±0.002	±0.415	±0.469	±0.218	±0.333	
	a ^{***}	a ^{***}	a ^{***}	a ^{***}	bc ^{**}	b ^{***}	a ^{**}	b ^{***}	b ^{**}	b ^{***}	a ^{**}	
UV-B Baja 2 hr	3.939	0.868	0.124	0.092	0.073	0.045	0.045	4.752	5.150	3.023	4.674	
	±0.415	±0.060	±0.007	±0.004	±0.008	±0.002	±0.393	±0.661	±0.249	±0.146		
	a ^{***}	a ^{**}	b ^{**}	c ^{**}	b ^{**}	b ^{**}	b ^{***}	c ^{***}	c ^{***}	b ^{***}		
UV-B Alta 2 hr	3.939	0.868	0.089	0.136	0.047	0.066	7.693	12.101	7.762	7.115		
	±0.415	±0.060	±0.004	±0.009	±0.003	±0.003	±0.370	±0.225	±0.299	±0.999		
	a [*]	a ^{**}	b ^{**}	ab ^{**}	b ^{**}	a ^{**}	a [*]	a [*]	a [*]	ab [*]		
UV-B Alta 4 hr	3.939	0.868	0.820	0.165	0.206	0.206	7.423	7.408	3.088	---		
	±0.415	±0.060	±0.029	±0.009	±0.026	---	±0.578	±0.188	±0.238			
	a ^{**}	a [*]	a [*]	a [*]	a [*]	---	a ^{****}	b ^{****}	c ^{****}			
P (día)	---	---	0.000000	0.000727	0.000100	0.003002	0.000660	0.000023	0.000003	0.014821		
P (tratamiento)			0.000066					0.009513				

El día uno es considerado como recién irradiado.

Los resultados muestran el promedio ± error estándar de una muestra de n=5 por triplicado.

Las diferentes letras indican diferencias significativas entre días de exposición y los asteriscos diferencias significativas entre tratamientos con una p<0.05.

Tabla 10. Reporte estadístico de los pigmentos fotosintéticos en hoja de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-B suplementaria.

Tratamiento	Clorofila a ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco)						Clorofila b ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco)						Carotenoides ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco)					
	Día	0	1	7	14	21	0	1	7	14	21	0	1	7	14	21		
Control	432.665	432.665	403.855	379.186	414.107	395.220	395.220	435.978	335.243	356.886	11.549	11.549	2.146	11.767	7.436			
	± 6.973	± 6.973	± 3.711	± 2.450	± 10.330	± 10.753	± 10.753	± 47.408	± 3.122	± 7.325	± 1.011	± 1.011	± 0.844	± 1.281	± 0.848			
	a*	b*	a*	a*	a*	a*	a*	a*	a*	a*	a	a	b	a	b			
UV-B Baja 2 hr	432.665	493.303	307.491	227.298	268.807	395.220	423.392	305.718	238.012	262.939	11.549	14.788	2.506	2.972	5.845			
	± 6.973	± 4.973	± 5.486	± 1.334	± 4.525	± 10.753	± 7.855	± 9.889	± 1.182	± 1.874	± 1.011	± 1.647	± 0.212	± 0.283	± 0.346			
	a**	a**	b**	c**	b**	a**	a**	b**	c**	b**	a	a	b	B	b			
UV-B Alta 2 hr	432.665	433.319	267.929	251.190	151.448	395.220	401.515	260.144	297.059	196.931	11.549	6.237	9.953	3.324	22.728			
	± 6.973	± 7.461	± 4.950	± 8.569	± 2.930	± 10.753	± 8.063	± 3.469	± 9.307	± 3.747	± 1.011	± 0.842	± 0.050	± 0.310	± 0.791			
	a**	b**	c**	b**	c**	a**	a**	b**	b**	c**	a	b	a	b	a			
UV-B Alta 4 hr	432.665	485.803	275.202	209.848	---	395.220	425.806	284.424	235.406	---	11.549	2.409	11.692	6.509	---			
	± 6.973	± 7.861	± 0.970	± 3.865	---	± 10.753	± 11.535	± 1.450	± 6.607	---	± 1.011	± 0.469	± 0.472	± 0.804	---			
	a**	a**	c**	c**	---	a**	a**	b**	c**	---	a	b	a	b	---			
P (día)	---	0.000294	0.000000	0.000000	0.000000	---	0.131191	0.003847	0.000005	0.000001	---	0.000178	0.000001	0.000001	0.000000			
P (tratamiento)	---	0.015909	---	---	---	---	0.022333	---	---	---	---	0.321738	---	---	---			

El día uno es considerado como recién irradiado.

Los resultados muestran el promedio \pm error estándar de una muestra de n=5 por triplicado.

Las diferentes letras indican diferencias significativas entre días de exposición y los asteriscos diferencias significativas entre tratamientos con una $p < 0.05$.

Tabla 11. Reporte estadístico de los pigmentos fotosintéticos en tallo de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-B suplementaria.

Tratamiento	Clorofila a ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco)						Clorofila b ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco)						Carotenoides ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco)					
	Día	0	1	7	14	21	0	1	7	14	21	0	1	7	14	21		
Control	113.875	113.875	113.297	147.676	93.214	129.856	129.856	129.856	129.816	132.831	114.328	6.624	6.624	2.441	6.436	1.265		
	± 4.866	± 4.866	± 7.416	± 2.678	± 4.066	± 3.857	± 3.857	± 3.857	± 1.908	± 1.684	± 3.138	± 0.840	± 0.840	± 0.818	± 0.320	± 0.271		
	a	a	ab	a	b	a*	a*	a*	a*	a*	a*	a	a	b	b	c		
UV-B Baja 2 hr	113.875	109.753	136.273	95.688	106.752	129.856	117.038	131.134	100.660	114.422	114.422	6.624	6.449	2.274	12.339	6.021		
	± 4.866	± 4.819	± 1.852	± 2.404	± 1.014	± 3.857	± 1.506	± 3.524	± 1.240	± 2.232	± 2.232	± 0.840	± 0.273	± 0.373	± 1.171	± 0.422		
	a	a	a	c	a	a*	ab**, a*	a**, a*	b**, a*	a**, a*	a**, a*	a	b	b	a	a		
UV-B Alta 2 hr	113.875	133.833	109.668	119.352	75.613	129.856	107.837	113.386	130.268	101.557	101.557	6.624	16.065	5.599	0.509	4.125		
	± 4.866	± 5.178	± 6.738	± 4.729	± 0.738	± 3.857	± 5.597	± 3.176	± 4.210	± 8.378	± 8.378	± 0.840	± 0.957	± 0.429	± 0.060	± 0.274		
	a	a	bc	b	c	a	b**, a*	b**, a*	a**, a*	a**, a*	a	a	a	a	c	b		
UV-B Alta 4 hr	113.875	128.637	81.456	91.920	---	129.856	126.003	92.277	101.095	---	---	6.624	6.329	4.180	7.260	---		
	± 4.866	± 7.582	± 1.389	± 1.667	---	± 3.857	± 5.966	± 3.980	± 8.368	---	---	± 0.840	± 0.720	± 0.512	± 0.387	---		
	a	a	c	c	---	a**	ab**	c**	b**	---	a	b	ab	b	b	---		
P (día)	---	0.050312	0.000526	0.000005	0.000330	---	0.037582	0.000090	0.001632	0.225106	---	0.000032	0.008930	0.000009	0.000015	7		
P (tratamiento)	---	0.374146	0.008740	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0.399575	---		

El día uno es considerado como recién irradiado. na= no aplica (las plantas no alcanzaron este tiempo de exposición).

Los resultados muestran el promedio \pm error estándar de una muestra de n=5 por triplicado.

Las diferentes letras indican diferencias significativas entre días de exposición y los asteriscos diferencias significativas entre tratamientos con una $p < 0.05$.

Tabla 12. Reporte estadístico del contenido antioxidante no enzimático en hoja de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-B suplementaria.

Tratamiento	Vitamina C (mg ácido ascórbico g ⁻¹ peso fresco)					
	Día	0	1	7	14	21
Control		0.803 ±0.185 a**	0.803 ±0.185 b**	0.937 ±0.068 a**	0.623 ±0.204 c**	0.811 ±0.047 b**
UV-B Baja 2 hr		0.803 ±0.185 a**, a*,	0.867 ±0.052 ab**, a*,	0.769 ±0.035 a**, a*,	1.078 ±0.051 b**, b*,	1.410 ±0.046 a**, a*,
UV-B Alta 2 hr		0.803 ±0.185 a**, a*,	0.980 ±0.086 ab**, a*,	0.882 ±0.087 a**, a*,	1.155 ±0.006 ab**, a*,	0.777 ±0.045 b**, b*,
UV-B Alta 4 hr		0.803 ±0.185 a*	1.087 ±0.032 a*	0.986 ±0.091 a*	1.275 ±0.057 a*	---
P (día)	---		0.028366	0.165048	0.000164	0.000053
P (tratamiento)				0.007752		

El día uno es considerado como recién irradiado.

Los resultados muestran el promedio ± error estándar de una muestra de n=5 por triplicado.

Las diferentes letras indican diferencias significativas entre días de exposición y los asteriscos diferencias significativas entre tratamientos con una p<0.05.

Tabla 13. Reporte estadístico del contenido de compuestos fenólicos e indicadores del estado de estrés oxidativo en hoja de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-B suplementaria.

Tratamiento	Compuestos fenólicos (mg ácido gálico g ⁻¹ peso fresco)							Capacidad Antioxidante (mM ácido gálico g ⁻¹ peso fresco)							TBARS (nM TBARS g ⁻¹ de proteína)							Carbonilos proteicos (µM de proteína g ⁻¹ peso fresco)						
	Día	0	1	7	14	21	7	14	21	7	14	21	0	1	7	14	21	0	1	7	14	21						
Control	25.497	25.497	26.141	88.346	88.346	158.55	123.08	172.55	23.519	29.681	901.03	901.03	928.63	1243.8	984.45	19.66	19.66	24.31	20.91	7.53								
	±0.953	±0.953	±0.564	±1.998	±1.998	±0.38	±3.03	±7.58	±0.462	±0.630	±22.85	±22.85	±53.66	±30.84	±24.91	±0.17	±0.17	±2.11	±1.74	±0.26								
	a*	ab*	a*	a**, a ₁	a**, a ₁	b**, c**	ab**, c**	a**, a ₁	a*	a*	a**, a*	a**, a*	b**, b**	a**, a*	a**, a*	a**	a**	b**, c**	a**	c**								
UV-B Baja 2 hr	25.497	22.147	25.051	88.346	103.12	138.47	77.65	167.99	22.967	22.233	901.03	1567.4	1348.2	918.57	776.78	19.66	19.15	30.59	12.96	14.12								
	±0.953	±0.449	±0.549	±1.998	±5.49	±5.15	±4.92	±8.995	±0.541	±0.261	±22.85	±17.47	±42.12	±55.60	±28.67	±0.17	±2.798	±0.38	±1.84	±0.04								
	a**	c**	ab**	a**	c**	c**	c**	a**, a*	a**	b**	a*	a*	a*	b*	b*	a**	b**	b**	b**									
UV-B Alta 2 hr	25.497	26.257	25.002	88.346	180.91	174.30	127.92	180.70	23.137	22.242	901.03	292.06	946.79	909.96	769.71	19.66	35.49	38.61	20.82	41.57								
	±0.953	±0.469	±1.062	±1.998	±5.08	±1.987	±3.28	±3.15	±0.400	±0.604	±22.85	±13.49	±39.51	±52.75	±26.81	±0.17	±3.81	±0.32	±0.497	±1.69								
	a**	a**	ab**	a*	a*	a*	a*	a*	a**	b**	a**	c**	b**	b**	b**	a*	a*	a*	a*									
UV-B Alta 4 hr	25.497	22.948	22.365	88.346	148.71	131.31	108.90	22.904	22.904	901.03	881.32	769.67	798.16	19.66	13.52	32.58	15.02	15.02	15.02	15.02								
	±0.953	±0.496	±0.280	±1.998	±7.36	±1.31	±1.46	---	±0.464	---	±22.85	±22.56	±36.49	±12.85	---	±0.17	±0.44	±0.56	±0.25	---								
	a**	bc**	b**	a**	b**	c**	b**	a**	a**	a**	a**	b**	b**	b**	a**	a**	a**	b**	b**									
P (día)	---	0.0014	0.0119	---	0.0000	0.0000	0.4774	0.7924	0.0000	---	0.0000	0.0000	0.0000	0.0004	---	0.0010	0.0001	0.0046	0.0000									
P (tratamiento)	---	0.00021	0.000028	0.000028	0.000043	0.005681	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---								

El día uno es considerado como recién irradiado.

Los resultados muestran el promedio ± error estándar de una muestra de n=5 por triplicado.

Las diferentes letras indican diferencias significativas entre días de exposición y los asteriscos diferencias significativas entre tratamientos con una p<0.05.

Tabla 14. Reporte estadístico del contenido de compuestos fenólicos e indicadores del estado de estrés oxidativo en tallo de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-B suplementaria.

Tratamiento	Compuestos fenólicos							Capacidad Antioxidante							TBARS							Carbonilos proteicos						
	(mg ácido gálico g ⁻¹ peso fresco)							(mM ácido gálico g ⁻¹ peso fresco)							(nM TBARS g ⁻¹ de proteína)							(µM de proteína g ⁻¹ peso fresco)						
Día	0	1	0	1	7	14	21	7	14	21	0	1	7	14	21	0	1	7	14	21	0	1	7	14	21			
Control	15.730	15.730	13.458	52.765	52.77	217.88	299.97	228.90	22.090	21.366	526.11	526.11	705.65	657.45	791.44	39.61	39.61	39.61	38.67	26.62	23.39							
	±1.796	±1.796	±0.541	±0.109	±0.11	±2.54	±5.27	±0.69	±1.470	±0.920	±16.94	±16.94	±15.48	±31.71	±24.21	±8.53	±8.53	±8.53	±4.82	±0.83	±0.56							
	a*	b*	a*	a	c	a	a	a	a	a*	a*	a*	b*	a*	a*	a*	a*	a*	a**	a**	a**	a**	a**	a**	a**	b**		
UV-B Baja 2 hr	15.730	12.927	13.108	52.765	150.77	195.03	149.00	192.24	13.742	10.619	526.11	733.43	570.31	582.75	594.73	39.61	25.53	30.13	22.76	23.02								
	±1.796	±0.791	±1.018	±0.109	±1.03	±2.21	±2.60	±1.11	±1.143	±0.767	±16.94	±12.88	±22.78	±7.40	±22.84	±8.53	±3.61	±1.66	±3.33	±1.53								
	a***	bc***	a***	a	b	b	c	b	b**	b***	a*	a*	b*	a*	b*	a**	a**	ab**	a**	b**								
UV-B Alta 2 hr	15.730	31.232	12.562	52.765	143.78	227.56	232.16	149.30	16.981	6.368	526.11	582.58	560.45	395.21	597.69	39.61	36.09	33.59	26.03	44.44								
	±1.796	±1.386	±0.538	±0.109	±8.31	±1.47	±10.90	±1.05	±0.729	±0.669	±16.94	±26.01	±26.03	±16.28	±22.34	±8.53	±0.37	±0.49	±0.19	±0.34								
	a**	a**	a**	a	b	a	b	c	b**	c**	a**	b**	b**	b**	b**	a*	a*	ab*	a*	a*								
UV-B Alta 4 hr	15.730	7.945	8.198	52.765	170.73	235.45	210.82		7.865		526.11	521.40	457.12	418.10		39.61	41.95	25.13	27.99									
	±1.796	±0.835	±0.472	±0.109	±2.15	±7.55	±8.55		±1.041		±16.94	±8.98	±31.40	±21.57		±8.53	±0.61	±0.69	±0.18									
	a***	c***	b***	a	a	a	b		c***		a**	b**	c**	b**		a*	a**	b**	a**									
P (día)	---	00	00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	---	05	22	03	58	---	0.1392	0.0323	0.2500	0.0000								
P (tratamiento)			0.000060			0.000000			0.030781																			

El día uno es considerado como recién irradiado.

Los resultados muestran el promedio ± error estándar de una muestra de n=5 por triplicado.

Las diferentes letras indican diferencias significativas entre días de exposición y los asteriscos diferencias significativas entre tratamientos con una p<0.05.

Tabla 15. Reporte estadístico del contenido antioxidante enzimático en hojas de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-C suplementaria.

Tratamiento	SOD (U mg ⁻¹ Proteína)					POX (U mg ⁻¹ Proteína)					
	Día	0	1	4	7	10	0	1	4	7	10
Control		9.488 ±0.26 a	9.488 ±0.26 b	4.265 ±0.36 a	14.81 ±0.35 a	7.993 ±0.54 a	0.321 ±0.02 a*	0.321 ±0.02 a*	0.137 ±0.01 b*	0.436 ±0.01 a*	0.203 ±0.01 b*
	5 min UV-C	9.488 ±0.26 a	12.94 ±0.25 a	5.234 ±0.14 a	8.498 ±0.46 b	7.724 ±0.10 ab	0.321 ±0.02 a**,	0.264 ±0.07 b**,	0.185 ±0.07 a**,	0.253 ±0.01 b**,	0.224 ±0.02 a**,
	10 min UV-C	9.488 ±0.26 a	9.392 ±0.24 b	4.689 ±0.28 a	8.495 ±0.15 b	6.336 ±0.25 b	0.321 ±0.02 a**,	0.155 ±0.01 c**,	0.170 ±0.02 a**,	0.237 ±0.01 c**,	0.239 ±0.01 a**,
20 min UV-C	9.488 ±0.26 a	6.459 ±0.76 c	4.719 ±0.26 a	7.776 ±0.35 b	6.829 ±0.29 ab	0.321 ±0.02 a**,	0.164 ±0.01 c**,	0.133 ±0.01 b**,	0.239 ±0.02 c**,	0.131 ±0.02 c**,	
P (día)	---	0.000051	0.170819	0.000002	0.027994	---	0.000002	0.000015	0.000000	0.000000	
P (tratamiento)			0.078027					0.003603			

El día uno es considerado como plantas recién irradiadas con UV-C.

Los resultados muestran el promedio ± error estándar, n=5 por triplicado.

Las diferentes letras indican diferencias significativas entre días de exposición y los asteriscos diferencias significativas entre tratamientos con una p<0.05.

Tabla 16. Reporte estadístico del contenido antioxidante enzimático en tallos de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-C suplementaria.

Tratamiento	SOD (U mg ⁻¹ Proteína)					POX (U mg ⁻¹ Proteína)					
	Día	0	1	4	7	10	0	1	4	7	10
Control	2.681	0.0447	0.0447	0.0447	0.0701	0.0416	0.093	2.681	3.627	2.765	3.976
	±0.225	±0.003	±0.003	±0.003	±0.0033	±0.0005	±0.0031	±0.225	±0.175	±0.240	±0.224
	a**	a**	c**	b**	b**	b**	b**	d**	c**	c**	ab**
5 min UV-C	2.681	0.0447	0.0709	0.0801	0.0801	0.1003	0.3349	3.725	5.646	3.873	3.359
	±0.225	±0.003	±0.0044	±0.0023	±0.0023	±0.0152	±0.0231	±0.119	±0.202	±0.224	±0.159
	a**	a*	a*	ab*	ab*	a*	a*	c**	a**, a ₁	b ₁ **	bc**
10 min UV-C	2.681	0.0447	0.0892	0.0895	0.0895	0.0586	0.0477	4.527	5.724	5.245	2.965
	±0.225	±0.003	±0.0053	±0.0039	±0.0039	±0.0021	±0.0012	±0.101	±0.157	±0.204	±0.163
	a*	a**	a**	a**	a**	b**	c**	b*	a*	a*	c*
20 min UV-C	2.681	0.0447	0.0662	0.0582	0.0582	0.0627	0.0741	5.498	4.484	3.920	4.529
	±0.225	±0.003	±0.0012	±0.0086	±0.0086	±0.0008	±0.0058	±0.184	±0.201	±0.098	±0.184
	a*	a**	b**	bc**	bc**	b**	bc**	a*	b*	b*	a*
P (día)	---	---	0.000022	0.001654	0.000000	0.000013	0.000111	0.000180	0.001529		
P (tratamiento)			0.001045						0.002698		

El día uno es considerado como plantas recién irradiadas con UV-C.

Los resultados muestran el promedio ± error estándar, n=5 por triplicado.

Las diferentes letras indican diferencias significativas entre días de exposición y los asteriscos diferencias significativas entre tratamientos con una p<0.05.

Tabla 17. Reporte estadístico de los pigmentos fotosintéticos en hojas de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-C suplementaria.

Tratamiento	Clorofila a ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco)							Clorofila b ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco)							Carotenoides ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco)							
	Día	0	1	4	7	10	0	1	4	7	10	0	1	4	7	10	0	1	4	7	10	
Control	277.090	277.090	323.420	347.760	331.420	276.160	276.160	276.160	332.650	318.540	327.280	36.595	36.595	44.598	51.162	47.037						
	± 7.444	± 7.444	± 17.678	± 7.618	± 8.217	± 6.545	± 6.545	± 6.545	± 20.602	± 2.970	± 10.857	± 3.024	± 3.024	± 8.686	± 3.061	± 4.439						
5 min UV-C	277.090	248.140	325.300	212.470	290.310	276.160	255.280	340.970	233.520	297.150	36.595	33.712	57.799	19.878	36.195							
	± 7.444	± 4.828	± 30.147	± 0.890	± 1.823	± 6.545	± 3.399	± 42.998	± 5.412	± 5.700	± 3.024	± 2.083	± 17.055	± 1.882	± 2.514							
10 min UV-C	277.090	239.740	318.150	254.900	366.630	276.160	252.840	314.320	314.620	357.910	36.595	30.649	45.018	22.696	48.625							
	± 7.444	± 6.703	± 17.832	± 3.968	± 15.285	± 6.545	± 5.988	± 20.164	± 29.103	$\pm 21.411a$	± 3.024	± 3.641	± 9.485	± 8.548	8.356							
20 min UV-C	277.090	253.070	269.110	228.110	103.710	276.160	264.230	277.970	262.420	102.840	36.595	33.088	35.911	24.171	13.225							
	± 7.444	± 12.618	± 7.914	± 12.579	± 2.614	± 6.545	± 12.010	± 11.650	$\pm 15.487a$	± 2.245	± 3.024	± 7.154	± 3.118	± 6.508	± 1.402							
P (día)	---	0.064158	0.227110	0.000007	0.000000	---	0.207748	0.399455	0.018448	0.000002	---	0.820084	0.579209	0.014715	0.003371							
P (tratamiento)			0.000123				0.001145															

El día uno es considerado como plantas recién irradiadas con UV-C.

Los resultados muestran el promedio \pm error estándar, n=5 por triplicado.

Las diferentes letras indican diferencias significativas entre días de exposición y los asteriscos diferencias significativas entre tratamientos con una $p < 0.05$.

Tabla 18. Reporte estadístico de los pigmentos fotosintéticos en tallos de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-C suplementaria.

Tratamiento	Clorofila a ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco)										Clorofila b ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco)										Carotenoides ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco)																											
	Día	0	1	4	7	10	0	1	4	7	10	0	1	4	7	10	0	1	4	7	10	0	1	4	7	10																						
Control	73.947	73.947	92.952	73.144	82.346	87.936	87.936	87.936	122.061	85.235	93.568	9.344	9.344	2.758	10.802	14.567	±0.802	±0.802	±12.137	±0.423	±1.021	±1.216	±1.216	±1.216	±19.621	±0.395	±1.935	±0.434	±0.434	±0.772	±0.714	±0.732	a**	b**	a**	c**	c**	a	a	a**	a**	ab**	c**	b**	a**			
	73.947	68.612	64.834	80.354	87.603	87.936	87.936	86.609	86.825	91.606	97.468	9.344	7.421	5.020	12.210	15.205	±0.802	±2.022	±2.154	±1.069	±0.415	±1.216	±3.061	±3.193	±1.024	±0.950	±0.434	±1.065	±1.420	±0.559	±0.358	a**	b**	a**	bc**	b**	a	a	a**	a**	b**	c**	b**	a**				
5 min UV-C	73.947	75.777	74.998	91.641	75.101	87.936	95.095	89.988	103.707	86.343	86.343	9.344	10.117	9.610	13.026	10.386	±0.802	±1.831	±0.784	±4.357	±0.862	±1.216	±3.209	±1.274	±6.437	±0.521	±0.434	±1.431	±0.354	±2.687	±0.284	a**	b**	a**	b**	d**	a	ab	a	a	a	b	a**	ab**	b**	b**	b**	b**
	73.947	86.793	81.470	119.446	93.354	87.936	103.512	91.671	119.060	98.459	98.459	9.344	14.828	14.384	21.443	15.777	±0.802	±2.188	±1.138	±2.647	±0.662	±1.216	±3.840	±0.579	±3.821	±0.505	±0.434	±2.102	±0.361	±1.456	±0.283	a*	a*	a*	a*	a*	a	a	a	a	a	a	a*	a*	a*	a*	a*	a*
P (día)	---	0.000630	0.065021	0.000008	0.000001	---	0.014051	0.115311	0.001073	0.000259	---	0.029383	0.000049	0.005907	0.000118																																	
P (tratamiento)	0.000913										0.124083										0.000096																											

El día uno es considerado como plantas recién irradiadas con UV-C.

Los resultados muestran el promedio \pm error estándar, n=5 por triplicado.

Las diferentes letras indican diferencias significativas entre días de exposición y los asteriscos diferencias significativas entre tratamientos con una $p < 0.05$.

Tabla 19. Reporte estadístico del contenido antioxidante no enzimático en hojas de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-C suplementaria.

Tratamiento	Vitamina C (mg ácido ascórbico g ⁻¹ peso fresco)					Vitamina E (mg α -tocoferol g ⁻¹ peso fresco)					
	Día	0	1	4	7	10	0	1	4	7	10
Control	1.114 ±0.03	1.114 ±0.03	1.114 ±0.02	0.763 ±0.02	0.758 ±0.03	0.639 ±0.03	0.826 ±0.09	0.826 ±0.09	0.078 ±0.02	0.826 ±0.21	0.039 ±0.01
	a	a	b	a	b	a	a**	a**	a**	a**	c**
5 min UV-C	1.114 ±0.04	1.274 ±0.21	0.786 ±0.01	0.699 ±0.02	0.776 ±0.03	0.826 ±0.09	0.893 ±0.36	0.826 ±0.36	0.923 ±0.43	1.014 ±0.15	0.159 ±0.02
	a	a	b	a	a	a**	a**, a*	a**	a**, a*	a**	c***
10 min UV-C	1.114 ±0.03	1.205 ±0.01	0.774 ±0.01	0.688 ±0.05	0.657 ±0.01	0.826 ±0.09	0.251 ±0.01	0.867 ±0.34	1.198 ±0.09	0.867 ±0.34	1.161 ±0.16
	a	a	b	a	b	a**, a*	b**, a*	a**, a*	a**, a*	a**, a*	a**, a*
20 min UV-C	1.114 ±0.03	0.920 ±0.03	0.992 ±0.02	0.668 ±0.05	0.722 ±0.01	0.826 ±0.09	1.158 ±0.04	1.158 ±0.04	1.188 ±0.43	0.930 ±0.09	0.666 ±0.25
	a	a	a	a	ab	a*	a*	a*	a*	a*	b*
P (día)	---	0.214853	0.000293	0.357433	0.005582	---	0.044473	0.099099	0.933109	0.001872	
P (tratamiento)			0.911141					0.048733			

El día uno es considerado como plantas recién irradiadas con UV-C.

Los resultados muestran el promedio ± error estándar, n=5 por triplicado.

Las diferentes letras indican diferencias significativas entre días de exposición y los asteriscos diferencias significativas entre tratamientos con una p<0.05.

Tabla 20. Reporte estadístico del contenido de compuestos fenólicos e indicadores del estado de estrés oxidativo en hojas de damiana (*Turnera diffusa*, Willd) bajo tratamientos con radiación UV-C suplementaria.

Tratamiento	Compuestos fenólicos										Capacidad Antioxidante										TBARS										Carbonilos proteicos									
	(mg ácido gálico g ⁻¹ peso fresco)										(mM ácido gálico g ⁻¹ peso fresco)										(nM TBARS g ⁻¹ de proteína)										(µM de proteína g ⁻¹ peso fresco)									
Día	0	1	4	7	10	0	1	4	7	10	0	1	4	7	10	0	1	4	7	10	0	1	4	7	10	0	1	4	7	10										
Control	12.040	12.040	12.452	9.194	10.850	330.43	330.43	366.82	448.38	440.63	213.13	213.13	213.13	155.02	181.95	169.56	494.40	494.40	494.40	281.96	170.00	194.57	±0.131	±0.363	±0.401	±1.267	±5.366	±7.043	±5.500	±10.89	±10.89	±10.12	±8.580	±31.05	±31.05	±2.545	±16.61	±26.24		
	a**	b**	b**	c**	b**	a*	a*	ab*	a*	b*	a	a	ab	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	c
5 min UV-C	12.040	29.592	13.167	30.286	37.696	330.43	265.39	332.57	295.80	349.70	213.13	213.13	245.77	74.747	198.33	174.90	494.40	241.33	315.57	236.31	337.99	±0.131	±1.080	±0.386	±2.232	±4.502	±2.602	±11.43	±10.52	±12.91c	±10.89	±3.716	±5.272	±10.65	±13.29	±31.05	±17.88	±20.09	±13.98	±16.84
	a*	a*	b*	b*	a*	a**	b**	b**	c**	**	a	a	a	c	a	a	a	a	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	a	ab
10 min UV-C	12.040	14.817	10.833	33.111	41.073	330.43	227.81	352.20	393.01	432.09	213.13	145.36	218.08	165.56	172.42	494.40	206.19	374.63	275.17	271.03	±0.131	±1.469	±1.353	±1.123	±1.755	±5.366	±1.761	±6.451	±9.786	±5.271	±10.89	±8.615	±11.53	±7.934	±8.112	±31.05	±31.06	±10.53	±8.013	±9.473
	a*	b*	b*	b*	a*	a***	a**	c**	ab***	b***	a	c	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	ab	a	bc
20 min UV-C	12.040	12.699	36.013	41.239	17.041	330.43	345.12	384.42	383.54	501.72	213.13	194.20	206.33	183.09	173.82	494.40	266.92	425.58	222.30	355.66	±0.131	±1.378	±1.965	±0.416	±1.014	±5.366	±5.846	±9.667	±13.25	±21.14	±10.89	±8.718	±3.305	±1.831	±3.902	±31.05	±26.38	±40.77	±5.840	±10.11
	a*	b*	a*	a*	b*	a*	a*	a*	b*	a*	a	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	a	a	a
P (día)	---	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	---	0.0000	0.0140	0.0000	0.0000	---	0.0002	0.0000	0.1295	0.9772	---	0.0002	0.0107	0.00179	0.0005	---	0.0002	0.0107	0.00179	0.0005	---	0.0002	0.0107	0.00179	0.0005	---	0.0002	0.0107	0.00179	0.0005	---	0.0002	0.0107	0.00179	0.0005
ρ (tratamiento)	---	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	---	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	---	0.0002	0.0000	0.1295	0.9772	---	0.0002	0.0107	0.00179	0.0005	---	0.0002	0.0107	0.00179	0.0005	---	0.0002	0.0107	0.00179	0.0005	---	0.0002	0.0107	0.00179	0.0005	---	0.0002	0.0107	0.00179	0.0005

El día uno es considerado como plantas recién irradiadas con UV-C.

Los resultados muestran el promedio ± error estándar, n=5 por triplicado.

Las diferentes letras indican diferencias significativas entre días de exposición y los asteriscos diferencias significativas entre tratamientos con una p<0.05.

