

Efecto citotóxico y genotóxico del extracto acuoso de hojas de *Physalis peruviana* L. (Aguaymanto) sobre células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla).

Cytotoxic and genotoxic effect of aqueous extract of leaves of *Physalis peruviana* L. (Golden berry) on *Allium cepa* meristematic cells (onion).

Cinthya Santa Cruz-López^{1*}; José Cabrejo Paredes².

¹ Facultad de Obstetricia, Universidad particular de Chiclayo, Km. 3.5 Carretera Pimentel- Ciudad Universitaria, Pimentel, Perú.

² Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II S/N – Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú.

* Autor correspondiente: Cinthya_1990_9@hotmail.com (C. Santa Cruz)

RESUMEN

Se determinó el efecto citotóxico y genotóxico del extracto acuoso de las hojas de *Physalis peruviana* L. (aguaymanto) a concentraciones de 10, 20 y 30mg/ml sobre células meristemáticas *Allium cepa* (cebolla). Se utilizaron doce bulbos de cebolla, sometidos a diferentes concentraciones del extracto y un grupo control (tres repeticiones de cada uno), luego se realizó la coloración, el montaje y lectura microscópica a 400 y 1000x. Para el análisis estadístico se utilizó el programa Microsoft office Excel® 2013 y se emplearon promedios y desviación estándar (DS) para un enfoque cuantitativo. El índice mitótico fue 10,14 % en células meristemáticas expuestas al tratamiento con 30mg/ml del extracto de hojas de aguaymanto, mientras que los índices profásico, metafásico, anafásico y telofásico fueron 93,51%, 1,62%, 2,50% y 2,37% respectivamente. Se concluye que el extracto acuoso de hojas de *Physalis peruviana* L. (aguaymanto) a concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ml posee efecto citotóxico y genotóxico sobre células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla), disminuyendo el índice mitótico y de fases en los tratamientos, respecto al control empleado y, observándose aberraciones como células binucleadas y puentes cromosómicos. Además de inhibir el crecimiento radicular de *Allium cepa* (cebolla) y ocasionar cambios en su estructura.

Palabras clave: Citotoxicidad; Genotoxicidad; Allium test, *Physalis peruviana*.

ABSTRACT

The cytotoxic and genotoxic effect of the aqueous extract of the leaves of *Physalis peruviana* L. (golden berry) at concentrations of 10, 20 and 30mg / ml on meristematic cells *Allium cepa* (onion) was determined. Twelve onion bulbs were used, subjected to different concentrations of the extract and a control group (three repetitions of each), then coloration, assembly and microscopic reading at 400 and 1000x. For the statistical analysis, the Microsoft Office Excel® 2013 program was used and averages and standard deviation (SD) were used for a quantitative approach. The mitotic index was 10.14% in meristematic cells exposed to treatment with 30mg / ml of the golden berry leaf extract, while the profasic, metaphase, anaphase and telophasic indexes were 93.51%, 1.62%, 2.50 % and 2.37% respectively. It is concluded that the aqueous extract of leaves of *Physalis peruviana* L. (golden berry) at concentrations of 10, 20 and 30 mg / ml has a cytotoxic and genotoxic effect on *Allium cepa* (onion) meristematic cells, decreasing the mitotic index and treatments, with respect to the control used and, observing aberrations as binucleated cells and chromosomal bridges. Besides inhibiting the root growth of *Allium cepa* (onion) and causing changes in its structure.

Keywords: Cytotoxicity; Genotoxicity; Allium test; *Physalis peruviana*.

1. INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional peruana es y ha sido muy utilizada desde la época incaica, ya que posee una gran diversidad de plantas nativas con propiedades para tratar múltiples enfermedades. Entre ellas tenemos, *Physalis peruviana* L. (aguaymanto), un fruto oriundo de los andes del Perú que pertenece a la familia Solanaceae y cuenta con cerca de 120 especies que se distribuyen a través de las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Contiene una buena fuente de provitamina A, vitamina C, complejo B y minerales. Además del

15% de sólidos solubles (principalmente azúcares) y un alto nivel de fructosa, lo que hace que sea muy útil para personas con diabetes (Ramadan *et al.*, 2003).

El aguaymanto es usado empíricamente para tratar el cáncer y otras enfermedades, como hepatitis, asma, malaria, dermatitis, diabetes, hipercolesterolemia y reumatismo (Zavala *et al.*, 2006; Reyes-Beltrán *et al.*, 2015), por sus propiedades antibacterianas, antimicóticas, antipiréticas, antihepatotóxicas y quimioterapéuticas (Jurado *et al.*, 2016; Lock y Rojas, 2005).

Sin embargo, pese a todos los beneficios que posee el aguaymanto, es necesario realizar investigaciones que conduzcan a asegurar el uso correcto esta planta medicinal con el menor riesgo posible. Debido a que, se ha detectado extractos de plantas medicinales que poseen actividad embriotóxica y/o teratogénica. Además de reportar actividad mutagénica y carcinogénica por la presencia de flavonoides y aninos, encontrándose que existe una correlación positiva entre la ocurrencia de enfermedades y tumores en la población (Asare *et al.*, 2012; Carballo *et al.*, 2005). De ahí el peligro potencial que encierra el consumo indiscriminado de fármacos de origen vegetal, ya que son escasos los datos que se poseen sobre la acción mutagénica de las plantas medicinales consumidas por la población (Remigio *et al.*, 2001).

Al respecto, los ensayos de citotoxicidad y genotoxicidad, constituyen un paso importante en la evaluación toxicológica de los compuestos de origen vegetal que tienen propiedades terapéuticas. Siendo el bioensayo con plantas superiores como *Allium cepa*, un bioindicador de genotoxicidad y efectos mutagénicos ideal por ser económico, fácil de implementar, y ofrecer resultados confiables, teniendo alta concordancia con otros test realizados en sistemas de mamíferos, como linfocitos humanos, líneas celulares y otros a nivel de organismos tales como peces, crustáceos y algas. Es así que, existen múltiples investigaciones como las realizadas por Muñoz-Solarte y Guerrero – Pepinosa (2013); Cumpa-Yupton y Zavala (2013); De Freitas *et al.* (2014) y Aybar y Zavala (2016), para evaluar la citotoxicidad y genotoxicidad de diferentes extractos de origen natural mediante el *Allium test*. Lo que es posible, gracias a que las características cromosomales de la cebolla favorecen la evaluación de las aberraciones cromosómicas y, resulta útil para la interpretación de los posibles mecanismos implicados en la genotoxicidad (Rank *et al.*, 2002; Causil *et al.*, 2017).

Por lo expuesto con anterioridad, la presente investigación determinó el efecto citotóxico y genotóxico del extracto acuoso de las hojas de *Physalis peruviana* L. (aguaymanto) a las concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ml sobre células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla), con la finalidad de contribuir al mejor estudio de la especie vegetal. Lo que evidenció, el daño provocado en las células vegetales expuestas al tratamiento y de esta manera informar sobre la importancia de conocer los efectos colaterales que puede ocasionar el consumo indiscriminado de esta planta en estudio.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación es de tipo experimental y se utilizó el diseño de estímulo creciente a diferentes concentraciones y un grupo control, según lo indica Stracuzzi y Pestana, 2006.

Preparación del extracto acuoso de *Physalis peruviana* L. (Aguaymanto).

De acuerdo a lo establecido por Saldaña *et al.*, (2012), se recolectó 3g de hojas de *Physalis peruviana* L. (previamente identificada en el herbario truxillense (HUT) de la Universidad Nacional De Trujillo, con código de depósito 59592), se procedió al lavado y desinfección, posteriormente se colocaron en un vaso de precipitación conteniendo 100 mL de agua destilada estéril. En seguida se realizó un tratamiento térmico a 80°C durante 15 minutos para obtener el extracto a una concentración de 30mg/ml. Posteriormente se procedió a filtrar el extracto acuoso con papel filtro Whatman N°1. Similar metodología se utilizó en la obtención del extracto a las concentraciones de 10 y 20 mg/ml.

Obtención de las raicillas de *Allium cepa* (cebolla)

Siguiendo las condiciones de Muñoz - Solarte y Guerrero –Pepinosa (2013), se seleccionaron 12 bulbos de cebolla con un peso de 60 a 80 g cada uno, a los cuales se les retiró las catáfilas y raicillas secas. Además se colocaron 4 mondadientes equidistantemente para sostener el bulbo en la boca de un vaso de vidrio, lo que permitió que el líquido se pusiera en contacto con el disco germinativo para la emisión de nuevas raicillas. El vaso utilizado se llenó con 80 mL de agua de caño aproximadamente y se renovó cada 24 horas durante 3 días (72 horas), sin tener contacto directo con la luz solar.

Transcurridas las 72 horas de pre tratamiento se expusieron las raicillas de cebolla a las concentraciones de 10, 20 y 30mg/ml durante 24 horas y se procedió a realizar el preparado citológico para evaluar el efecto ci-

totóxico y genotóxico en las células meristemáticas. Al término del período de exposición se registró la longitud promedio de las raíces, medición que se llevó a cabo con ayuda de una regla común con escala en milímetros. El efecto de inhibición se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = (\text{longitud del control} - \text{longitud de la muestra}) \times 100 / \text{longitud del control} \quad (1)$$

Obtención de preparados citológicos.

Finalizado los tratamientos, se cortaron raicillas de 2 cm aproximadamente, se lavaron con agua destilada y se colocaron en una luna reloj. Luego, se agregaron 9 gotas de orceína acética al 2% y enseguida se adicionó una gota de ácido clorhídrico al 10%. Posteriormente se expusieron las raicillas a fuego hasta la emisión de vapores o humo blanco (este proceso se repitió tres veces con intervalos durante 15 minutos), evitando la ebullición del colorante y se dejó reposar el preparado por 10 minutos, de acuerdo a la técnica de Fiskesjö (1988).

Análisis citológico para determinar la citotoxicidad y genotoxicidad

Cada ápice coloreado fue colocado sobre una lámina portaobjetos, se agregó una gota de gelatina glicerinada, luego se colocó con una lámina cubre objetos, se realizó el “squash” (aplastamiento) del tejido y, se selló los bordes del cubre objetos con barniz de uñas transparente para evitar la deshidratación celular, según la técnica de Fiskesjö (1988). Los preparados citológicos se observaron con un microscopio óptico a 400x y 1000x.

De acuerdo a lo descrito por Muñoz- Solarte y Guerrero –Pepinosa (2013), para la evaluación de la citotoxicidad se estimaron los valores del índice mitótico y de las fases. Mientras que para la determinación de la genotoxicidad consideró la presencia de puentes cromosómicos y células binucleadas.

Para calcular el índice mitótico y de fases se emplearon las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ Índice Mitótico} = \frac{\text{No cel mitosis (P+M+A+T)} \times 100}{\text{No Total cel.}} \quad (2)$$

$$\% \text{ Índice de fase} = \frac{\text{No cel en una fase mitótica} \times 100}{\text{No Total cel. Mitosis}} \quad (3)$$

Por último, para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa Microsoft Office Excel® 2013. Además se emplearon promedios y desviación estándar (DS) para los datos cuantitativos con el fin de determinar el efecto del extracto acuoso de hojas de *Physalis peruviana* L.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las células meristemáticas de los ápices radiculares de *Allium cepa* (cebolla) constituyen un modelo ideal para estudiar los fenómenos celulares, ya que se encuentran en equilibrio proliferativo. Es así, que el número de células que se hallan en una fase mitótica determinada son constantes y proporcionales a la duración de la misma. Sin embargo, en presencia de sustancias antimitóticas, citotóxicas o genotóxicas, se altera su normal desarrollo, produciéndose daño incluso a nivel cromosómico. Lo que de acuerdo a Cumpa-Yuption y Zavala (2013), ocasiona que la división celular que ocurre en los meristemos radiculares de la cebolla pueda inhibirse, retardarse u ocasionar apoptosis.

Las Fases del ciclo celular mitótico, están controladas por complejos Ciclinas - Kinasas dependientes de ciclinas (CdK1-Ciclina B), debido a que estas, regulan el proceso de transcripción y síntesis de proteínas específicas, que determinan el inicio del ciclo celular y el consecuente paso a fase G2, en la que ocurren eventos asociados a la condensación de los cromosomas, formación de fibras del huso acromático y preparación para la desintegración de la envoltura nuclear. Todo ello, como eventos previos al proceso de mitosis, lo que asegura la repartición del material cromosómico en las células hijas, mediante el flujo a través de fases (Alberts, 2002; Lodish *et al.*, 2012). No obstante, según Alberts (2002) y Lodish *et al.* (2012) existen sustancias que

intervienen en la formación del complejo CdK1-Ciclina B, lo que traería como consecuencia que las células no transiten normalmente de la fase G2 hacia la mitosis, disminuyendo el número de células que se dividen.

En la presente investigación, se determinó el efecto citotóxico y genotóxico del extracto acuoso de las hojas de *Physalis peruviana* L. (aguaymanto) a las concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ml sobre células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla), para lo cual se contabilizaron un total de 6 645 células de las raíces de 12 bulbos de cebolla, donde se encontró una marcada disminución del índice mitótico de las células radiculares expuestas a los diferentes tratamientos, en comparación con el índice calculado en células del grupo control (Figura 1). Siendo el índice mitótico obtenido de 10,14 % para las células meristemáticas que se enfrentaron al tratamiento con el extracto acuoso de aguaymanto a la concentración de 30 mg/ml, mientras que para el grupo control el índice mitótico fue de 43,91%, lo que evidenciaría el efecto del extracto acuoso de las hojas del aguaymanto sobre las células meristemáticas de raíces de las cebollas. Cabe resaltar, que la presencia de compuestos como los flavonoides, withanólidos, fisalinas en las hojas de aguaymanto (Lock y Rojas, 2005), podrían ser los responsables de afectar la formación del complejo CdK1-Ciclina B, disminuyendo las células en división y detonando el efecto citotóxico y genotóxico de la planta. Resultados similares, fueron los obtenidos por Aybar y Zavala (2016); Saldaña *et al.* (2012) y Freyre *et al.* (2009), quienes trabajaron con los extractos acuosos de *Syzygium aromaticum* (Clavo de olor) y *Caesalpinia spinosa* (Tara), *Maytenus laevis* (Palmo Rosado), evidenciando también la disminución del índice mitótico.

Tabla 1. Promedios de los porcentajes de índice mitótico, índice de fases y desviación estándar en células meristemáticas de *Allium cepa* sometidas a concentraciones de 10, 20 y 30mg/ml del extracto acuoso de hojas de *Physalis peruviana* L. (aguaymanto).

	Control	DS	T1	DS1	T2	DS2	T3	DS3
Índice Mitótico	43,91	2,0046	33,93	2,9502	15,62	0,7007	10,14	0,6279
Índice Profásico	80,32	1,2191	81,59	1,1677	85,89	3,4721	93,51	0,5237
Índice Metafásico	7,52	0,5493	7,85	0,0889	4,33	0,0701	1,62	0,1309
Índice Anafásico	4,91	0,8431	4,54	0,2258	3,79	0,6021	2,50	1,0081
Índice Telofásico	7,25	0,6768	6,03	0,8529	5,99	2,7999	2,37	0,6153

Al evaluar el Índice profásico (IP) de las raicillas de *Allium cepa* expuestas al extracto, se observó un aumento sostenido entre las diferentes concentraciones evaluadas, respecto al obtenido con el control. Siendo 93,51% para las raíces de cebolla expuestas a la concentración de 30 mg/ml del extracto (tratamiento que tuvo una duración de 24 horas), respecto al 80,32% calculado con el grupo control (Tabla 1). Lo cual según Alberts (2002) y Lodish *et al.* (2012) denotaría que, el extracto acuoso de hojas de *Physalis peruviana* L. afecta la formación del complejo Cdk1-Ciclina B. Teniendo como consecuencia, que los procesos de condensación del ADN y formación del huso acromático sean afectados. Por lo que, las células no transitarían normalmente desde profase hacia metafase.

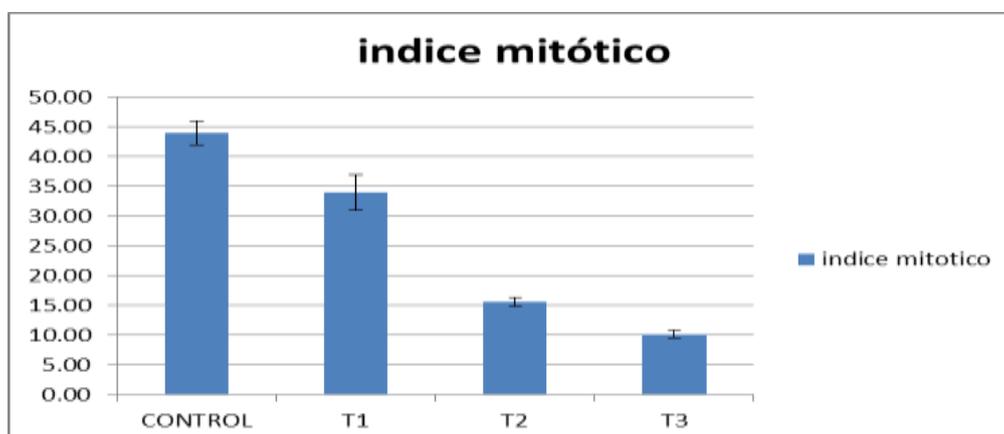


Figura 1. Índice mitótico con desviación estándar de las células meristemáticas de *Allium cepa* sometidas a concentraciones de 10, 20 y 30 mg/ml del extracto acuoso de hojas de *Physalis peruviana* L. (aguaymanto).

El índice metafásico (IMet), sufrió una disminución considerable entre las diferentes concentraciones evaluadas, respecto al obtenido con el control. Alcanzando un 1,62%, para las raíces de cebolla expuestas al extracto acuoso de aguaymanto con una concentración 30 mg/ml, mientras que fue de 7,52% para el grupo control (Tabla 1). Lo que estaría relacionado, con la inhibición del factor promotor de la mitosis, provocando la disminución del ensamblaje del huso mitótico e inhibiendo la polimerización de microtúbulos que se elaboran perpendicularmente al eje mayor del cromosoma y que se anclan por una de sus extremidades en el cinetócoro (Alberts, 2002; Lodish *et al.*, 2012). Resultado similar obtuvo Saldaña *et al.* (2012), encontrando un 12,19% de índice metafásico, al someter las células meristemáticas de la cebolla al extracto acuoso de *Syzygium aromaticum* (Clavo de olor).

Los índices anafásicos (IA) y telofásicos (IT) (Tabla 1) de los tratamiento expuestos al extracto acuoso de hojas de aguaymanto fueron menores a los calculados con los controles del estudio. Lo que se debería a que el ciclo celular es detenido a nivel de la profase, generando perdida de las demás fase del ciclo celular, ya que este no se llega a completar. Similares resultados obtuvieron Saldaña *et al.* (2012), con el extracto acuoso de *Syzygium aromaticum* (clavo de olor).

Por otro lado, para Hemachandra y Pathiratne (2015) las aberraciones cromosómicas que se caracterizan por cambios, bien sea en la estructura o en el número total de cromosomas, pueden ocurrir espontáneamente o como resultado de la exposición a agentes físicos o químicos. En el presente estudio, las aberraciones cromosómicas, como células binucleadas y puentes cromosómicos, se encontraron en todos los tratamientos evaluados y estuvieron relacionadas con el aumento de la concentración del extracto evaluado, teniendo mayor implicancia y frecuencia en la concentración de 30 mg/ml, ya que los puentes cromosómicos solo se observaron a esta concentración. Las anomalías encontradas coinciden con las reportadas por Causil *et al.* (2017) y Hemachandra y Pathiratne (2015), quienes sometieron los bulbos de cebolla a diferentes sustancias químicas con potencial citotóxico y genotóxico.

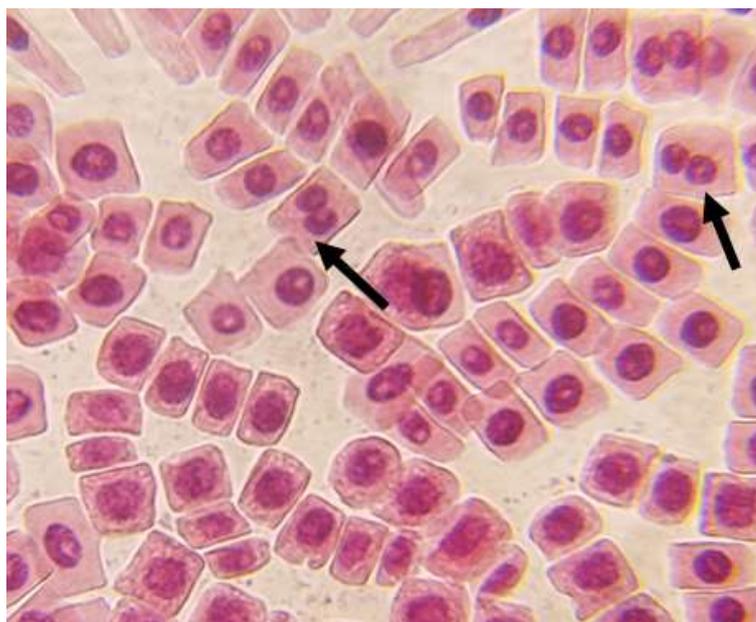


Figura 2. Células binucleadas observadas en raíces de *Allium cepa* (cebolla) sometidas a la concentración de 10 mg/ml del extracto acuoso de hojas de *Physalis peruviana* L. (aguaymanto).

De manera que, la presencia de las células binucleadas (Figura 2 y Figura 3), pueden surgir como el resultado de un proceso incompleto de división celular. Además, Haq *et al.* (2017), reportan que pueden aparecer debido a que se suprime de la formación de placas celulares durante la telofase temprana y, los cromosomas que no se incorporan al núcleo principal durante el ciclo de división forman estas alteraciones. Así también, los puentes cromosómicos (Figura 3), son otras de las anomalías encontradas en esta investigación, los cuales según Lloncop y Vargas (2016), se producen por la ruptura de los brazos cromosómicos en el momento

de división celular (Telofase). Durante la mitosis, los dos centrómeros se mueven hacia los polos opuestos y pueden quedar estables formando “puentes” debido a la resistencia física que estos ofrecen.

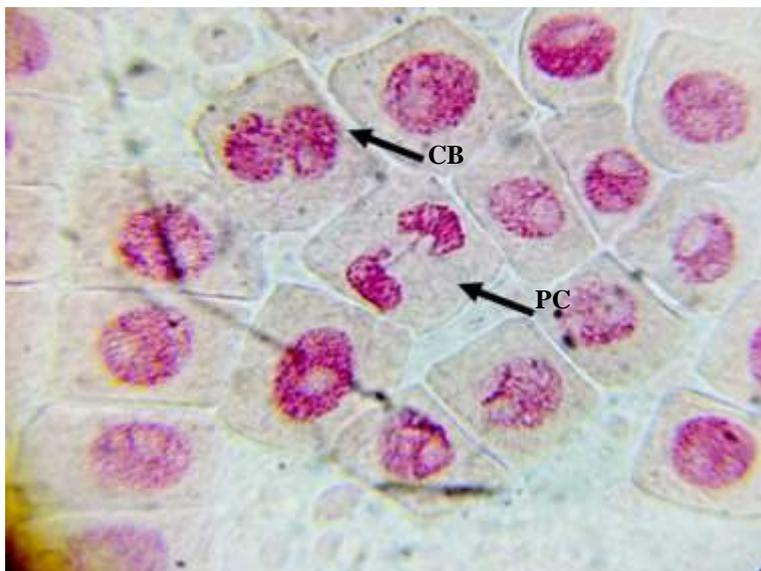


Figura 3. Puente cromosómico y Células binucleadas observadas en células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla) sometidas a la concentración de 30 mg/ml del extracto acuoso de hojas de *Physalis peruviana* L. (aguaymanto).

Tabla 2. Crecimiento radicular y porcentaje de inhibición de *Allium cepa* (cebolla) sometida al extracto acuoso de hojas de *Physalis peruviana* L. (aguaymanto).

Concentración	Longitud de raíz (cm)	porcentaje de inhibición (%)
Control	4,10	0,00
Tratamiento 1(10 mg/ml)	2,83	30,98
Tratamiento 2 (20 mg/ml)	2,56	37,56
Tratamiento 3 (30 mg/ml)	2,36	42,44

Por último, en la Tabla 2 se observa el efecto de las diferentes concentraciones de aguaymanto sobre el crecimiento radicular de la cebolla. Encontrándose que, el crecimiento de la raíz fue menor en los bulbos de cebolla expuestos a la concentración de 30 mg/ml del extracto acuoso de hojas de aguaymanto, siendo el porcentaje de inhibición de crecimiento calculado de 42,44%. Cabe señalar que, las concentraciones de 20 y 30 mg/ml ocasionaron cambios en la estructura de las raíces (como tumores en las puntas, pérdida de la rigidez y consistencia). Además, los datos resultan importantes, porque se evaluaron las raíces que crecen en contacto directo con la sustancia de interés, lo que de acuerdo a Hemachandra y Pathiratne (2015) y Nefic *et al.* (2013), permite inferir una correlación con la exposición a dichas sustancias en los seres humanos, puesto que los cromosomas de plantas y los animales son morfológicamente similares, y parecen responder al tratamiento con agentes mutagénico de forma similar a la de los mamíferos y otros eucariotas.

4. CONCLUSIONES

El extracto acuoso de hojas de *Physalis peruviana* L. (aguaymanto) a las concentraciones de 10, 20, y 30 mg/ml posee efecto citotóxico sobre las células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla), ya que disminuye el índice mitótico e índice de fases en los tratamientos, respecto al control evaluado.

El extracto acuoso de hojas *Physalis peruviana* L. (aguaymanto) a las concentraciones de 10, 20, y 30 mg/ml tiene efecto genotóxico sobre las células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla), observándose alteraciones en la división celular como células binucleadas y puentes cromosómicos.

El extracto acuoso de hojas *Physalis peruviana* L. (aguaymanto) a las concentraciones de 10, 20, y 30 mg/ml inhibió el crecimiento radicular de *Allium cepa* (cebolla) y ocasionó cambios en la estructura de sus raíces.

AGRADECIMIENTOS

Al MSc. Ronald Arturo Cruz Silva por su contribución en la realización del trabajo de investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. 2002. Molecular biology of the cell. 2^o ed. Garland Science. New York: EE.UU. 1616 pp.
- Asare, G.A.; Bugyei, K.; Sittie, A.; Yahaya, E.S.; Gyan, B.; Adjei, S.; Addo, P.; Wiredu, E.K.; Adjei, D.N.; Nyarko, A.K. 2012. Genotoxicity, cytotoxicity and toxicological evaluation of whole plant extracts of the medicinal plant *Phyllanthus niruri* (Phyllanthaceae). Genetic Molecular Research 11(1):100-111.
- Aybar, J.A.; Zavala, F. 2016. Efecto Citotóxico del extracto acuoso del pericarpio de *Caesalpinia spinosa* "tara" en células meristemáticas de *Allium cepa* L. var. Arequipeña. Ciencia y Tecnología 12 (2): 185-193
- Carballo, M.; Cortada, C.; Galano, A. 2005. Riesgos y beneficios en el consumo de plantas medicinales. Revista teoría, historia y fundamentos de la Ciencia 14 (2): 95-108.
- Causil, L.; Coronado, J.; Verbel, L.; Veja, J.M.; Donado, E.K.; Pacheco, G.C. 2017. Efecto citotóxico del hipoclorito de sodio (NaClO), en células ápicales de raíces de cebolla (*Allium cepa*). Revista Colombiana De Ciencias Hortícolas 11(1): 97-104.
- Cumpa-Yupton, C.; Zavala, F. 2013. Determinación del índice mitótico de meristemas radiculares de *Allium cepa* expuestas al extracto etanólico de hojas de *Erythroxylum coca* "coca" a diferentes concentraciones y tiempos de exposición. Sagasteguiana 1(1): 29-38.
- De Freitas, J.V.; Batitucci, M.; Andrade, M.A.; Souza, F.; Luz, A.C.; Pereira, U. 2014. Tamizaje fitoquímico y evaluación de la citotoxicidad y genotoxicidad del *Helenium cf. amarum* (Raf.). Revista Cubana de Plantas Medicinales 19(1):338-348.
- Freyre, S.; Estrada, M.; Bolaños, H. 2009. Estudio preliminar de la citotoxicidad y la genotoxicidad de un extracto de origen vegetal conocido como palmo rosado en células meristemáticas de *Allium cepa*. Memorias 5(12): 12-17.
- Fiskesjö, G. 1988. The *Allium* test. An alternative in environmental studies: The relative toxicity of metal ions. Mutation Research 197(2): 243-260.
- Haq, I.; Kumar, S.; Raj, A.; Lohani, M.; Satyanarayana, G. 2017. Genotoxicity assessment of pulp and paper mill effluent before and after bacterial degradation using *Allium cepa* test. Chemosphere 169: 642-650
- Hemachandra, C.K.; Pathiratne A. 2015. Assessing toxicity of copper, cadmium and chromium levels relevant to discharge limits of industrial effluents into inland surface waters using common onion, *Allium cepa* bio-assay. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 94(2), 199-203.
- Jurado, B.; Aparcana, I.M.; Villarreal, L.S.; Ramos, E.; Calixto, M.R.; Hurtado, P.E.; Acosta, M. 2016. Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) de diferentes lugares del Perú. Rev Soc Quím Perú 82(3): 272-279.
- Lock, O.; Rojas, R. 2005. Química y Farmacología de *Physalis peruviana* L. ("Aguaymanto"). Revista de química 1: 65-70.
- Lodish, H.; Baltimore, D.; Berk, S.; Ziopursky, S.L.; Matsudaira, P.; Darnell, J. 2012. Molecular Cell Biology. Edit. Scientific American Books. INC. New York, EE.UU.
- Llontop, L.G.; Vargas, C.D. 2016. Efecto citoreparador de *Aloe vera* L. "sábila" en tejidos embrionarios de *Allium cepa* L. "cebolla" con daño cromosómico inducido por amoxicilina. Acc Cietna 2(2), 1-10.
- Muñoz-Solarte, D. M.; Guerrero-Pepinosa, N. 2013. *Allium* test para evaluar el efecto citotóxico y genotóxico de extractos naturales en células meristemáticas de *Allium cepa*. Memorias 11(19): 83-86.

- Nefic, H.; Musanovic, J.; Metovic, A.; Kurteshi, K. 2013. Chromosomal and nuclear alterations in root tip cells of *Allium cepa* L. induced by alprazolam. *Med. Arch.* 67(6): 388-392.
- Ramadan, M.; Mörsel, J. 2003. Oil Goldenberry (*Physalis peruviana* L.). *Journal of Agricultural and Food Chem* 51: 969-974.
- Rank, J.; Nielsen, M. H.; Moretton, J. 2002. Genotoxicity of maleic hydrazide, acedine and DEHP in *Allium cepa* root cells performed by two different laboratories. *Hereditas* 36(1): 13-18.
- Remigio, A.C.; Pérez, G.; Fernández Esperón, N.; Bada, A.M.; Arteaga, M.E.; Mancebo, A. 2001. Estudio genotóxico *in vivo* de 6 extractos de plantas medicinales en células de la médula ósea de roedores. *Revista de Toxicología* 18 (2): 75-78.
- Reyes-Beltrán, M.E.D.; Guanilo-Reyes, C.K.; Ibáñez-Cárdenas, M.W.; García-Collao, C.E.; Idrogo-Alfaro J.J.; Huamán-Saavedra, J.J. 2015. Efecto del consumo de *Physalis peruviana* L. (aguaymanto) sobre el perfil lipídico de pacientes con hipercolesterolemia. *Acta Med Per* 32(4):195-201.
- Saldaña, J.A.; Muro, J.C.; Zavala, F.; Zavaleta, G.; Araujo, J.; Fajardo, K. 2012. Efecto del extracto acuoso de *Syzygium aromaticum* a diferentes concentraciones sobre el ciclo celular en meristemos radiculares de *Allium cepa*. *REBIOL* 32(2):27-38.
- Stracuzzi, S.P.; Pestana, F.M. 2006. Metodología de la investigación cuantitativa. 2da. Ed. Editorial FEDU-PEL. Caracas, Venezuela. 86pp.
- Zavala, D.; Quispe, A.; Posso, M.; Rojas, J.; Vaisberg, A. 2006. Efecto citotóxico de *Physalis peruviana* (capulí) en cáncer de colon y leucemia mieloide crónica. *An Fac Med Lima* 67(4): 283-289.

2. ANEXOS

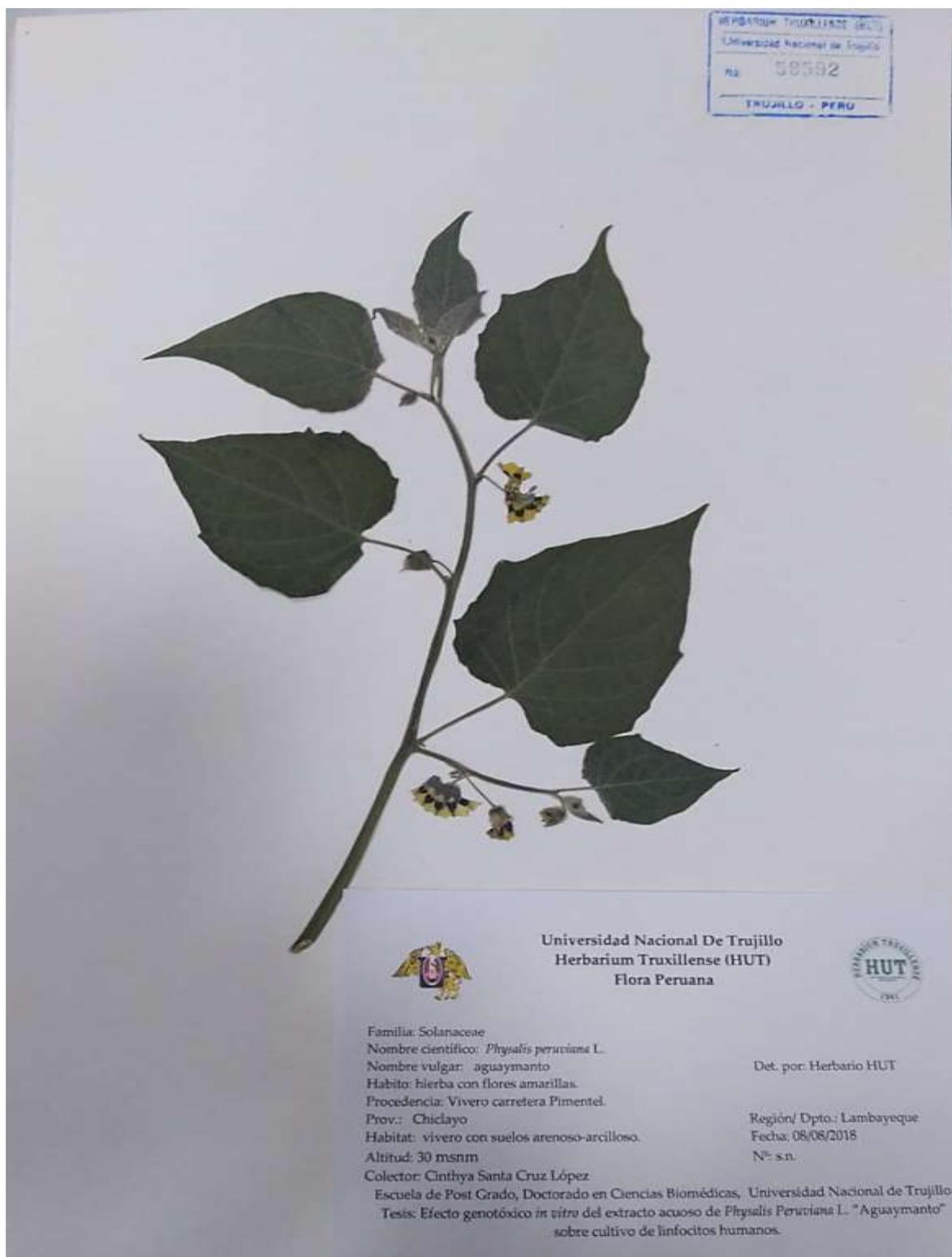


Figura 4. Identificación taxonómica de *Physalis peruviana* L. "Aguaymanto" por el herbario truxillense –HUT.