

RESERVA

Centro de Investigación en Alimentación Y Desarrollo, A. C.

CARACTERÍSTICAS CUTICULARES Y ACTIVIDAD DE
POLIGALACTURONASA DURANTE LA MADURACION Y SENESCENCIA

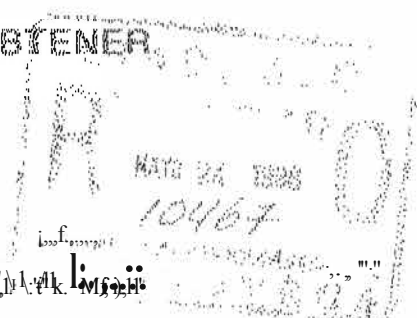
POR

ANA MARIA MENDOZA WILSON

Presentado al Departamento de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO DE



El presente trabajo fue elaborado en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C.

El presente trabajo fue elaborado en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C.

APROBACION

Los miembros del comité designado para revisar la tesis de Ana María Mendoza Wilson, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias, con especialidad en Nutrición y Alimentos dentro del programa Interinstitucional de postgrado en Alimentos, en el Departamento de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal.



Dr. Reginaldo Báez Sañudo
Director de Tesis



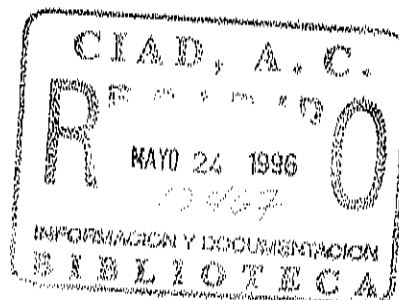
Dr. Alfonso A. Gardea Béjar



Dr. Miguel Angel Martínez Téllez



Dr. Jorge H. Siller Cepeda



DECLARACION DEL AUTOR

Se permiten citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Para citas y consultas más amplias o para la reproducción íntegra del documento con fines académicos, se podrá solicitar permiso al Director del Centro, al Director del Area de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal o al Director de la tesis en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. con dirección en carretera a la Victoria Km 0.6, Apartado Postal 1735, Hermosillo, Sonora, México. Bajo cualquier otra circunstancia, se deberá solicitar permiso al autor.

FIRMA

Ana M^o Mendoza Wilson
ANA MARIA MENDOZA WILSON

EL HIJO DEL SUEÑO

Un hijo... ¿Tú sabes, tú sientes qué es eso?
ver nacer la vida del fondo de un beso,
por un inefable milagro de amor;
un beso que llene la cuna vacía,
y que ingenuamente nos mire y sonría:
un beso hecho flor...

Un hijo... ¡Un fragante, fuerte y dulce lazo!
me parece verlo sobre tu regazo
palpitando ya;
y miro moverse con pueril empeño
las pequeñas manos de nuestro pequeño,
como si quisieran sujetar un sueño
que llega y se va...

En el agua fresca de muestras ternuras
mojará las alas de sus travesuras,
como una paloma que aprende a volar;
y será violento, loco y peregrino,
y amará igualmente la mujer y el vino,
¡ el cielo y el mar!

Con la sed amarga de la adolescencia,
beberá en la fuente turbia de la ciencia;
y, tierno cantor,
irá por el mundo, con su lira al hombro,
dejando un reguero de rosas de asombro
y un áureo fulgor...

Cruzará al galope la árida llanura,
pálido de ensueño, loco de aventura
y ebrio de ideal;
y en su desvario de viajes remotos,
volverá algún día con los remos rotos,
trayendo en los labios un sabor de sal.

Caminante absurdo de caminos muertos,
pasará su sombra sobre los desiertos,
en una infinita peregrinación;
y su alucinada pupila inconforme
verá en su destino grabada una enorme
interrogación.

Pero será inútil su tenaz andanza,
persiguiendo un sueño que jamás se alcanza...
y ha de ser así,
pues no hallará nunca, como yo, la meta
de todas sus ansias de hombre y de poeta:
porque en las mujeres de su vida inquieta
no hallará ninguna parecida a ti..

Que tú eres la rosa de una sola vida,
la rosa que nadie verá repetida
porque al deshojarse secará el rosal;
y, como en el mundo ya no habrá esa rosa,
él irá en su larga búsqueda infructuosa,
¡en pos de una igual!

José Angel Buesa.

DEDICATORIAS

A mi pequeño hijo: Luis Fernando o Karen Valeria, de sólo siete meses de gestación. Quiero brindarle más que una dedicatoria, un testimonio de mi amor por él, que quede plasmado en las páginas de éste libro, así como en todo lo que haga en nuestra vida futura. ¡Hijo (a)! ...eres mi mayor motivo, y mi mejor logro en la vida será cuando me digas... ¡Te Quiero mamá!.

Mamá: Aprovecho éste espacio para expresarte el cariño, respeto y admiración que me llenan a ti. Te agradezco los miles de afanes que desinteresadamente has depositado en mí a través de todos años, gracias a los cuales me siento preparada para recibir a mi hijo y pagar el dulce precio de ser madre.

A dos grandes amores que ya se fueron, pero viven constantemente en mí... mi padre y mi hermano Francisco.

A ese gran equipo, que son mis hermanos, cuñadas (os) y sobrinos, les recuerdo mi cariño y mi esperanza por una familia más unida.

Cuando se logra una amistad verdadera, ésta perdurará aún en la distancia...Te recuerdo Mauro... Te llevo conmigo siempre Arturo.

Asonaba en mis ojos una lágrima, y a sus labios una frase de perdón;
habló el orgullo y enjugó mi llanto... y la frase en sus labios expiró;
Yo voy por un camino, él por otro, pero al pensar en aquel mutuo amor,
él dirá: "¿Porqué callé aquel día?" , yo digo aún: "¿Porqué no lloré yo?".

Gustavo Adolfo Bécquer.

Ana María.

AGRADECIMIENTOS

En primera instancia, agradezco al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. por su disposición y todas las facilidades brindadas al prestar las instalaciones y equipo necesario, incluyendo el valioso y capaz equipo humano con el que cuenta, para la realización de mi grado de maestría y del presente trabajo.

En éste sentido, extiendo mi agradecimiento al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por su colaboración en la creación de programas de postgrado, orientados a la superación de los profesionistas mexicanos dedicados a la ciencia, y otorgar el apoyo económico para el desarrollo de los mismos. Gracias a los cuales he podido cumplir con uno de mis objetivos de superación académica.

A la confederación Agrícola del Estado de Sinaloa por confiarnos y facilitarnos la materia prima para la realización de éste trabajo.

De una manera muy especial dirijo mi agradecimiento al Dr. Reginaldo Báez Sañudo, quién por su disposición y profesionalismo más que un director de tesis ha sabido ser mi amigo, ganándose mi respeto y cariño. Regis: no sólo guardas un lugar importante en mi formación profesional, sino también en mi corazón... ¡Gracias!

A los Doctores: Alfonso A. gardea Béjar , Miguel Angel Martínez Tellez y Jorge H. Siller Cepeda; quienes me distinguieron al formar parte de mi comite de tesis. Les agradezco infinitamente su colaboración e interés en éste trabajo, así mismo, sus acertadas observaciones y correcciones, las cuales permitieron mejorarlo.

A la coordinación de Maestría de CIAD, A.C., en especial a la M.C. Rosalba Troncoso por todas las atenciones y buena disposición.

Doy las gracias a los maestros del programa de maestría, quienes con su preparación, esfuerzo constante y dedicación lograron aumentar mis conocimientos y motivarme para seguir adelante en el campo de la investigación.

Un agradecimiento muy afectuoso al Departamento de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal del CIAD, A.C., lugar donde se desarrolló toda la fase experimental del presente trabajo; contando con el apoyo de personas muy capaces, entre ellas la Q.B. Elsa Bringas, Q.B. Mónica Villegas, Ing. Agronomo Martín Flores, pQ.B. Norma G. Ramírez y Lydia Méndez (Secretaria del Depto.).

A mis insustituibles compañeros Jorge Mercado, Javier Ojeda y Alfonso Sánchez, quienes además de poseer grandes cualidades y habilidades como profesionistas, son excelentes amigos y hacen el trabajo muy ameno.

Expreso mi agradecimiento a la M.C. María Elena Lugo, M.C. Marisela Rivera, pQ.B. Luis Conde, Hector Cota (encargado centro de copiado) y al Lic. en economía Jesús Robles, por su orientación y colaboración en las diferentes etapas del desarrollo de éste trabajo.

Como olvidar a mis compañeros de generación, en especial José Carmen Ramírez "Carmelo", Rosa Esthela Fraga, José Manuel Aguilar y Román Ochoa, donde quiera que estén ¡Gracias!

A la familia Báez Islas por sus finas atenciones.

A quién ha hecho posible todo esto y ha sido mi más fiel e incansable compañero de trabajo y de vida.....DIOS.

CONTENIDO

	Página
LISTA DE CUADROS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xv
RESUMEN	xvii
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	4
REVISION BIBLIOGRAFICA	5
Generalidades	5
Importancia Económica del Tomate	6
Aspectos Botánicos	8
Calidad	10
Calidad Externa	10
Color	10
Textura	12
Tamaño	12
Forma	13
Daño mecánico, desórdenes fisiológicos y enfermedades	13
Calidad Interna	14
Calidad sensorial	14
Valor nutricional	16
Madurez Comercial	17
Cambios en Permeabilidad	18
Respiración y Producción de Etileno	19
Ablandamiento del Fruto y Actividad de Poligalacturonasa	20
Degradación de Clorofila y Biosíntesis de Carotenoides	22
Cambios en Sabor y Aroma	23
Caracterización de los Frutos de Tomate con Genes Mutantes <i>rin</i> y <i>nor</i>	25
Origen	25
Efecto de los Genes Mutantes Dentro del Proceso de Madurez Comercial	27

CONTENIDO (Continuación)

	Página
Hibridación de Variedades Normales de Tomate con Genes Mutantes	29
Caracterización de la Cutícula de los Frutos	30
Cutina	31
Suberina	33
Lípidos Solubles Cuticulares	33
Ceras Epicuticulares	34
Ceras Intracuticulares	35
Factores que Afectan la Composición y Metabolismo de los Lípidos Solubles Cuticulares	36
Caracterización de la Enzima Poligalacturonasa	37
Posible Relación entre Actividad de Poligalacturonasa y Cambios en las Características Cuticulares	41
MATERIALES Y METODOS	44
Evaluaciones Químicas	45
Extracción y Cuantificación Total de Ceras Epicuticulares	45
Extracción de Cutículas	45
Extracción y Cuantificación Total de Ceras Intracuticulares	46
Identificación y Cuantificación de las Fracciones de Ceras Epicuticulares e Intracuticulares	46
Acidez Titulable, pH y Sólidos Solubles Totales	47
Evaluaciones Fisiológicas	48
Tasa Respiratoria	48
Producción de Etileno	49
Permeabilidad de Cutículas	49
Actividad Enzimática de Poligalacturonasa	50
Evaluaciones Físicas	53
Color	53
Firmeza	54
Pérdida de Peso	54
Contenido de Humedad	54
Peso de Cutículas	54
Contenido de Cutina	55
Grosor de Cutículas	55
Diseño Experimental	55

CONTENIDO (Continuación)

	Página
RESULTADOS Y DISCUSION	56
Tasa Respiratoria y Producción de Etileno	56
Peso Cuticular, Contenido de Cutina y Grosor de Cutícula	62
Contenido Total de Ceras Epicuticulares e Intracuticulares	66
Identificación y Cuantificación de los Componentes de las Ceras Epicuticulares e Intracuticulares	68
Permeabilidad al Vapor de Agua, Pérdida de Peso y Contenido de Humedad	87
Actividad de Poligalacturonasa (PG) y Firmeza	98
Color Interno	109
Color Verdadero (Hue)	109
Pureza del Color (Croma)	112
Luminosidad (L)	112
Color Externo	115
Color Verdadero (Hue)	115
Pureza del Color (Croma)	116
Luminosidad (L)	118
pH, Acidez Titulable y Sólidos Solubles Totales	121
Relación de las Características Cuticulares y Actividad de Poligalacturonasa Dentro del Proceso de Madurez Comercial	127
CONCLUSIONES	133
RECOMENDACIONES	138
BIBLIOGRAFIA	140

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Características de maduración en frutos de tomate mutantes <i>rin</i> y <i>nor</i> ..	28
2. Contenido en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de los componentes de las ceras epicuticulares de frutos de tomate normales	73
3. Contenido en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de los componentes de cadena corta y larga con número par e impar de carbonos de las ceras epicuticulares de frutos de tomate normales	74
4. Contenido en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de los componentes de las ceras intracuticulares de frutos de tomate normales	75
5. Contenido en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de los componentes de cadena corta y larga con número par e impar de carbonos de las ceras intracuticulares de frutos de tomate normales	76
6. Contenido en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de los componentes de las ceras epicuticulares de frutos de tomate con la característica <i>nor</i>	79
7. Contenido en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de los componentes de cadena corta y larga con número par e impar de carbonos de las ceras epicuticulares de frutos de tomate con la característica <i>nor</i>	80
8. Contenido en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de los componentes de las ceras intracuticulares de frutos de tomate con la característica <i>nor</i>	81
9. Contenido en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de los componentes de cadena corta y larga con número par e impar de carbonos de las ceras intracuticulares de frutos de tomate con la característica <i>nor</i>	82
10. Contenido en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de los componentes de las ceras epicuticulares de frutos de tomate con la característica <i>rin</i>	83
11. Contenido en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de los componentes de cadena corta y larga con número par e impar de carbonos de las ceras epicuticulares de frutos de tomate con la característica <i>rin</i>	84

LISTA DE CUADROS (Continuación)

Cuadro	Página
12. Contenido en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de los componentes de las ceras intracuticulares de frutos de tomate con la característica <i>rin</i>	85
13. Contenido en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de los componentes de cadena corta y larga con número par e impar de carbonos de las ceras intracuticulares de frutos de tomate con la característica <i>rin</i>	86

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Sección transversal de un fruto de tomate maduro mostrando sus principales características anatómicas	9
2. Representación esquemática de la cutícula de las plantas	32
3. Sistema experimental utilizado para la determinación de la permeabilidad de las cutículas aisladas	51
4. Comportamiento respiratorio como producción de CO ₂ en frutos de tomate híbridos con los genes mutantes <i>rin</i> y <i>nor</i>	57
5. Comportamiento respiratorio como producción de CO ₂ y etileno en frutos de tomate normales	58
6. Comportamiento respiratorio como producción de CO ₂ en frutos de tomate con la característica <i>rin</i> y <i>nor</i> en estado verde maduro	60
7. Comportamiento del peso cuticular de frutos de tomate normales e híbridos con los genes mutantes <i>rin</i> y <i>nor</i>	63
8. Comportamiento del peso de cutina en frutos de tomate normales e híbridos con los genes mutantes <i>rin</i> y <i>nor</i>	65
9. Contenido total de ceras epicuticulares en frutos de tomate normales e híbridos con los genes mutantes <i>rin</i> y <i>nor</i>	67
10. Contenido total de ceras intracuticulares en frutos de tomate normales e híbridos con los genes mutantes <i>rin</i> y <i>nor</i>	69
11. Cambios de Permeabilidad en frutos de tomate normales e híbridos con los genes mutantes <i>rin</i> y <i>nor</i>	89
12. Comportamiento en el porcentaje de pérdida de peso en frutos de tomate normales e híbridos con los genes mutantes <i>rin</i> y <i>nor</i>	94
13. Actividad de poligalacturonasa en frutos de tomate normales e híbridos con la característica <i>rin</i> y <i>nor</i>	99

LISTA DE FIGURAS (Continuación)

Figura	Página
14. Cambios de firmeza en frutos de tomate normales e híbridos con la característica <i>rin</i> y <i>nor</i>	102
15. Comportamiento de los valores de Hue interno en frutos de tomate normales e híbridos con la característica <i>rin</i> y <i>nor</i>	111
16. Comportamiento de los valores de croma interno en frutos de tomate normales e híbridos con la característica <i>rin</i> y <i>nor</i>	113
17. Comportamiento de los valores de luminosidad "L" interna en frutos de tomate normales e híbridos con la característica <i>rin</i> y <i>nor</i>	114
18. Comportamiento de los valores de Hue externo en frutos de tomate normales e híbridos con la característica <i>rin</i> y <i>nor</i>	117
19. Comportamiento de los valores de croma externo en frutos de tomate normales e híbridos con la característica <i>rin</i> y <i>nor</i>	119
20. Comportamiento de los valores de luminosidad "L" externa en frutos de tomate normales e híbridos con la característica <i>rin</i> y <i>nor</i>	120
21. Cambios de pH en frutos de tomate normales e híbridos con los genes mutantes <i>rin</i> y <i>nor</i>	122
22. Comportamiento de la acidez titulable en frutos de tomate normales e híbridos con los genes mutantes <i>rin</i> y <i>nor</i>	124
23. Comportamiento del contenido de sólidos solubles totales en frutos de tomate normales e híbridos con los genes mutantes <i>rin</i> y <i>nor</i>	126

RESUMEN

El tomate es un fruto de gran interés comercial y nutricional, sin embargo es muy perecedero. El desarrollo del proceso de madurez, comercial es determinante en la calidad y vida de anaquel de los frutos. Los primeros cambios que se observan cuando inicia la madurez del tomate se dan a nivel de membranas y pared celular. El cambio más drástico ocurre en la capa más externa de la piel: la cutícula. Por lo tanto las características de calidad que afectan la vida de anaquel durante la maduración y senescencia del tomate están altamente relacionadas con los cambios fisiológicos de la cutícula y enzimas que actúan en la pared celular, principalmente la poligalacturonasa. Los frutos de tomate híbridos con genes mutantes *rin* y *nor*, ofrecen mayor vida de anaquel, pero una pobre calidad comestible, pues no desarrollan buen color y sabor, además que el consumidor reporta cutículas duras y gruesas en estos frutos (Tigchelaar y col., 1978 a). Actualmente no se han realizado trabajos enfocados a caracterizar la cutícula de dichos frutos, por lo que el presente trabajo pretende determinar los principales cambios que ocurren en las características cuticulares de tomates normales e híbridos *rin* y *nor*, actividad de poligalacturonasa y calidad durante maduración y senescencia.

Para la realización de este trabajo se utilizaron frutos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mili.) pertenecientes a una variedad normal conocida como "Market. pl'ido" y los híbridos 124 con el gen *rin* y el S"69 con el gen *nor*, Los tomates normales se cosecharon en estado verde duro, mientras que los híbridos en estado cambiante. Los frutos se almacenaron a 20 °C simulando condiciones de mercado y se evaluaron cada dos

y 1rcs días por un período de vdn1iun días, dependiendo del análisis practicado, Las evaluaciones rcaliz,adas fueron: ·rasa respiratoria, producción de ctilcno, peso cuticular. conlcnido de cutin;1, grosor de cutícula, contenido total de ceras cpicuticularcs e in1nu:u1icuhircs, idcn1ificación y cua111ificación de los componentes de las ceras epi e i111racu1icularns, penneabilidad de l1s cutículas al vapor del agua, pérdida de peso de los fru1os, co111enido de humedad, nctividful de poligalacturonasa, firmcz,a, color interno y externo. pl-1, tidadc1. 1it1.1able y sólidos solubles tntalcs.

De acuerdo a los rcsultad!Js obtenidos, los tomates hibridos *rin* y *nor* prcsct11ron un comporUlmicn10 respiratorio no climatél'ico, micnm1s que en los frutos mirmales fue climatérico. Contrario a lo que se esperaba, el peso cuticular y el peso de cutina resulmnn mayores en los fru10s normales, en 1anto que el grosor lk las cutículas fue muy similar en las tres variedades de tomate cstudiadi1s, En relución 11lcontenido total de cerns cpicuticulares, este fue mayor en los tomates híbridos, cspcci;1lmentc los 11or. El componainicntn en el contenido Wllll de ceras in1n1cuticularcs fue muy dist.into, ya que en la variedad normml la Wnlkncia fue a aurnc.ntar y en las hfb'l'idas a disminuir. Se idcn1ificaron y cuantificaron aproximadamente el 50% del total de las ceras epi. e in1racu1icularcs extraídas, encontrándose, un total de 46 compuestos individuales, donde predominó la frncci6n correspondiente a los ácidos gn1sos, seguida de alcanos y finalmente de alcoholes grasos, El ácido graso más predominante, tanto en ceras epi e intrncuticularcs de las tres variedades de tomate fu,: el C ;s: de los alcanos predominaron C,, y C,i: en el caso de los alcoholes grnsos que fue donde se observó mayor diferencia.

Entre ambos tipos de cera, el más abundante fue el C_{18} (en las ceras epicuticulares, mientras que en las ceras intracuticulares fue el C_{17} , incluyendo a las tres variedades de tomate), las diferencias entre frutos normales e híbridos, en relación a las ceras se sujetan básicamente a su concentración, ya que en composición resultaron similares. Los cambios en permeabilidad en los frutos normales fueron rápidos y notables, se presentaron antes del climaterio y del disparo en actividad de PG; mientras que en los frutos híbridos fueron lentos además de presentar valores más bajos, los cuales coincidieron con el incremento en la actividad de PG. Se observó una fuerte asociación entre los cambios en permeabilidad y los cambios en las fracciones de lípidos y alcoholes grasos intracuticulares. Por otra parte, se determinó que la actividad de PG de los híbridos se redujo de 40 a 60%, de lo normal y en los híbridos entre 30 a 40%, encontrándose una fuerte relación fisiológica entre los niveles de actividad de PG y cambios en firmeza, mientras que los frutos normales perdieron drásticamente su firmeza, en los híbridos la pérdida fue lenta y gradual. Además que en los tomates híbridos la mayoría de los cambios fisiológicos, físicos y químicos se mostraron más lentos, la pérdida de peso resultó significativamente mayor en estos frutos con respecto de los normales. En términos generales, los frutos de tomate que desarrollaron el color interno y externo más rojo y puro fueron los híbridos *Mill* y el menos rojo pero más luminoso, los híbridos *lwr*. Referente a la calidad comestible, los frutos de tomate normales se consideran de mejor calidad, por presentar los valores de pH más bajo, así mismo los mayores porcentajes de acidez titulable y contenido de sólidos solubles totales,

Al efectuar una integración de todos los datos obtenidos se llegó a la conclusión de que la actividad de la enzima poligalacturonasa mostró una relación aunque indirecta con algunas de las características cuticulares, como lo son: permeabilidad al vapor del agua, peso cuticular, contenido de ceras y el contenido total de ceras intracuticulares en las variedades normales e híbridas, los cambios en permeabilidad y la actividad de poligalacturonasa de los frutos normales e híbridos, representaron puntos importantes en el desarrollo y evolución del proceso de maduración.

INTRODUCCION

El tomate es una hortaliza que frecuentemente se incluye dentro de la dieta humana por constituir una buena fuente de vitaminas, minerales y carbohidratos; además de su versatilidad para ser consumido en forma fresca o procesada, lo que confiere una mayor variedad a los alimentos (Davies y Hobson, 1981; Wills y col., 1984; Jones y col. 1991).

El tomate fresco representa un producto con grandes demandas, sobretudo en países desarrollados como los Estados Unidos de América (E.U.A.) en donde es ubicado como la tercera hortaliza más consumida y vendida (Vanderpan, 1994). A pesar de que este país es el principal productor de tomate en el mundo, durante el invierno y la primavera su producción disminuye y no alcanza a abastecer las fuertes demandas de los consumidores, por lo que se ve en la necesidad de importarlo. Es entonces cuando México que dispone de producción de tomate, se convierte en el principal proveedor de los E.U.A. y en menor escala de Canadá. Del total de las exportaciones de productos hortofrutícolas que México realiza hacia los E.U.A. más del 25% corresponde exclusivamente a tomate (Cienfuegos y Ramírez, 1990).

No obstante las fuertes demandas de tomate fresco, muchos consumidores no quedan satisfechos con la calidad y sabor que se ofrece en los supermercados. Esto obedece a muchas causas, entre las que cabe citar; el sacrificio en sabor causado por el estado de madurez verde en que son cosechados los tomates para que logren llegar en buen estado (firmes) hacia los mercados que se encuentran distantes de las regiones productoras. Así mismo, el detrimento en calidad causado por el mal manejo postcosecha de que son sujetos

antes de llegar a la mesa del consumidor (Vanderpan, 1994).

El tomate es un fruto muy perecedero y sufre una serie de daños cuando es manejado inadecuadamente. Aparte de que estos daños resultan indeseables por sí mismos al dar mala apariencia al fruto, aceleran el proceso de senescencia, traduciéndose finalmente en pérdidas económicas (Ceponis y col., 1986).

El desarrollo del proceso de madurez comercial es determinante en la calidad y vida de anaquel de los frutos. Los primeros cambios que se observan cuando inicia la madurez del tomate se dan a nivel de membranas y pared celular, el cambio más drástico ocurre en la capa más externa de la piel: la cutícula. Por lo tanto, las características de calidad que afectan la vida de anaquel durante la maduración y senescencia del tomate están altamente relacionadas con los cambios fisiológicos de la cutícula y las enzimas que actúan en la pared celular, principalmente la poligalacturonasa.

Los frutos híbridos de tomate con genes mutantes *rin* y *nor*, ofrecen mayor vida de anaquel por su aparente peculiaridad de presentar baja actividad de poligalacturonasa, pero una pobre calidad comestible, pues no desarrollan buen color y sabor, además que el consumidor reporta cutículas duras y gruesas en estos frutos (Tigchelaar y col., 1978 a). Los mencionados híbridos, además de representar una buena alternativa para su comercialización, son un excelente sistema modelo para el estudio del proceso de madurez comercial. Actualmente no se han efectuado trabajos enfocados a caracterizar la cutícula de dichos frutos y su relación con los cambios que ocurren durante la maduración y senescencia. Tomando en cuenta que el reto sobre el mejor aprovechamiento de los productos hortícolas es cada vez mayor, se considera necesaria y relevante la realización de estudios en este

contexto, no sólo por las grandes pérdidas que se tienen de éstos, sino también por las políticas económicas que cada vez son más exigentes.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar algunas características cuticulares, actividad de poligalacturonasa y calidad en frutos de tomate normales e híbridos con genes mutantes *rin* y *nor* durante el desarrollo de los procesos de maduración comercial y senescencia.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Identificar y cuantificar algunos de los componentes individuales de las ceras epi- e intracuticulares más abundantes en frutos de tomate y establecer la posible relación de los cambios que ocurren en éstas con las variaciones en el comportamiento cuticular y la maduración comercial.
- 2) Determinar peso, grosor y permeabilidad de las cutículas.
- 3) Cuantificar actividad de poligalacturonasa.
- 4) Evaluar las características que determinan la calidad comercial de los frutos de tomate.

REVISION BIBLIOGRAFICA

Generalidades

La domesticación del tomate al parecer tuvo sus inicios durante las etapas primarias de la civilización en México. De hecho el nombre tomate se deriva del lenguaje nahuatl "xictómatl", que significa tomate con ombligo. Después de la conquista, los españoles llevaron la planta a Europa, de donde se distribuyó a casi todo el mundo (Jones y col., 1991; Anónimo, 1995 a).

El tomate cultivado es un miembro del género *Lycopersicon*, el cual pertenece a la familia de las solanáceas (papa, tomate, tabaco, pimientos, berenjena). Dicho género se subdivide en dos grupos y consiste a su vez de ocho especies.

Grupo *Eulycopersicon*.- Incluye todos aquellos tomates cuyos frutos desarrollan un color rojo o amarillo cuando maduran comercialmente. Este grupo abarca especies cultivadas, como lo son *L. esculentum* Mill., *L. pimpinellifolium* y *L. cheesmanii* Riley; de las cuales destaca la primera por ser de una amplia distribución mundial gracias a que puede ser fácilmente cultivada (Davies y Hobson, 1981).

Grupo *Eriopersicon*.- Se caracteriza por poseer especies que permanecen verdes o verde-púrpura a través de su desarrollo. Entre ellas se encuentran *L. parviflorum*, *L. chmielewskii*, *L. hirsutum* Humb., *L. pennellii* y *L. peruvianum* (Davies y Hobson, 1981).

Cabe aclarar que a la especie de *L. esculentum* se le añade el termino "Mill" en honor a la persona que por primera vez realizó una descripción adecuada de las diferentes especie de tomate (Davies y Hobson, 1981).

Importancia Económica del Tomate

En la actualidad México es el mayor proveedor externo de hortalizas y frutas a los Estados Unidos de América, muy por abajo se ubican Canadá, Taiwan, la Comunidad Económica Europea y algunos países de la cuenca del caribe (Ecuador, Honduras, Costa Rica, Colombia y Chile). El principal productor de hortalizas en la república es el estado de Sinaloa seguido por Sonora, Baja California Norte, San Luis Potosí, Michoacán y Morelos (Cienfuegos y Ramírez, 1990; Anónimo, 1993).

Dentro de las hortalizas que mayormente se exportan se encuentran el tomate, el pepino, la calabacita, chiles, cebollín, espárragos, lechuga y coliflor, pero de éstas, la que más destaca es el tomate, ya que representa más de la cuarta parte de las exportaciones totales que se hacen incluyendo hortalizas y frutas (Cienfuegos y Ramírez, 1990; Higuera, 1991).

México es y ha sido considerado por muchos años un país tomatero por excelencia. Hace 73 años, en 1923, se cosechaban 20 mil hectáreas de tomate y se obtenían apenas 60 mil toneladas, de las cuales se exportaban 38 mil, siendo el consumo nacional de 22 mil toneladas y el per cápita de 1.426 kg (Anónimo, 1993).

Para 1973 la superficie cosechada llegó a las 70 mil hectáreas, produciéndose 1.1 millones de toneladas, de las cuales se exportaron 425 mil toneladas, con un consumo nacional aparente de 667 mil toneladas y un consumo per cápita de 11.9 kg (Anónimo, 1993).

Como se puede observar en el transcurso de 50 años (1923-1973) el incremento en las cifras de producción y exportación de tomate fueron consecutivos y notables. Sin embargo, a partir de este momento las cifras de exportación se estancaron, pues los aumentos que siguieron no fueron tan sorprendentes. La máxima exportación que México

logró a E.U.A. fue en 1987 con 464 mil toneladas (solo 39 mil toneladas mas de lo que lograba hace 22 años) y a partir de aquí disminuyó sensiblemente a 393 mil toneladas y decayó hasta 219 mil toneladas en 1992, cuando la producción lograda fue de 1,431 millones de toneladas (Anónimo, 1993; Anónimo, 1989).

Esta tendencia en la comercialización del tomate mexicano demuestra un estancamiento de los volúmenes exportados con altas y bajas. Al reflexionar sobre las posibles causas de dicho comportamiento, se deben considerar muchos factores entre los que destacan el precio y oferta del estado norteamericano de Florida en el mercado invernal de ese país, así como las pérdidas postcosecha que se tuvieron que presentar en el mercado nacional o durante la distribución en el mercado de exportación.

No obstante la problemática planteada, México sigue siendo el principal oferente de productos hortícolas a los E.U.A., ya que en el primer bimestre de 1994 contribuyó con el 65.42% del total de compras estadounidenses. De este porcentaje el tomate fresco mexicano representó el 99% del tomate total adquirido, que traducido en dólares significó 150.72 millones. El pepino ocupó el segundo lugar, ya que del total adquirido por E.U.A., México contribuyó con el 95.55% con un valor de 43.36 millones de dólares. La cebolla representó el 75.36%, los espárragos el 88.10%; los pimientos el 66.79% y la calabacita el 98.56% (Anónimo, 1995 b).

Aunque la balanza agropecuaria entre México y E.U.A. mostró un déficit de 1,409 millones de dólares en 1992 y de 870 millones de dólares en 1993, en el renglón hortícola el superávit fue favorable para México con 976.33 millones de dólares (Anónimo, 1995 b).

Aspectos Botánicos

Botánicamente, el fruto de tomate es una baya, ya que las semillas son formadas dentro de un mesocarpio carnoso. Las partes principales en las cuales la fruta puede ser dividida son: la piel, pericarpio y el contenido locular. La piel consiste de 4 ó 5 capas de células bajo una delgada cutícula. Normalmente, la capa epidérmica tiene una superficie externa densamente cutinizada, y tanto la epidermis y el colénquima son una gruesa pared en algunas variedades, la cutícula puede circundar las células epidérmicas, justo entre y bajo la primera capa de colénquima. Esto puede explicar parte de la resistencia a romperse mostrada en la fruta madura de tales líneas (Davies y Hobson, 1981).

El incremento en la talla de la fruta es por división celular dentro de los primeros 7 a 14 días. Después de unas pocas semanas se da una parcial separación de las paredes de la célula y en la lámina media ocurre la aparición de los espacios intercelulares. A medida que la fruta madura, las células del pericarpio vienen a ser más largas (100-500 μ m) y de pared delgada. Los lóculos son llenados por un crecimiento externo de células de la placenta las cuales contienen y engloban las semillas. A medida que la madurez progresa, las paredes de esas células parenquimatosas que rodean a las semillas se vuelven delgadas, ondeantes y contienen una larga cadena de carbohidratos pero con muy pocos granulos de almidón. La apariencia de un material tipo gel en las cavidades loculares provee un excelente criterio por medio del cual la fruta puede ser designada verde madura y la maduración incipiente es a menudo visualizada como un tinte rosa en el tejido placentar (Davies y Hobson, 1981) (Ver Figura 1).

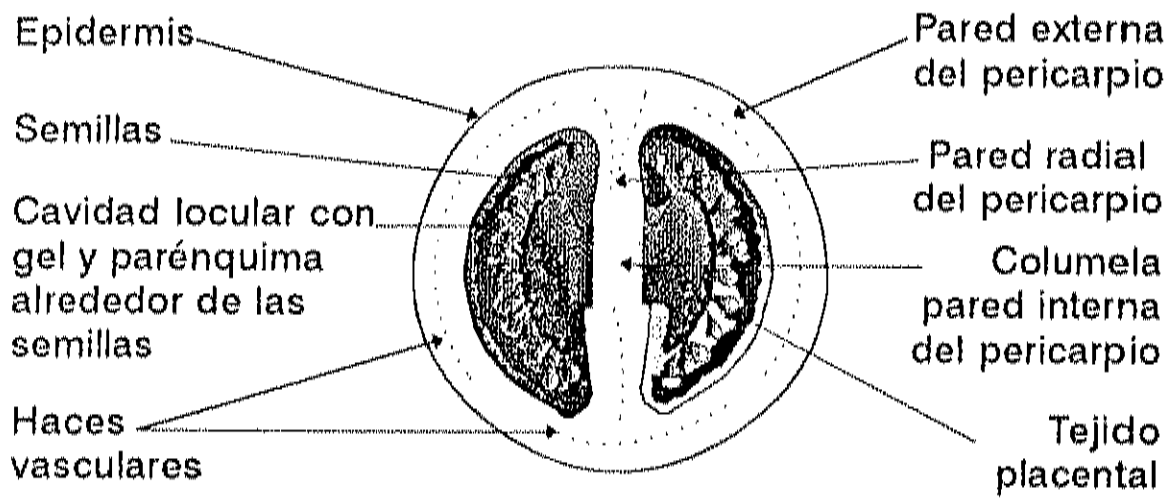


Figura 1.- Sección transversal de un fruto de tomate maduro mostrando sus principales características anatómicas.

Calidad

El término calidad tiene diversas definiciones y es un concepto muy subjetivo y difícil de definir. En productos hortofrutícolas la calidad está dada por una combinación de características, atributos y/o propiedades que le proporcionan un valor como alimento humano. Los usos de la palabra calidad en este renglón están de acuerdo al tipo de personas que los utilizan: para productores, calidad implica que el producto posea buena apariencia y pocos defectos visuales; para distribuidores e intermediarios significa que el perecedero mantenga buena apariencia, sea firme y que tenga larga vida de anaquel. Finalmente los consumidores ven la calidad como una cuestión de buen aspecto, firmeza, sabor y valor nutritivo. La mayor parte de ellos compran en base a apariencia y tacto, su satisfacción depende de la calidad comestible (Kader, 1985 a).

La calidad total en un tomate fresco, para satisfacer el punto de vista tanto de productores, distribuidores y consumidores se determina por su calidad externa y su calidad interna.

Calidad Externa

La calidad externa se determina por todas aquellas características que son perceptibles por la vista y el tacto.

Color.- El color y la decoloración de muchos alimentos son importantes atributos de calidad en el mercado. Al madurar el tomate presenta un típico color rojo que aunque no refleja necesariamente un valor nutricional, el consumidor basado en sus experiencias lo asocia con buen sabor y ablandamiento (Pomeranz y Meloan, 1978).

El color representa un buen control en la calidad de los frutos, ya que permite la estandarización del producto, evitando la desconfianza del consumidor por ofrecerle una variedad con una amplia gama de colores. El color es un aspecto de calidad tan importante para la fruta que la mayoría de los estándares de calidad especifican la cantidad e intensidad de un color característico requerido para alcanzar un grado designado. El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, por su significado en inglés, United States Department of Agriculture) ha realizado una clasificación y estandarización de color en los tomates, los cuales asocian el estado de madurez comercial y calidad que poseen; facilitando de esta manera el entendimiento sobre las bases en que deben cosecharse y comercializarse los frutos. Dicha clasificación se refiere a lo siguiente:

- (1) Green o verde maduro.- La superficie del fruto es completamente verde, la cual puede ser clara u oscura.
- (2) Breaker o inicio en el cambio de color.- No más del 10% de la superficie pasa de color verde a amarillo, rosa o rojo.
- (3) Turning o cambiante.- 10-30% de la superficie muestra un cambio definido en el color de verde a amarillo, rosa o rojo o una combinación de todos.
- (4) Pink o rosa.- Entre el 30 y 60% de la superficie se ha vuelto rosa o roja.
- (5) Light Red o rojo claro.- Un 60-90% de la superficie presenta un color de rosado a rojo.
- (6) Red o rojo.- Más del 90% de la superficie del fruto ya es de color rojo.

Tanto las normas de los E.U. como las asociaciones de México, establecen según las circunstancias los requisitos que el fruto deberá cumplir tanto para el mercado de exportación como el nacional.

Textura.- La textura de los cultivos hortofrutícolas es importante para la calidad comestible y depende de la turgencia, cohesión, forma y tamaño de las células, así como del tamaño del fruto, la dureza de la piel, la firmeza del tejido y el radio existente entre la pared radial del pericarpio y el material locular interno. La proporción de este tipo de tejidos influye en la propensión hacia la firmeza o ablandamiento del fruto (Cheftel y Cheftel, 1976; Pantástico, 1979; Al-Falluji y col., 1982; Frenkel y Jen, 1989).

Durante la maduración normal del tomate el ablandamiento del tejido del pericarpio es la principal causa en la pérdida de textura y calidad. El ablandamiento del tejido se atribuye a la disolución del material intercelular de la pared (Frenkel y Jen, 1989).

La firmeza de la pulpa (pericarpio) es una variable de textura utilizada usualmente como índice de madurez para frutas, y es de gran importancia ya que se puede considerar como un criterio y a la vez como un componente de la calidad. La firmeza de los frutos cambia porque la permeabilidad de las membranas y pared celulares se modifican por el proceso de maduración y senescencia (Cheftel y Cheftel, 1976; Potter, 1978).

Un ablandamiento suficiente es necesario para hacer comestible a un fruto, así como para liberar su contenido celular durante la masticación y permitir la percepción de su aroma y sabor; sin embargo, una buena firmeza (sin ser duro) es requerida para la distribución de los frutos de la cosecha hasta el consumidor (Frenkel y Jen, 1989).

Tamaño.- Los frutos de tomate continúan creciendo aún después de llegar a su madurez fisiológica. Se ha determinado que su tamaño puede incrementar apreciablemente justo antes de dar el primer cambio en color, es decir al pasar del estado verde maduro al estado en que inicia el cambio de color. El tamaño del fruto guarda una correlación positiva con la madurez

comercial y la calidad. Los tomates que son cosechados verdes, generalmente son inconsistentes por su madurez comercial y presentan una calidad inferior; ya que al ser cortados verdes no permiten que los ácidos y azúcares responsables del sabor se desarrollen completamente. Con esto se sacrifica la calidad comestible y alcanzan menor precio por kilogramo vendido al no alcanzar su máximo tamaño (Davis y Gardner, 1994).

En el mercado internacional el tamaño del tomate es importante. Existen estándares de calidad que clasifican al fruto basados en el tamaño. El USDA maneja tamaños que varían de 45-90mm de diámetro y en base a ello los clasifica en pequeños, medianos, grandes y extragrandes, siendo esta la base de su precio en el mercado (Frenkel y Jen, 1989; United States, Standards for Grades of Fresh Tomatoes, 1991).

Forma. - La forma de la fruta puede contribuir en la calidad de ésta al apearse a las normas de preferencia estéticas por parte del consumidor. La forma del tomate se expresa basándose en la proporción del diámetro ecuatorial y longitudinal de la fruta.

La forma no tiene un efecto directo en la calidad sensorial, sin embargo la proporción existente entre el material locular interno y de la pared del fruto (que frecuentemente se refleja en la forma) tiene un efecto en la calidad sensorial de acuerdo a la proporción en que se encuentre cada uno de estos tejidos, pues son de composición muy diferente. Un tomate con forma irregular generalmente se asocia con las estructuras multiloculares (Frenkel y Jen, 1989). Aunque también, la carencia o disminución en el número de semillas puede ocasionar crecimiento exiguo, malformación y falta de simetría en el fruto (Calderón, 1983).

Daño mecánico, desórdenes fisiológicos y enfermedades. - Generalmente son originados por manejo inadecuado durante o después de la cosecha o bien por anomalías metabólicas,

patógenos o pestes que afectan la calidad en forma directa o indirecta. La presencia de cualquiera de este tipo de alteraciones en forma aislada o combinada causan la pérdida en la calidad visual del fruto por dañar su apariencia. La mayoría de los desórdenes fisiológicos y patológicos que ocurren en tomate y otros frutos, se dan principalmente en la piel, más específicamente a nivel de la cutícula (Baéz, 1991).

Calidad Interna

La calidad interna se basa en factores perceptibles por el gusto, olfato y aporte nutricional.

Calidad sensorial.- La percepción del sabor y aroma a través de los sentidos determina el valor comestible de los tomates, es por eso que la evaluación sensorial a pesar de ser subjetiva es el principal criterio en la determinación de la calidad y aceptabilidad de un alimento. Aunque existen medidas objetivas para determinar el sabor, éstas se utilizan como métodos complementarios (Frenkel y Jen, 1989).

Algunos de los principales atributos que afectan la calidad sensorial de los tomates son los siguientes:

1) Azúcares y ácidos.- La fruta de tomate consiste en promedio de un 5-6% de sólidos solubles totales, principalmente azúcares, sólo una décima parte corresponde a ácidos orgánicos.

Un alto contenido en azúcares y ácidos se ha considerado el mejor atributo en la calidad sensorial del tomate, ya que intensifica fuertemente su sabor (Frenkel y Jen, 1989).

El azúcar predominante en tomate es la fructuosa, la cual es más dulce que la glucosa y

el ácido más abundante es el cítrico, el cual a su vez proporciona una mayor acidez que el resto de los ácidos orgánicos (Frenkel y Jen, 1989).

El tomate que posee un alto contenido de azúcares y bajo en ácidos presenta un sabor monótono, mientras que la relación inversa ocasiona la percepción de un sabor agrio o ácido. Cuando ambos componentes son bajos se produce una sensación de insipidez (Frenkel y Jen, 1989).

La distribución en el fruto de los componentes antes mencionados es diferente, en la región locular se acumulan los ácidos, mientras que los azúcares se alojan principalmente en el pericarpio. De tal manera que los cultivares con mayor desarrollo locular y pericarpio delgado suelen ser más ácidos. Por tal razón existen variedades ácidas por naturaleza. Algunos cultivares con una gran porción locular y alto contenido en azúcares se relacionan con una buena calidad sensorial. Sin embargo, esto puede ser a expensas de una adecuada firmeza y resistencia a daños durante cosecha y manejo postcosecha, pues una región locular abundante no confiere mucho soporte al tejido del fruto, por ser de naturaleza gelatinosa (Frenkel y Jen, 1989).

2) Compuestos volátiles.- El sabor del tomate es un fenómeno complejo. En él, se ven involucrados varios compuestos y aunque los azúcares y ácidos reflejan parte de ese sabor, existen otros compuestos importantes.

En los frutos de tomate se conocen varios cientos de compuestos aromáticos volátiles, aunque los más importantes son el *cis*-3-hexanol, 2-isobutiliazol y B-ionones. El sabor característico y deseable depende de la cantidad en que se encuentren los diferentes volátiles.

Cuando los tomates son cosechados prematuramente y se maduran en almacenes se desarrollan otro tipo de compuestos volátiles que imparten un sabor indeseable, el más común es el 2-metil-2-butanal (Frenkel y Jen, 1989).

Valor nutricional.- El término nutrición es quizás la consideración menos importante en la determinación de un consumidor para adquirir un producto hortícola, sin embargo este aspecto es de sumo valor.

Nutricionalmente el fruto de tomate contribuye de una manera significativa en la alimentación del hombre, debido a su amplio consumo y al aporte de nutrientes como vitamina C, vitamina A y pequeñas proporciones de vitaminas del complejo B, tales como tiamina, niacina, riboflavina, ácido nicotínico y ácido fólico (Davies y hobson, 1981; Wills y col., 1984; Frenkel y Jen, 1989).

Mediante un consumo moderado, el tomate por sí solo es capaz de aportar un nivel de vitamina C correspondiente a la tercera parte de los requerimientos diarios (Wills y col, 1984; Eskin, 1989).

Por otra parte, el tomate es considerado también como una buena fuente de minerales, entre los que destaca el hierro, potasio y fósforo (en forma de fosfatos) (Davies y Hobson, 1981; Wills y col., 1984).

Otros nutrientes de interés en este fruto son los carbohidratos solubles y la fibra. Después del agua, los azúcares son los constituyentes más importantes del tomate, ya que representan cerca del 50% de la materia seca total. Estos azúcares libres son reductores y consisten de glucosa y fructosa con predominancia de esta última. La fibra se constituye de las sustancias pécticas, celulosa y hemicelulosa representando un 25% de la materia seca

total pero en conjunto con proteínas (Davies y Hobson, 1981; Eskin, 1989).

Madurez Comercial

El proceso de madurez en su punto de madurez comercial es determinante en la calidad y aceptación de los frutos. Es un período transicional muy activo en el que se dan una serie de cambios, cuya finalidad es volver más apetecible al fruto. Tales cambios son regulados por una activación o supresión concurrente de los genes que estimulan la síntesis selectiva de enzimas críticas, que pueden verse estimulados por el medio ambiente y prácticas culturales (Richmond y Biale, 1966; Sacher, 1966; Frenkel y col., 1968; Hulme, 1972; De Swardt y col., 1973; Sacher, 1973; Tucker y Grierson, 1982; Grierson y Tucker, 1983; Biggs y col., 1986; Schuch y col., 1989).

Existen muchas controversias en relación a como se da el inicio y desarrollo de la madurez comercial; sin embargo, basados en Ahrens y Huber, (1990) y Sacher, (1966) se propone el siguiente mecanismo:

Los genes programados para dar inicio al evento de madurez comercial y posteriormente a la senescencia, se manifiestan primordialmente al provocar un estrés interno en el tejido del fruto y como respuesta a ello varias entidades celulares sufren modificaciones, entre las que se incluyen membranas y paredes.

De acuerdo a esta teoría, las membranas y paredes celulares presentan cambios significativos en permeabilidad para permitir el incremento en la concentración interna de oxígeno y asegurar de esta manera la producción y activación del etileno, el cual se considera el factor desencadenante de todas las reacciones que producen los cambios característicos de un fruto que ha madurado.

Cambios en Permeabilidad

Se tienen algunas evidencias para pensar que en el tomate, los primeros cambios en madurez se inician por alteración de la permeabilidad de la piel. En estos frutos, la piel representa una barrera más grande que la pulpa a la difusión de los gases. Por esta razón, se supone que la resistencia de la piel es el factor primario que regula la concentración interna de un gas. En el tomate el movimiento de gases dentro del tejido no es limitante, sin embargo el movimiento hacia afuera del tejido si lo es. Se ha determinado que la piel de este fruto es 1,000 veces menos permeable al intercambio gaseoso que los tejidos cicatrizados de la región peduncular (Cameron y Yang, 1982).

Los eventos que ocurren durante la maduración comercial, como el incremento en producción y actividad de etileno, la transcripción y expresión de genes, así como el aumento en la síntesis de proteínas, requieren de una gran cantidad de energía además de fuertes demandas de oxígeno molecular (Richmond y Biale, 1966; Sacher, 1966; De Swardt, 1973) .

Al ser los requerimientos de oxígeno molecular tan necesarios para dichos procesos, se debe aumentar el intercambio gaseoso. Posiblemente la región peduncular del tomate no se diera abasto y por ello se incrementa la permeabilidad de la piel . Así mismo, se debe incrementar el intercambio gaseoso para desechar el calor y el bióxido de carbono producidos durante la respiración. El bióxido de carbono es un competidor muy fuerte del etileno por el sitio receptor (metal que requiere de oxidación directa o indirecta), por lo que si no es eliminado, el evento de madurez comercial puede ser inhibido (Burg y Burg, 1967).

La permeabilidad y selectividad de las membranas celulares de alguna manera se encuentran asociadas a la cutícula, pues se considera que la membrana cuticular, por su ubicación externa en el tejido de la piel, está expuesta a cambios más rápidos y severos en estructura y consecuentemente en propiedades como la permeabilidad (Schönherr y Huber, 1977). Se sugiere que los primeros cambios preparatorios que ocurren para que se inicie la madurez comercial se dan en la cutícula.

Respiración y Producción de Etileno

Debido a las necesidades energéticas y de oxígeno molecular, el fruto de tomate presenta un disparo en la tasa respiratoria, la cual es acompañada por un incremento en la producción de etileno, al momento de iniciar la madurez comercial. A este fenómeno se le conoce como "climaterio" y ubica al tomate como un fruto "climatérico" (De Swardt, 1973; Tucker y Grierson, 1982; Grierson y Tucker, 1983; DellaPenna, 1986).

A partir del climaterio, el tomate empieza a mostrar los primeros signos de madurez, los cuales son perceptibles visualmente. A pesar de que los cambios preparativos para que se efectúe la maduración comercial, se inician externamente (piel), el proceso en sí se inicia a nivel locular, es decir internamente.

Este hecho se atribuye a que los niveles de ACC, ACC sintasa y enzima formadora de etileno se incrementan primero en el tejido locular, después en el eje central, posteriormente en el pericarpio radial y por último en la parte más externa del pericarpio, que es la piel. El incremento observado de dichas enzimas en los lóculos ocurre coincidentemente con la formación del gel, antes de la aparición del color rojo, y también es correspondiente

con el primer incremento perceptible en la producción de etileno por la fruta entera (Brecht, 1987).

Se ha propuesto que las células locales juegan un rol importante en la iniciación y progresión de la madurez comercial del tomate, por su acción como células blanco del etileno. Posiblemente estas células poseen mayor sensibilidad (umbrales de percepción bajos) al etileno, que las del tejido restante (Ling y col., 1984; Tieman y Handa, 1989).

Ablandamiento del Fruto y Actividad de Poligalacturonasa

Los cambios significativos en permeabilidad de las membranas y paredes celulares, conducen por otra parte, a una pérdida en la compartimentalización protoplásmica, con lo que se favorece el intercambio iónico seguido por una alteración del pH celular, dando una mayor interacción enzima-sustrato. Como consecuencia de estos cambios, aunados al incremento respiratorio y a la actividad de etileno, aumenta la síntesis de proteínas. Algunas de estas proteínas con carácter enzimático estimulan otros eventos de la maduración, como lo son la degradación de la pared celular, síntesis de licopeno y formación de volátiles (Sacher, 1966).

Las células del pericarpio de las frutas sólo contienen pared celular primaria, formadas principalmente por polisacáridos pécticos, hemicelulosa, celulosa y glicoproteínas ricas en celulosa. Las paredes de células contiguas se separan por la lamela media, la cual es rica en sustancias pécticas (Pressey, 1977; John y Dey, 1986).

La degradación de la pared celular provoca el ablandamiento del fruto y generalmente se atribuye a la acción de varias enzimas, como lo son pectinmetilesterasa (PME) (Wilbur,

1983; Giovane y col., 1994), poligalacturonasa (PG) (Wilbur, 1983; Schuch y col., 1991), así como también celulasas, β -galactosidasas, (Themmen y col., 1982), α -D-mannosidasa y α -D-galactosidasa (Watkins y col., 1988). De estas enzimas a la que se le atribuye un rol más importante dentro del ablandamiento del tomate es a la poligalacturonasa, además de que es considerada uno de los puntos críticos dentro del control del proceso de madurez.

Durante su acción la PG libera enzimas ligadas a la pared celular. Probablemente, algunas de ellas esten involucradas en la síntesis de carotenoides o en la formación de compuestos volátiles. Se ha observado que cuando se activa la PG, aparte de los cambios en textura (firmeza), se presentan también los cambios en color, sabor y aroma característicos del tomate (Tigchelaar y col., 1978 a; Brady y col., 1982; Grierson y Tucker, 1983).

Al actuar sobre la pared celular, la PG también libera materiales oligoméricos de ácido galacturónico, que al parecer pueden tener un efecto modulador en la síntesis de etileno en las etapas intermedias de la maduración, por lo que puede formar parte del sistema autocatalítico II en la producción de etileno. La reciente demostración de una localización apoplástica para ACC oxidasa de la fruta de tomate se considera relevante en la conexión de los eventos de la ruptura de la pared celular y la síntesis de etileno. (Melotto y col., 1994).

La ruptura de la pared celular y la síntesis de etileno se vuelven a relacionar a través de la enzima peroxidasa, la cual es liberada de la pared celular durante la maduración comercial, activando la enzima ácido indol acético oxidasa, la cual a su vez es implicada en la producción de etileno (Kokkinakis y Brooks, 1979).

La maduración comercial ocurre como una reacción en cadena, donde unos eventos dependen de otros. Así como los cambios en permeabilidad conducen a incrementar la síntesis de etileno, ésta a su vez fomenta la síntesis proteica. Las proteínas sintetizadas por su parte pueden a través de su acción estimular la síntesis de etileno, convirtiéndolo al proceso de madurez comercial en una especie de ciclo o sistema cerrado (Theologis, 1992).

Degradación de Clorofila y Biosíntesis de Carotenoides

El cambio de color en tomate de verde a rojo durante la maduración comercial, se debe a la degradación de clorofila, proceso que es acompañado por la síntesis simultánea de licopeno, β -caroteno y algunas xantófilas (Frenkel y Jen, 1989; Fraser y col., 1994).

El contenido de clorofila de los frutos en maduración desaparece con lentitud y por lo general, queda en ellos cierta cantidad de pigmento verde, en especial en tejidos internos (Pantástico, 1984). La degradación de clorofila es asociada con la pérdida del grupo fitol por acción de la clorofilasa. Posteriormente a la degradación de clorofila el grupo fitol es resintetizado a geranil-geranil pirofosfato y después es convertido a compuestos carotenoides (Khudairi, 1972).

El cambio de color en tomate se presenta de la siguiente manera:

Verde \rightarrow Blanco \rightarrow Amarillo \rightarrow Naranja o Rosa \rightarrow Rojo-Naranja o Rosado \rightarrow Rojo

El cambio de verde a blanco involucra la degradación de clorofila, mientras que el cambio de blanco hasta rojo incluye la biosíntesis de carotenoides. Los compuestos carotenoides se componen de carotenos como el β -caroteno que es alicíclico, el licopeno que es acíclico y las xantófilas que son oxigenadas (Khudairi, 1972).

Al cambiar los pigmentos los cloroplastos se transforman en cromoplastos. En tomate la degradación de cloroplastos ocurre mucho antes de la desaparición del color verde. El primer cambio que se observa es la desaparición del grana de los cloroplastos con la consecuente degradación de clorofila, seguidamente se da la formación de globulos osmofílicos en donde se sintetizan los carotenoides (Khudairi, 1972).

La fracción en que se encuentran cada uno de los pigmentos formados determina el color percibido finalmente en el fruto. En frutos de tomate inmaduros las xantófilas (luteína y zeaxantina) representan más de la mitad de los pigmentos presentes. Posteriormente y durante la maduración éstas disminuyen significativamente. Al desarrollarse la madurez comercial, los carotenos más comunes son el licopeno, el cual es el más abundante, el α y β -caroteno, así como fitoeno, fitoflueno, γ y δ -caroteno. El β -caroteno se acumula mayormente en el tejido locular, mientras que el licopeno se acumula en mayores cantidades en el pericarpio del fruto (Davies y Hobson, 1981).

De acuerdo a Khudairi (1972), la cadena de reacciones mediante la cual operan los cambios de color en tomate se pueden sintetizar de la siguiente manera: primeramente se da la producción de etileno, se degrada la clorofila, aumenta el flujo de oxígeno y se da la síntesis de ácido abscísico, para finalmente llevarse a cabo la transformación enzimática de los carotenos desde un color amarillo y naranja hasta rojo.

Cambios en Sabor y Aroma

Como se comentó anteriormente, los principales contribuyentes en el sabor y aroma de los frutos, son los azúcares, ácidos y los compuestos volátiles.

La degradación de las pectinas y el resto de componentes polisacáridos de las paredes celulares conduce a la formación de azúcares, por lo que su contenido aumenta durante la etapas primarias de la maduración y declina en las etapas siguientes (Denis, 1973).

El ácido orgánico predominante en tomate es el cítrico, por lo que los cambios en acidez titulable durante la maduración se atribuyen a este ácido. Otros ácidos presentes son el málico y en menor proporción se encuentra el fórmico, acético, trans-acotínico y sólo trazas de láctico y fumárico. La máxima acidez observada durante la maduración coincide con la primera aparición de color rosa y a partir de aquí se reduce a conforme el fruto se torna rojo (Denis, 1973).

Durante las etapas de desarrollo del proceso de madurez comercial se presentan diferencias cualitativas y cuantitativas en la fracciones de compuestos volátiles. Una típica fracción de compuestos volátiles obtenida de tomates que han sido desarrollados en campo se compone de 58% de ésteres, alcanos y alcoholes de cadena larga, 32% de carbonilos y 10% de alcoholes de cadena corta (3-6 carbonos). Los carbonilos alifáticos y ácidos grasos volátiles se incrementan marcadamente durante la incipiente maduración comercial, mientras los ácidos grasos insaturados se reducen. Se han encontrado diferencias notables en la composición de volátiles entre fruta que madura en la planta y la que se madura artificialmente, la primera desarrolla volátiles con cadena larga (9-12 carbonos), mientras que la segunda con cadena corta (4-6 carbonos) (Davies y Hobson, 1981).

En el tomate se han caracterizado alrededor de 285 compuestos que contribuyen en el sabor y aroma caraterístico de este fruto, pero el 3-hexen-1-ol es considerado el compuesto clave en el sabor y aroma de tomates de buena calidad (Davies y Hobson, 1981).

El desarrollo de compuestos volátiles guarda una estrecha relación con la degradación de las membranas y paredes celulares, pues la enzima lipoxigenasa que produce sustancias volátiles a partir de ácidos grasos es liberada durante la acción de PG sobre dichas estructuras. También existe una estrecha relación entre el desarrollo de color y formación de volátiles, ya que algunos compuestos carotenoides que se forman durante la pigmentación normal del tomate contribuyen en la formación de volátiles del sabor (Davies y Hobson, 1981; Ferrie y col., 1994).

A diferencia de los frutos de tomate normales, que fueron los que se describieron anteriormente, existen otras variedades de tomate conocidas como "mutantes", las cuales como su nombre lo indica presentan efectos mutantes, en este caso sobre el proceso de madurez comercial. De tal manera que desarrollan características muy específicas y contrastantes en relación al proceso de maduración comercial comparado con los frutos normales.

Caracterización de los Frutos de Tomate con Genes Mutantes *rin* y *nor*

Origen

Los frutos mutantes, a diferencia de los transgénicos sólo constituyen una forma alterna hereditaria del tipo silvestre o natural (Márquez, 1987). En este sentido se da una alteración o cambio en la expresión de cualquiera de sus genes y la manifiesta fenotípicamente (Levin, 1985). En estos organismos, aunque a simple vista muestran diferencias con respecto al natural, no existe ningún gen extraño a él, como en los transgénicos.

Por su origen, los mutantes pueden ser espontáneos, lo que significa que sufren una evolución orgánica que puede resultar en un proceso, ya sea de protección o de rechazo hacia ciertos genotipos. En última instancia, estas diferencias en genotipo dan por resultado, la acumulación de genes mutantes diferentes dentro de las poblaciones naturales de los organismos (Levin, 1985).

Todas las mutaciones espontáneas ocurren a una tasa muy baja. Sin embargo, puesto que la evolución en los organismos superiores se considera en términos de tiempo geológico, la tasa relativamente pequeña de mutación espontánea por generación llega a ser muy significativa en una escala de tiempo ampliamente extensa. Las mutaciones pueden manifestarse tanto en genes con carácter dominante, como del tipo recesivo. Las mutaciones en genes dominantes se pueden manifestar tanto en organismos homocigotos, como heterocigotos; mientras que las mutaciones recesivas se manifiestan principalmente en organismos homocigotos, al menos que forme parte de una dominancia incompleta (híbrido). Frecuentemente las mutaciones se dan a nivel bioquímico, por la pérdida o modificación de la capacidad de un organismo para sintetizar una enzima específica, por ejemplo una enzima que regula algún proceso esencial; o bien pérdida o modificación en la función de la proteína (Levin, 1985).

Los mutantes que resultan de cruces entre un organismo mutante y su forma silvestre, son variedades isogénicas entre sí. Esto quiere decir que poseen el mismo número y tipo de genes y sólo varían en la forma de expresarse en el fenotipo en alguna característica en particular (color, textura, etc.), (Herskowitz, 1982).

El *rin* y *nor* son dos mutantes espontáneos recesivos e isogénicos de la fruta del tomate, que han sido ampliamente caracterizados por sus efectos múltiples en el proceso de maduración (Tigchelaar y col., 1978 a).

Efecto de los Genes Mutantes Dentro del Proceso de Madurez Comercial

Los mutantes *rin* y *nor*, presentan un comportamiento no climatérico, en relación a su tasa respiratoria y producción de etileno. Muestran poco ablandamiento de sus tejidos comparados con los frutos normales, lo cual se atribuye a que poseen actividad traza de la enzima poligalacturonasa. También estimulan la síntesis de licopeno, pero a una tercera parte del contenido normal (Tigchelaar y col., 1978 a) (Cuadro 1).

Durante la maduración comercial el mutante *rin* contiene fitoeno como carotenoide predominante y bajos niveles de fitoflueno, β y γ -caroteno, neurosporeno y licopeno. En contraste, el *nor* contiene pigmentos presentes en frutos normales (en tipo), pero el licopeno se acumula muy lentamente, por lo que la transformación de cloroplastos a cromoplastos ocurre muy lentamente. Debido a estos factores los mutantes no desarrollan el color rojo característico en tomate (Tigchelaar y col, 1978 a).

Aunque poseedores de una larga vida de anaquel, los frutos de tomate mutantes muestran una calidad pobre, no sólo por desarrollar poco color, sino también por desarrollar sabores ácidos.

De acuerdo a estudios fisiológicos comparativos de los frutos normales y mutantes *rin* y *nor*, se ha establecido que el crecimiento del fruto es muy similar, e incluso el tamaño

Cuadro I.- Características de maduración en frutos de tomate mutantes *rin* y *nor*

Característica de Madurez	<i>rin</i>	<i>nor</i>
Respiración	No-Climatérico	No-Climatérico
Producción de Etileno	Ninguna	5-10% del Normal
Vida de Anaquel	Muy Larga	Muy Larga
Contenido de Carotenoides	Reducido	Reducido
Color	Amarillo	Naranja
Calidad de la Fruta		
a) pH	Bajo	Muy Bajo
b) Acidez Titulable	Alta	Muy Alta
c) Sólidos Solubles	Normal	Normal
Madurez de la Semilla	Normal	Normal
Actividad PME	Normal	Normal
Actividad PG	Trazas	Trazas
Incremento en Permeabilidad	Ninguno	----

máximo alcanzado por ambos se da casi al mismo tiempo. Por lo anterior, se sugiere que la etapa realmente afectada dentro del desarrollo de estos frutos es la madurez comercial, ya que tanto la magnitud como la coordinación de los eventos específicos que se dan en esta etapa, se ven parcialmente inhibidos (Tigchelaar y col., 1978 a).

Hibridación de Variedades Normales de Tomate con Genes Mutantes

Mediante cruces de frutos mutantes con variedades normales, se obtienen frutos híbridos con características de madurez y vida de anaquel intermedias, sobretodo en las generaciones F_1 y F_2 . En estos frutos los cambios asociados con la madurez comercial se presentan en forma más lenta a lo normal y por consiguiente la vida de anaquel se extiende enormemente. En tomates híbridos con el gen *nor* se ha llegado a incrementar hasta 2 ó 3 semanas más de lo normal. Con la extensión en la vida de anaquel estos materiales han logrado solventar algunos de los problemas de mercadeo. Sin embargo, presentan problemas en la calidad comestible, pues no desarrollan un buen color y sabor, además de que según los consumidores, la cutícula se siente gruesa y dura (Tigchelaar y col., 1978 a).

Dada la excepcional vida de anaquel que poseen los tomates híbridos con los genes *rin* y *nor*, se podría esperar que existan amplias posibilidades para su utilización comercial en fresco. Sin embargo, este mercado se ve frenado ya que no se ha descubierto el medio por el cual se pudiera lograr su adecuada maduración comercial para el desarrollo de una mejor calidad (Buescher y Sistrunk, 1976).

Debido a las características que presentan los frutos híbridos, ofrecen un excelente sistema modelo para el estudio del proceso de madurez comercial, por las siguientes razones:

De acuerdo a los consumidores, la cutícula de los tomates híbridos es aparentemente más dura y gruesa que la de tomates normales. Una cutícula con esas características posiblemente sea menos permeable. Retomando el modelo propuesto por Ahrens y Huber, (1990) y Sacher (1966), donde se propone que la madurez comercial se inicia con cambios preparatorios en la permeabilidad de membranas (cuticulares y celulares), podemos observar que guarda estrecha relación con el planteamiento efectuado por Tigchelaar y col., (1978 a), acerca de los mutantes *rin*, donde no se perciben cambios en permeabilidad al agua durante todo el desarrollo del fruto y a su vez el proceso de madurez comercial se ve parcialmente inhibido o disminuido. Aunado esto a que la tasa respiratoria es baja, la producción de etileno es casi nula, la actividad de poligalacturonasa se encuentra a niveles traza, mientras que el desarrollo en color y sabor es pobre en calidad.

Al no observarse cambios en la permeabilidad y al carecerse de una actividad normal en la enzima poligalacturonasa, los cambios a nivel de membranas y pared celular no se presentan. Por lo tanto, la maduración comercial se ve frenada o reducida.

Con el fundamento anterior, se plantea un rol importante de la cutícula en el inicio y desarrollo del proceso de madurez comercial.

Caracterización de la Cutícula de los Frutos

La cutícula es la capa más externa de la epidermis y por lo mismo cumple con las funciones de protección del órgano vegetal del que forma parte. Regula el intercambio de gases, la pérdida de humedad, la absorción y sorción de sustancias químicas, actúa como barrera física contra microorganismos patógenos, radiaciones ultravioleta y contaminantes.

Por formar parte de la epidermis se le asocian también funciones de resistencia a temperaturas extremas, lesiones mecánicas, volatilización de compuestos aromáticos y cambios en textura (Pantástico, 1979, Albrigo, 1986).

En forma convencional, la cutícula es visualizada como una membrana lipídica formada por muchas capas, las cuales se encuentran situadas arriba de una capa de pectina que las une a las paredes de las células epidérmicas (Figura 2). Estas capas cuticulares son la cutina, suberina y lípidos solubles cuticulares, además de una región que contiene carbohidratos polares y proteínas (Pantástico, 1979; Schönherr y col., 1979; Kolattukudy, 1984).

Cutina

La cutina se considera el principal componente de la cutícula por ser el más abundante (puede llegar a ser el 95% del total) y por ser el que da la estructura rígida a la cutícula. Esta característica de la cutina se debe a que forma una matriz polimerizada de lípidos, que es insoluble y que por lo mismo sirve de soporte a los lípidos solubles cuticulares (Walton y Kolattukudy, 1972; Kolattukudy y Walton, 1972; Petracek, 1991).

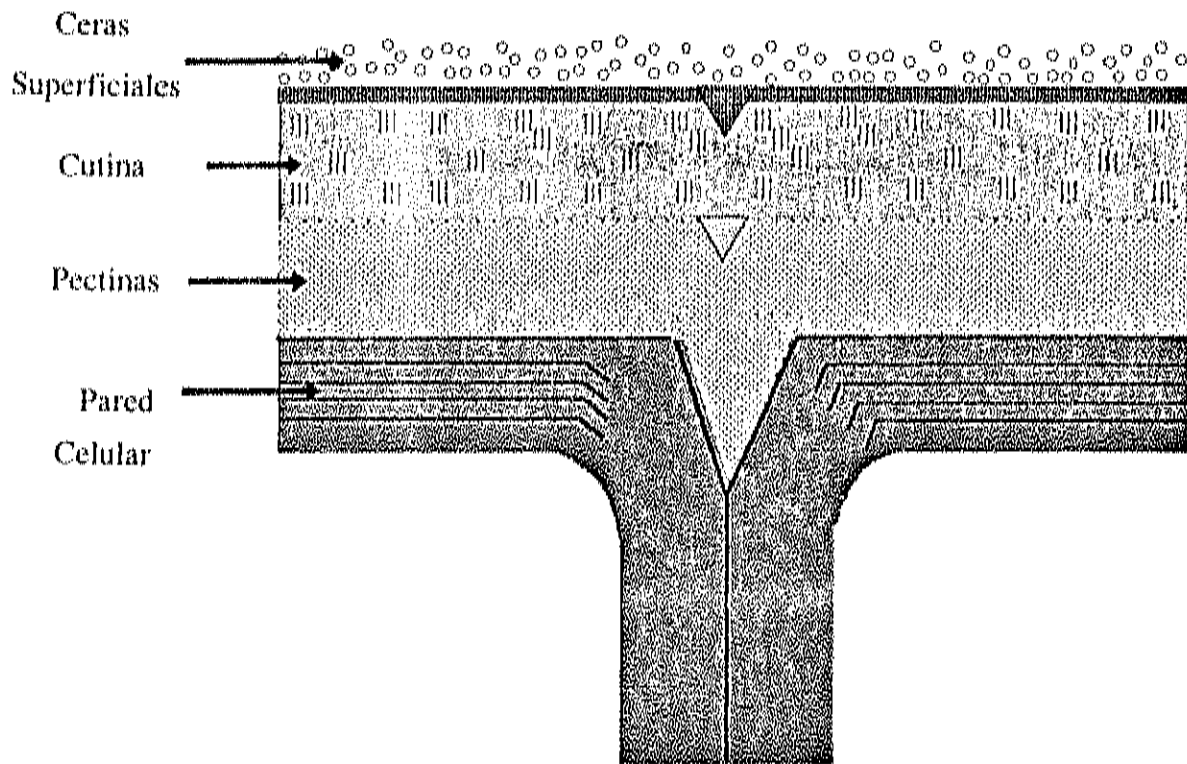


Figura 2.- Representación esquemática de la cutícula de las plantas

Los compuestos más abundantes en la cutina son los monómeros de ácidos grasos pertenecientes a las familias C_{16} (ácido palmítico) y C_{18} (ácido oléico y esteárico). En cuanto a los primeros el más predominante es el ácido 10,16-dihidroxipalmítico. En la cutina de tomate y papaya los hidroxiaácidos se encuentran en configuración L, a diferencia de otros frutos (Kolattukudy, 1981, Kolattukudy y col., 1973). En relación a los monómeros de la familia C_{18} el más abundante es el ácido 18-hidroxioléico (Kolattukudy, 1981; Kolattukudy y col., 1973).

Como componentes minoritarios en cutina de tomate se han encontrado ciertas cantidades de cumarato y flavonoides, los cuales incrementan durante el desarrollo y periodo climatérico de este fruto, hasta un 60% de los componentes totales (Kolattukudy, 1981).

Suberina

Se compone de una fracción alifática y una fracción fenólica (Kolattukudy, 1981, Kolattukudy y col., 1974). Es el componente minoritario de la cutícula, representando menos del 1% del total, se desconoce su papel y composición durante el desarrollo de los frutos, sin embargo se ha especulado que puede contribuir al mantenimiento de la estructura de la cutícula (papel similar al de la cutina) (Kolattukudy, 1981 y 1984).

Lípidos Solubles Cuticulares

Los lípidos solubles cuticulares son conocidos también con el nombre de ceras cuticulares. A la fracción que se encuentra embebida en la matriz de la cutina se les llama ceras intracuticulares y a las que cubren la superficie externa de la cutícula se les denomina ceras epicuticulares o superficiales (Riederer y Schneider, 1990).

Se ha establecido que las ceras cuticulares son compuestos únicos que se caracterizan por ser largas cadenas alifáticas, altamente no-polares y poseer elevados puntos de fusión (Geyer y Schönherr, 1990).

Ceras epicuticulares.- De todos los componentes cuticulares éstas son las más externas y por lo tanto las más expuestas al medio ambiente.

Las ceras epicuticulares están constituidas por compuestos alifáticos, en su mayoría saturados, de cadena larga (más de 20 carbonos). Estos compuestos alifáticos son principalmente alcanos, alcoholes grasos, ácidos grasos, aldehídos, ésteres, alquenos, cetonas y compuestos relacionados (El-Otmani y Coggins, 1985 a y b, El-Otmani y col., 1989).

Las ceras epicuticulares se acumulan rápidamente durante el crecimiento de la superficie del fruto. La finalidad de dicha acumulación es evitar el efecto de dilución o bien de lograr un equilibrio precisamente entre la producción de cera y el crecimiento del fruto, lo cual se mantiene aún después del proceso de maduración y en la postcosecha (Schulman y Monselise, 1970).

Existe una relación directa entre la cantidad y distribución de las ceras superficiales con el desarrollo de infecciones (Bergman y col., 1991). La cantidad de cera es un factor determinante en la funcionalidad de las ceras epicuticulares, sin embargo, no es el único aspecto que debe tomarse en cuenta, ya que la composición química de las mismas también juega un papel relevante.

De manera general, las ceras epicuticulares se disponen como laminillas aplanadas que se hacen duras y quebradizas durante el desarrollo del fruto. En estados más avanzados se rompen formando agregados muy pequeños que son menos efectivos contra la pérdida

de agua y el intercambio gaseoso (Albrigo, 1986).

Otro punto importante de la estructura de las ceras superficiales, es el efecto que tiene el arreglo de la estructura y la densidad sobre las propiedades de dispersar la luz, lo que finalmente se reflejará en el color de los frutos (Reicosky y Hanover, 1978).

Se ha observado también que cuando se remueven las ceras que protegen la cutícula de tomate se da un mayor movimiento de protones (conductancia) hacia el interior de las células epidérmicas, por lo que se presentan cambios de pH (Dreyer y col., 1981).

La presencia de lípidos solubles cuticulares específicos ha demostrado ser determinante en su resistencia al ataque por larvas de insectos del tipo lepidópteros. Los que poseen una mayor proporción de alcanos, son mucho más resistentes que los que desarrollan una mayor cantidad de aldehídos (Yang y col., 1992).

La composición de las ceras epicuticulares, también guarda cierta relación con el desarrollo de daño por frío en frutos. Durante el almacenamiento a bajas temperaturas las cantidades de alcanos, escualeno y aldehídos de cadena larga se pueden ver afectados. Se presume que el escualeno y demás compuestos mencionados juegan un papel importante en la protección de los frutos al daño por frío (Nordby y McDonald, 1991).

Ceras intracuticulares.- Las ceras intracuticulares están embebidas en la matriz de la cutina. Como parte estructural de la cutícula, contribuyen al mantenimiento de la difusión y transporte de agua y solutos. Están formadas principalmente por ácidos grasos y alcanos de cadena larga. Su concentración y composición varía ampliamente a través de las especies y el desarrollo de los órganos. Aunque se les ha asignado un papel central en el mantenimiento de la permeabilidad de la membrana cuticular, existen pocos estudios donde se analiza su

concentración y composición, y la posible relación con este proceso (Geyer y Schönherr, 1990).

Se ha determinado que la resistencia que ofrece la cutícula a los daños mecánicos, a la difusión de gases, a los cambios en permeabilidad al agua y penetración de microorganismos, no dependen específicamente de su grosor, sino más bien de la variación de sus componentes (principalmente lípidos solubles cuticulares) y las proporciones en que éstos se encuentren (Schönherr, 1976; Schönherr y col., 1979). En este caso es importante el peso molecular, tamaño de la cadena, así como la linealidad o ramificación de la molécula (Nordby y Nagy, 1977; El-Otmani Y Coggins, 1985 a y b; El-Otmani y col., 1987).

Factores que Afectan la Composición y Metabolismo de los Lípidos Solubles Cuticulares

Genéticos.- Variedades y tipos de frutos (El-Otmani y col. 1987 y 1989).

Bioquímicos.- Niveles de malonil-CoA y Acetil-CoA carboxilasa, pH, Oscuridad, Concentración de ADP, Mg^{2+} y O_2 (Harwood, 1988).

Anatómicos.- Estructura del fruto (Espelie y col., 1979).

Fisiológicos.- Grado de desarrollo y estado de madurez del fruto (Nordby y Nagy, 1977; El-Otmani y Coggins, 1985 a y b; El-Otmani y col., 1987; Báez, 1991).

Topofísicos.- Posición del fruto en el árbol (El-Otmani y col., 1987 y 1989).

Prácticas culturales.- Aplicación de tratamientos hormonales, fertilizantes e insecticidas (El-Otmani y Coggins, 1985 a y b; El-Otmani y col., 1987 y 1989).

Condiciones ambientales.- Temperatura, humedad relativa, lluvias, vientos (Weete y col., 1978; Albrigo, 1986).

Manejo postcosecha.- Temperaturas y humedades relativas empleadas durante el

almacenamiento o transporte de los frutos, tipo de lavado y limpieza, uso de tratamientos alternativos como atmósferas modificadas y controladas (Schulman y Monselise, 1970).

Caracterización de la Enzima Poligalacturonasa

La poligalacturonasa (PG), es una enzima relacionada a la degradación de la pared celular y por lo mismo se le asocia con el ablandamiento del tejido de los frutos (Tigchelaar y col., 1978 a y b; Tucker y Grierson, 1982; Klee, 1993). Su acción es considerada como la etapa limitante del ablandamiento (Hobson, 1965). La presencia de la PG se detecta al inicio de la maduración comercial (Tucker y Grierson, 1982).

Existen 3 tipos de isoenzimas de PG: PG1, PG2A y PG2B (Fisher y Bennett, 1991). Durante el proceso de maduración comercial de la fruta de tomate, primero se acumula PG1 seguida por la acumulación de PG2A y PG2B (Fisher y Bennett, 1991). PG1 posee un alto peso molecular, comparada con las otras 2 isoenzimas. A PG1 se le atribuye la solubilización de pectinas (formación de oligómeros de ácido galacturónico), y se supone no posee actividad transeliminasa, ya que su acción sobre el sustrato es al azar, más que secuencial. Por esta razón se le conoce como Endopoligalacturonasa (Hunter y Elkan, 1974; Huber, 1985; Smith y col., 1990; Fisher y Bennett, 1991).

Las isoenzimas PG2A y PG2B sólo se diferencian entre sí por el número de glucosilaciones. Se les atribuye la degradación de las pectinas solubilizadas, es decir convierten los oligómeros en unidades libres (monómeros) de ácido galacturónico, por lo que son consideradas Exopoligalacturonasas. Aparecen en los períodos tardíos de la madurez comercial y la más abundante es PG2A (DellaPenna y Bennett, 1988; Smith y col., 1990; Fisher y Bennett, 1991).

La actividad de poligalacturonasa se presenta en dos etapas. En la primera de ellas actúan la endopoligalacturonasa y en la segunda las exopoligalacturonasas. Primeramente se atacan las lamelas medias y posteriormente la pared primaria de las células (Crookes y Grierson, 1983).

Previamente a la acción de la PG, actúa la pectinmetilesterasa (PME). Se cree que el ablandamiento del fruto depende de la acción combinada y sinérgica de PME y PG. Según este modelo PME cataliza la hidrólisis de grupos metil éster de pectinas produciendo pectinas con bajo grado de metilación, el cual es sustrato para PG (Tucker y col., 1980, Villarreal, 1989; Giovane y col., 1994).

Se conocen tres isoenzimas de PME (PME1, PME2 y PME3). Se ha propuesto que PME2 y PME3 actúan en estados tempranos de la maduración comercial demetilando un alto porcentaje de pectinas. Una vez logrado esto el pH baja, lo cual inhibe a las dos isoenzimas de PME mientras que favorece la acción de PG. Al disminuir la concentración de pectinas por la acción de PG, PME1 encuentra un medio favorable para su actividad y continúa demetilando pectinas. El grado de actividad calculado para PME1, PME2 y PME3 fue de 33%, 27% y 40% respectivamente (Giovane y col., 1994)

Otro factor que parece estar asociado con la actividad de PME y PG es el calcio. El calcio se localiza principalmente en la pared celular del tejido del fruto al igual que las enzimas pécticas PME y PG. Durante su acción PME requiere de calcio, mientras que PG es inhibida por concentraciones menores de 10^{-7} M. Una vez que actúa PME se da un movimiento de calcio fuera de la pared celular hacia el citoplasma y esto en conjunto a la acción de PG producen el ablandamiento del fruto. El calcio también estimula la síntesis de

etileno. En este contexto el calcio puede ser un estímulo primario en el disparo del proceso de madurez comercial, con la acción de PG y etileno como controles secundarios (Rigney y Wills, 1981).

De acuerdo a algunos autores, la PG se incrementa durante la maduración comercial, mediante síntesis de novo (Tucker y Grierson, 1982; Themmen y col., 1982; Dellapenna y col., 1986; Bird y col., 1988). La síntesis de PG en tomate se inicia cuando se da un pequeño aumento en la concentración de etileno endógeno, el cual activa transcripcionalmente el gen de PG. Este gen ya activo encoda al polipéptido precursor de PG (ya existente, con PM de 54 KD) y se acumula el RNA mensajero, así como las proteínas que intervienen en la síntesis. Finalmente el gen de PG alcanza su máxima expresión formando las primeras moléculas de PG (DellaPenna y Bennett, 1988; Zheng y col., 1992).

La isoenzima primeramente formada es la PG1 y se cree consiste de 1 ó 2 polipéptidos catalíticos (precursores) fuertemente asociados con una glicoproteína auxiliar a la que se le conoce como convertidor o subunidad β de la PG (DellaPenna y Bennett, 1988; Zheng y col., 1992). Al convertidor o subunidad β de la PG, se le asocian funciones como la de localizar el sitio de acción de la enzima, así como la de regulación de su actividad para sitios específicos (la inactiva en el transporte del retículo endoplásmico a la pared celular) (Huber, 1985; Zheng y col., 1992).

El convertidor pesa de 37-39 KD y se constituye de 71 aminoácidos, 25 de los cuales actúan como péptido señal, y son caracterizados por una región N-terminal corta y positivamente cargada, un centro fuertemente hidrofóbico y una región siguiente al centro la cual es más polar que los restantes 46 aminoácidos que están unidos al sitio divisorio

(Sheehy y col., 1987; Zheng y col., 1992).

Las isoenzimas PG2A y PG2B son formadas por cambios post-translacionales del polipéptido precursor, donde primeramente se remueven los primeros 25 aminoácidos del convertidor y posteriormente los 46 restantes (Sheehy y col., 1987).

La formación de la PG se da en el retículo endoplásmico rugoso y de aquí es secretada hacia la pared celular, donde va a actuar (Crookes y Grierson, 1983; DellaPenna y Bennett, 1988).

La carencia de actividad de PG en frutos mutantes *rin* y *nor*, no se conoce si es debida a una mutación en un gen estructural que conduzca a la síntesis de una forma defectuosa de PG, o si sea por mutación en un gen regulatorio (Tucker y Grierson, 1982). Al respecto lo único que se sabe es que la expresión del gen de PG es regulado por el nivel de RNA mensajero formado. En frutos mutantes se han detectado cantidades muy bajas de RNA, en frutos *rin* la formación de RNA mensajero es de aproximadamente 0.5% de la cantidad normal (DellaPenna y col., 1989; Schuch y col., 1989).

En otros estudios realizados en frutos de tomate mutantes construidos a partir de genética reversa (clonación de genes mutantes naturales, espontáneos), se ha encontrado que la expresión del gen de poligalacturonasa es independiente del etileno, ya que aunque se produce etileno en cantidades muy pequeñas, se expresa una gran cantidad de mRNA de PG, fallando la etapa de acumulación del polipéptido, lo cual sugiere que el etileno puede controlar la translatabilidad del mRNA de PG o bien la estabilidad del polipéptido de PG (Theologis y col., 1992).

Posible Relación entre Actividad de Poligalacturonasa y Cambios en las Características Cuticulares

Realmente resulta difícil establecer un mecanismo específico por medio del cual se puedan relacionar la composición y propiedades cuticulares con la actividad de PG, como lo establecieron Tigchelaar y col., (1978 a).

Sin embargo, la relación se puede establecer a través del rol que juega PG en la pérdida de compartimentalización celular, pues a partir de este fenómeno PG libera enzimas que de alguna manera se asocian con el transporte o deposición de lípidos cuticulares. En tejidos de plantas de arábido, fue localizada en la pared celular una proteína que se encarga de la transferencia de lípidos y es conocida como LTP. Debido a que dicha enzima sólo se encuentra en células epidérmicas, se ha especulado que puede jugar un rol en el transporte de monómeros de cutina a través de la matriz extracelular a sitios de formación de cutina. Se considera que por su ubicación en el exterior de la membrana plasmática y por su naturaleza, las LTPs son proteínas secretoras de material lipofílico como lípidos y compuestos fenólicos (Thoma y col., 1994).

Esto resulta importante mencionarlo, ya que, aunque no se conoce como se lleva a cabo el movimiento de lípidos desde la estructura subcelular donde se producen, al sitio donde se van a depositar o utilizar; se tienen evidencias de que el intercambio lipídico requiere de intercambio proteico para realizarse (Harwood, 1988).

Como se ha mencionado anteriormente los primeros cambios en la madurez del tomate se inician internamente (a nivel locular), y al respecto se sabe que la PG juega un papel muy importante porque ayuda a disparar dichos cambios. Sin embargo, durante este

proceso la acumulación de RNA mensajero de PG y la síntesis de PG no se inician en la región locular al igual que el etileno, sino en la columella central, posteriormente cuando se da el cambio de color de verde a rojo (estado breaker) perceptible en la piel del fruto, la actividad de PG incrementa en la región externa del pericarpio conocida como exocarpio o exopericarpio (que incluye la piel) y finalmente en el endocarpio (Huber, 1985; Ling y col., 1984; Tieman y Handa, 1989).

Mientras que el etileno inicia su acción en las células más internas del tejido del tomate, la PG muestra una tendencia a iniciar su actividad en las células más externas, es decir, la acción de PG no muestra una continuidad a ir incrementando de manera gradual a través del tejido interno hacia el externo, sino en forma irregular del tejido interno pasa al más externo cuando los cambios de la madurez comercial empiezan a ser visibles, y posteriormente vuelve a los tejidos internos.

Curiosamente, la síntesis de los lípidos cuticulares y demás componentes de la cutícula, se inician en las células internas del tejido del fruto y comienzan con la síntesis de ácidos grasos; después continúan su transformación en compuestos como alcanos, alcoholes grasos y ésteres grasos, entre otros, en las células más externas del tejido del fruto denominadas epidérmicas (Kolatukey, 1968; Pantástico, 1979).

Es conocido que la síntesis de PG se termina en el retículo endoplásmico rugoso. Aunque la síntesis de los ácidos grasos (primeros componentes de cutícula que se forman), se realiza en los cloroplastos de células del tejido interno del fruto. Los ácidos grasos son transportados al retículo endoplásmico de las células epidérmicas y es el lugar donde terminan su transformación para inmediatamente ser transportados a la cutícula (Harwood,

1988).

Como se mencionó anteriormente, es muy difícil establecer una relación específica entre las características cuticulares y la actividad de poligalacturonasa, no sólo porque no existen estudios al respecto, sino también porque no se conoce completamente sobre la actividad de PG en el metabolismo del fruto. En lo referente a cutículas, tampoco se cuenta con estudios completos, acerca de su composición y propiedades en frutos u hortalizas de gran importancia comercial como es el tomate.

3 variedades con

MATERIALES Y METODOS

Para la realización de este trabajo se efectuaron muestreos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), los cuales fueron cultivados en la zona productora del valle de Culiacán, Sinaloa.

Los muestreos se efectuaron durante los meses de Enero a Mayo de 1994 y consistieron en cosechar frutos correspondientes a tres variedades de tomate. Una variedad normal conocida como "Market pride" y los híbridos 124 con el gen *rin* y el S-69 con el gen *nor*. Las variedades híbridas pertenecían a la generación F₁. Los tomates normales se cosecharon en estado verde maduro, mientras que los híbridos en estado cambiante, de acuerdo a las normas de calidad y estandarización establecidas por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (1991).

Los frutos obtenidos fueron trasladados al Departamento de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD, A.C.) en la ciudad de Hermosillo, Sonora; para posteriormente ser almacenados a 20°C simulando condiciones de mercadeo. Las evaluaciones químicas, fisiológicas y físicas se realizaron cada 3 días por un período de 21 días, con excepción de la tasa respiratoria, producción de etileno y pérdida de peso las cuales se evaluaron cada 2 días por un período de 44 y 26 días respectivamente. Los análisis se realizaron por triplicado a partir de 3 frutos. Únicamente en el caso de pérdida de peso se emplearon 6 frutos los cuales se enumeraron para dar seguimiento a esa variable en los mismos frutos.

Evaluaciones Químicas

Extracción y Cuantificación Total de Ceras Epicuticulares

Para la extracción de estas ceras se empleó la metodología propuesta por Riederer y Schneider, (1990). Tres frutos fueron sumergidos en 200 ml de cloroformo a 45°C durante 1 minuto. Las disoluciones de cloroformo se filtraron con papel Wathman No.1 y se evaporaron a un volumen aproximado de 5 ml que se transfirió a tubos previamente tarados, dejándose secar en una estufa a 55°C durante 12 horas.

El peso del residuo seco representa las ceras epicuticulares totales de los frutos, las cuales se expresan como μg por unidad de área del fruto (cm^2), calculada según la fórmula $4\pi(D/2)(A/2)$, considerando al mismo como un obloide de diámetro (D) y altura (A).

Extracción de Cutículas

En frutos a los que previamente se les removió las ceras epicuticulares, se extrajeron círculos de la corteza con un sacabocados de aproximadamente 0.9503 cm^2 de área, los cuales se incubaron durante 24 a 72 horas en una disolución de 1g de ZnCl_2 con 1.7 ml de HCl concentrado, agitándose 2 a 3 veces durante este tiempo. Las cutículas aisladas se lavaron varias veces con agua destilada y posteriormente con ácido bórico (H_3BO_3) al 2% durante 24 horas con varias agitaciones. Para eliminar el resto de materia orgánica adherida a ellas, las cutículas se lavaron nuevamente con agua destilada y se colocaron en tubos previamente tarados, incubándose a 55°C durante 12 horas (Freeman y col., 1979; Schönherr y Riederer, 1986).

Extracción y Cuantificación Total de Ceras Intracuticulares

En la extracción de las ceras intracuticulares se emplearon cutículas aisladas, las cuales se incubaron a un volumen apropiado de cloroformo (200µl por cm² de cutícula), en un baño de agua a 80°C durante 30 minutos. La disolución de cloroformo se filtró en papel Wathman No. 1 y se incubó en tubos prepesados en una estufa a 55°C durante 12 horas. Una vez seco el residuo, los frascos se volvieron a pesar, determinándose el total de cera extraída por área de cutícula expuesta (µg/cm²). El área de la cutícula se calcula multiplicando el número de cutículas extraídas por el área de cada cutícula (Riederer y Schneider, 1990).

Identificación y Cuantificación de las Fracciones de Ceras Epicuticulares e Intracuticulares

Para la identificación y cuantificación de ceras epicuticulares, el residuo seco se disolvió en un volumen apropiado de cloroformo, diluyendo la disolución al 1% (peso/volumen).

2 µl de la disolución se inyectaron en un cromatógrafo de gases Varian Star modelo 3400 CX, equipado con un detector de ionización de flama (DIF) y con una columna semicapilar de 30 m de largo por 0.53 mm de diámetro interno, rellena de CP-sil 5 CB (5% de metil fenil silicona) con un tamaño de poro de 1.5 micrones (Jandw Scientific). El programa de temperaturas utilizado para separar los compuestos fué el siguiente: La temperatura de inyección fue a 99°C durante 1 minuto, posteriormente se incrementó a 250°C a una velocidad de 5°C por minuto y al alcanzar ésta temperatura se mantuvo durante 1 minuto; finalmente subió hasta 300°C a una velocidad de 4°C por minuto permaneciendo

así durante 5 minutos. Se utilizó nitrógeno como gas transportador a un flujo de presión de 40 libras por pulgada cuadrada (Psi). Las fracciones identificadas fueron alcanos y alcoholes grasos.

Debido a la baja respuesta de los ácidos n-alcanoicos en el detector de ionización de flama, éstos se transformaron en sus respectivos ésteres de trimetilsilyl, por reacción con N,N-bis-Trimetilsilyl trifluoroacetamida en piridina seca (Sigma). Se utilizaron 100 μ l de la disolución de cloroformo al 1%, que se secaron a corriente de nitrógeno, hasta una disolución que contenía 1 μ g de ceras. A dicha disolución se le agregaron 99 μ l de N,N-bis-Trimetilsilyl trifluoroacetamida y se dejó reaccionar durante dos horas a temperatura ambiente. La identificación y cuantificación de los ácidos grasos correspondientes se realizó con las condiciones mencionadas anteriormente.

La identificación de los distintos componentes de las ceras epicuticulares e intracuticulares se realizó comparando los tiempos de retención en las muestras con estándares conocidos. La cuantificación se realizó utilizando las ecuaciones de regresión, obtenidas al comparar las áreas de los picos en un rango de concentraciones conocidas de los diferentes componentes. Las concentraciones se expresaron como μ g/cm² (Báez, 1991).

Acidez Titulable, pH y Sólidos Solubles Totales

Para estas determinaciones se empleó un extracto que se obtuvo licuando 10 g de muestra con 50 ml de agua destilada previamente neutralizada, filtrando através de una tela de lino (A.O.A.C., 1990).

La acidez titulable se determinó tomando alicuotas de 50 ml del extracto, las cuales fueron valoradas con una solución de NaOH 0.1 N en un titulador automático Mettler modelo DL21. Los resultados se expresaron como porcentaje de ácido cítrico presente en la muestra.

La determinación de pH se realizó directamente en el titulador automático previa lectura de acidez titulable.

Para la determinación de sólidos solubles totales expresados como °Brix, se colocó una gota del extracto en un refractómetro tipo Abbe (American Optical Co.) modelo 10450 con control de temperatura a 20°C, previamente calibrado con agua destilada.

Evaluaciones Fisiológicas

Tasa Respiratoria

Los frutos fueron colocados individualmente en jarras de plástico con una capacidad de 2 litros. Estos frascos fueron sellados y posteriormente se conectaron en un tren de respiración con flujo constante de aire húmedo, libre de CO₂ y etileno. Después de una hora de equilibrio se tomaron muestras del aire del tubo de salida utilizando una jeringa hipodérmica de 1 ml y se inyectó a un analizador de gas infrarrojo (Horiba PIR-2000) con flujo de nitrógeno como gas acarreador (Saltveit y Sharaf, 1992).

Para la cuantificación de CO₂ se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{ml CO}_2/\text{Kg-h} = (\text{L1} \times \text{C} \times \text{F})/(\text{L2} \times \text{P})$$

donde:

L1 = altura de la muestra

C = concentración de la fracción estándar

F = flujo ml/h

L2 = altura del estándar

P = peso de la muestra

Producción de Etileno

La determinación de etileno se realizó de la misma forma que la tasa respiratoria, la única diferencia fue que la inyección se hizo en un cromatógrafo de gases Varian Star modelo CX equipado con detector de ionización de flama (DIF) y con una columna metálica rellena con 8% de cloruro de sodio en alumina activada con un tamaño de poro de 80-100 mesh (Ward y col., 1978 modificada por Klee, 1993).

La fórmula utilizada para su cuantificación fue la misma que para el caso anterior, con la única diferencia de que el etileno se reporta en μl de etileno/Kg-h.

Permeabilidad de Cutículas

Círculos de cutículas de 1.1309 cm^2 de área extraída, se colocaron en láminas de teflón cubriendo orificios de 0.3318 cm^2 . Las cutículas se adherieron al teflón utilizando silicona líquida alrededor de los orificios, cuidando que no quedara ningún hueco entre el teflón y las cutículas. Las láminas de teflón (con 4 orificios) con las cutículas pegadas, se montaron sobre cajas petri de plástico de 5 cm de diámetro a las que previamente se le habían añadido 5 ml de agua destilada. Las láminas de teflón con las cutículas se sellaron

herméticamente a las cajas petri con silicona líquida y pinzas de presión, evitando totalmente la evaporación de agua por alguna fisura del sistema (Figura 3).

Las cutículas montadas en dicho sistema experimental se incubaron a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ y se pesaron a intervalos de una hora durante 8 horas, determinándose de esta forma la pérdida de vapor de agua a través de la cutícula (aproximadamente el 0.1% del peso inicial). Los datos se expresan como mg de agua pérdida en forma de vapor por cada cm^2 de cutícula expuesta (Geyer y Schönherr, 1990 modificada por Báez, 1991).

Actividad Enzimática de Poligalacturonasa

Para la obtención del extracto enzimático, se homogenizaron durante 1 minuto en una licuadora 100 g del pericarpio de tomate parcialmente descongelado con 300 ml de bisulfito de sodio al 1% pH 6. El homogenizado se filtró en 6 capas de tela de organza y el residuo fue lavado y filtrado nuevamente con 300 ml de bisulfito de sodio. El residuo resultante se mezcló con 150 ml de una solución de NaCl 1M. El pH se ajustó a 6 utilizando NaOH 1N, y la pasta se agitó durante 3 horas a una temperatura de 4°C (temperatura a la que se llevo a cabo todo el proceso) (Gross, 1982).

Al finalizar el tiempo de agitado la suspensión se filtró en 6 capas de tela organza y el filtrado se centrifugó a una velocidad de 9000g por minuto (aprox. 7500 rpm) durante 15 minutos utilizando una centrifuga refrigerada con vacío Beckman modelo J2-21. Se tomó una alícuota del sobrenadante de 2.5 ml y se desaló en una columna Sephadex G-25 (volumen de 10 ml), previamente equilibrada con buffer de acetato de sodio 50mM pH 4.4 (Gross, 1982).

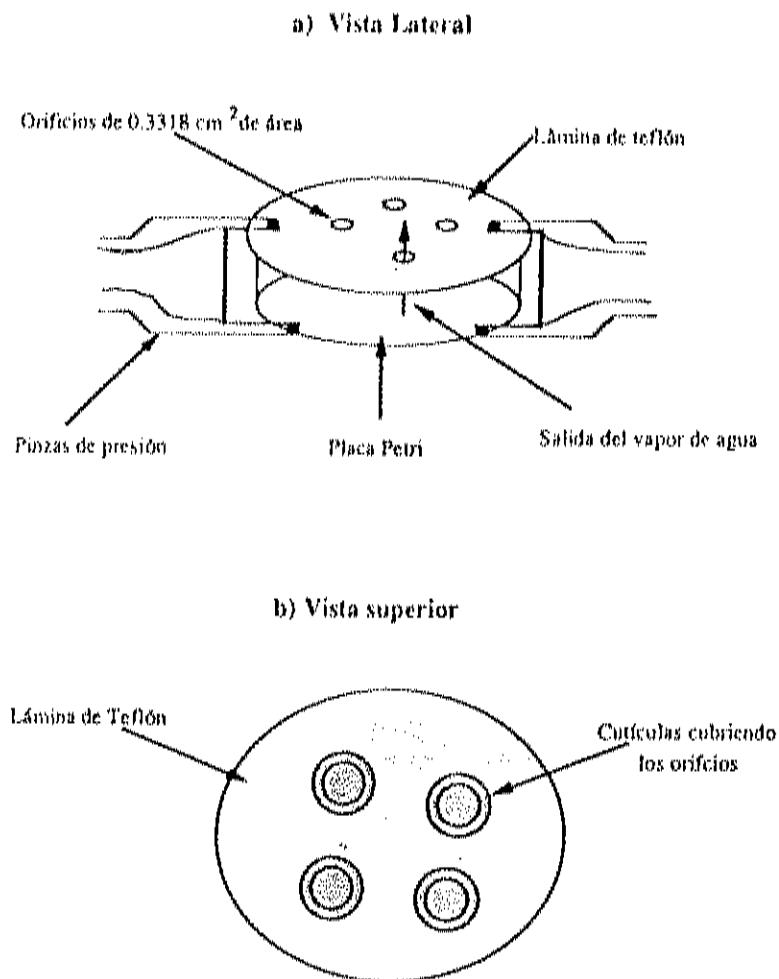


Figura 3.- Sistema experimental utilizado para la determinación de la permeabilidad de las cutículas aisladas.

El ensayo de actividad de poligalacturonasa se llevó a cabo en 250 μ l del extracto enzimático desalado, al cual se le agregaron 750 μ l de buffer de acetato de sodio 37.5 mM pH 4.4 y 2 mg de ácido poligalacturónico previamente lavado en etanol al 80% (filtrado al vacío y secado a temperatura ambiente). Esta mezcla de reacción fue incubada a 30°C durante 2 horas en agitación continua en un mezclador de alícuotas Thermolyne Speci-Mix modelo M26125 (Pressey y Avants, 1973; Gross, 1982).

Una vez concluida la reacción enzimática la mezcla de reacción se centrifugó en una centrifuga IEC modelo Centra-4B, con la finalidad de separar el ácido galacturónico formado del resto de sustrato que no reaccionó (ácido poligalacturónico). Para la cuantificación del ácido galacturónico se tomaron 200 μ l del sobrenadante y se le añadió 1 ml de buffer de borato 100 mM y 200 μ l de una solución al 1% de 2-cianoacetamida. Las muestras se colocaron en un baño de agua a 100°C durante 10 minutos y posteriormente se enfriaron a temperatura ambiente para ser leídas en el rango ultravioleta a 276 nm contra un blanco de reacción que contenía 200 μ l de agua destilada en lugar de ácido galacturónico. La lectura se efectuó en un espectrofotómetro UV/Vis Perkin-Elmer modelo Lambda 3A utilizando celdas de cuarzo sílica con una capacidad de 1.5 ml.

Para calcular el número de grupos reductores de ácido galacturónico formados, se preparó una curva estándar que contenía de 2.5 a 250 nmoles de ácido galacturónico en un volumen total de 0.2 ml (Gross, 1982).

Para reportar actividad enzimática se determinó el contenido de proteína de cada extracto. Se utilizó el método de Bradford (1976), que usa como colorante el azul de comassie (Sigma Chem. Co.) y albúmina de suero de bovino (BSA) como estándar. Para la

cuantificación de proteína se realizó una curva estándar que contenía de 0.7812 a 50 μg de BSA en un volumen total de 0.1 ml de buffer de NaCl 0.15 M.

Evaluaciones Físicas

Color

Considerando que la maduración del tomate se inicia internamente y que uno de los primeros cambios visibles que se presentan cuando ésta inicia, es el color, se determinó el color interno y externo de los frutos midiendo las coordenadas L, a y b en dos puntos de la zona ecuatorial interna y externa de los frutos. Los frutos fueron divididos en dos partes desde la zona peduncular a la estilar. Para dichas determinaciones de color se utilizó un colorímetro Miniscan Hunter Lab modelo MS/B-2500L. De las lecturas de coordenadas se obtuvieron los siguientes parámetros:

Tono o color verdadero (Hue).- Se obtiene como el $\text{arcTan } b/a$, el cual es un ángulo que varía de 0 a 360°. Un ángulo de 0 o 360° corresponde a un color rojo, un ángulo de 90° a un color amarillo, 180° (-90°) a verde, 270° (-180°) a un color azul y pasa de negro a rojo en 360°.

Pureza del color (Croma).- Se obtiene como $(a^2 + b^2)^{1/2}$, que oscila entre valores de 0 a 60, donde valores bajos de croma representan colores grisáceos (impuros) mientras que valores altos representan colores puros.

Luminosidad (L).- Es el promedio de los valores de L. Sus valores oscilan entre 0, que representa colores negros u opacos a 100, que representa a colores blancos o de máxima brillantéz.

Los valores de Hue se comportan como una variable independiente, mientras que croma y L son variables dependientes de ella (Thai y col., 1990).

Firmeza

Se evaluó la firmeza utilizando un penetrómetro Chatillon modelo DFG-50 (Jhon Chatillon Sons, Inc., New York, N. Y.), con un punzón de 10 mm de diámetro para medir la fuerza necesaria para penetrar el pericarpio del fruto, habiéndose removido previamente la porción de piel en el área de medición y evitar de esta forma las propiedades de la piel como un factor de la firmeza. Los resultados fueron expresados en Kg-f (Bourne, 1980; Al-Falluji y col., 1982)

Pérdida de Peso

Para la evaluación de la pérdida de peso, se efectuó un seguimiento del peso del fruto durante su maduración, haciendo uso para ello de una balanza digital Mettler PE 2000 (Mettler Instrument Corp. Hightstown/NY).

Contenido de Humedad

El contenido de humedad de los frutos de tomate fue evaluado utilizando 15 gramos de tejido fresco, los cuales se secaron en una estufa a una temperatura de 70 a 75 °C durante 12 horas.

Peso de Cutículas

El peso de las cutículas se determinó a partir de cutículas aisladas que habían sido colocadas en tubos prepesados y posteriormente secadas en una estufa a 55°C durante 12

horas según el método de Freeman y col,(1979) el cual fue descrito dentro de las evaluaciones químicas.

Contenido de Cutina

El contenido de cutina se determinó por diferencia del peso cuticular y contenido de ceras intracuticulares totales.

Grosor de Cutículas

A secciones de cutículas aisladas correspondientes a diferentes estados de madurez, se les determinó el espesor utilizando un Micrómetro Mitutoyo graduado con una precisión de milésimas de pulgada.

Diseño Experimental

Se empleó un diseño completamente al azar en donde los tratamientos fueron las variedades de tomate empleadas (variedad normal, híbridos *rin* y *nor*), que se compararon estadísticamente para cada período bajo condiciones de mercadeo (0, 3, 6, 9, ...Hasta 21 días y 0, 2, 4 ... Hasta 26 días) con el objeto de establecer los efectos principales de las variedades de tomate en el desarrollo del proceso de madurez comercial. Después de realizado el análisis de varianza se aplicó la prueba de Tukey de rangos múltiples ($p < 0.05$), para su correspondiente comparación de medias.

Se efectuó también una matriz de correlaciones de Pearson entre todas las variables estudiadas con la finalidad de establecer la posible relación de las características cuticulares con la actividad de la enzima poligalacturonasa dentro del proceso de madurez comercial.

RESULTADOS Y DISCUSION

Tasa Respiratoria y Producción de Etileno

Los frutos de tomate híbridos con los genes *rin* y *nor* mostraron una mayor y más rápida actividad respiratoria, que los frutos normales. A los cuatro días bajo condiciones de mercadeo, los frutos híbridos lograron su valor más alto, el cual fue de 43 ml CO₂/Kg-h, mientras que en los frutos normales, éste fue de 25.43 ml CO₂/Kg-h a los seis días (Figuras 4 y 5). Este resultado es realmente importante debido a que en la literatura se ha encontrado que los tomates híbridos con genes mutantes *rin* y *nor* muestran tasas respiratorias menores y en algunas ocasiones similares a la de los frutos normales, pero nunca mayores. Al respecto Tigchelaar y col., (1978 b), han reportado que en los híbridos F1 el gen mutante *rin* no tiene ningún efecto en la magnitud respiratoria, pues ésta permanece dentro del mismo rango que los frutos normales, la cual varía de 12 a 30 ml CO₂/Kg-h, mientras que en los híbridos F1 con el gen mutante *nor* la tasa respiratoria se reduce aproximadamente en un 50% de lo normal.

De acuerdo al comportamiento respiratorio observado en la Figura 4 (incremento notable de la producción de CO₂), los frutos híbridos se clasificarían como climatéricos al igual que los normales. Sin embargo, dicho comportamiento puede atribuirse por una parte al hecho que al ser removidos de la planta y ser sometidos a condiciones de mercadeo, dicho incremento en CO₂ podría ser una respuesta al cambio; aunque por otra parte puede atribuirse a los diferentes estados de madurez en que fueron cosechados los frutos. Uno de los criterios para la cosecha de los frutos se basa en el comportamiento

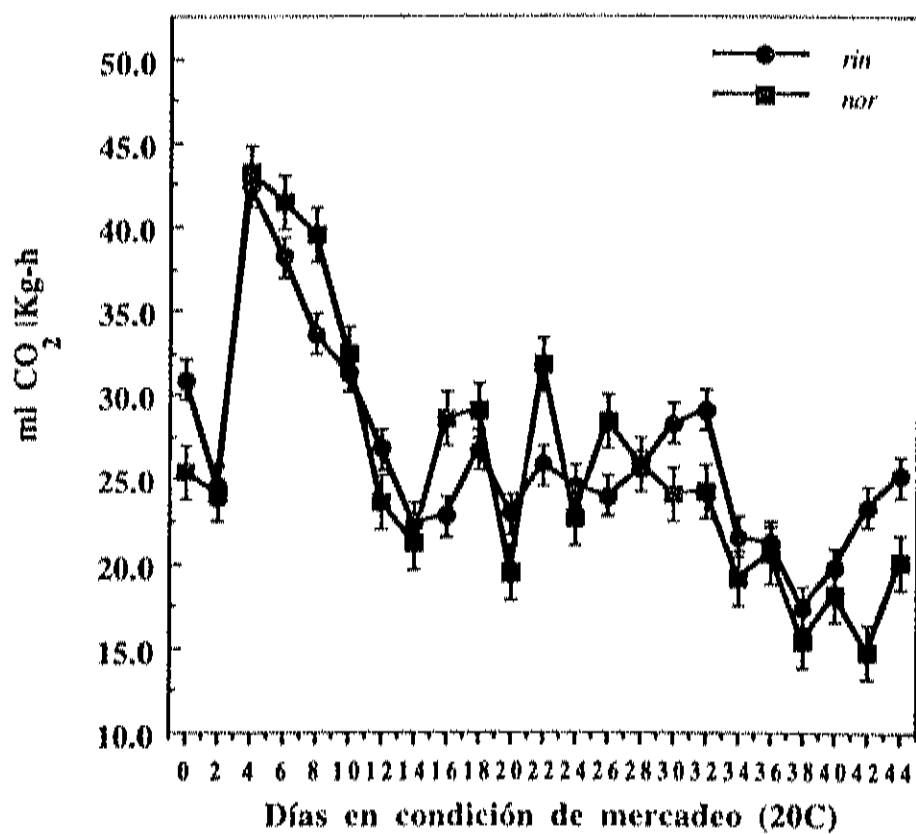


Figura 4.- Comportamiento respiratorio como producción de CO₂ en frutos de tomate híbridos con los genes mutantes *rin* y *nor*.

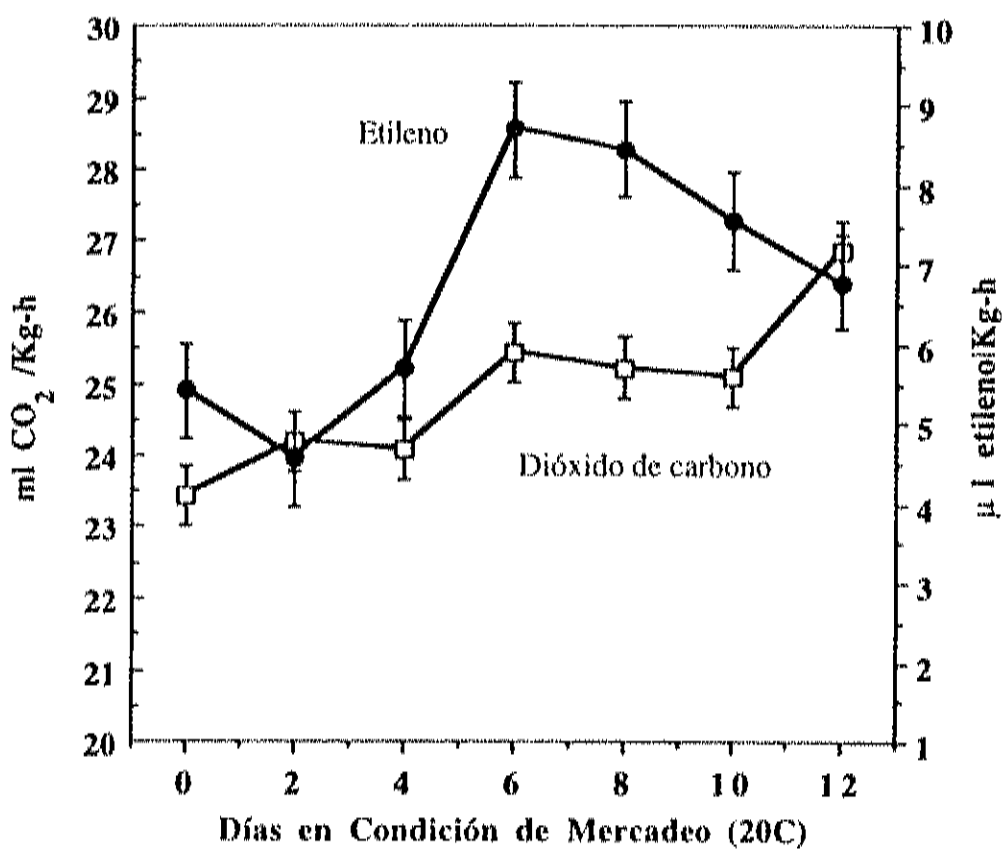


Figura 5.- Comportamiento respiratorio como producción de CO₂ y etileno en frutos de tomate normales.

respiratorio; normalmente un fruto climatérico es capaz de continuar con el proceso de madurez comercial si es removido de la planta cuando está fisiológicamente maduro (estado verde maduro), mientras que un fruto no climatérico sólo es capaz de ello si se corta una vez iniciada la madurez comercial, lo cual se denota por el cambio en color (estado cambiante). Según Tigchelaar y col., (1978 a), las variedades mutantes puras *rin* y *nor* presentan un comportamiento respiratorio no climatérico, razón por la cual son cosechadas en estado de madurez cambiante; mientras que las variedades normales son cosechadas en estado verde maduro por ser climatéricas. Los híbridos F1 con los genes mutantes *rin* y *nor* aquí estudiados presentaron un comportamiento respiratorio al parecer "climatérico" al ser cosechados en estado cambiante. Sin embargo, en estudios realizados en estas mismas variedades en el estado verde maduro, el comportamiento respiratorio se mostró diferente, ya que a pesar de seguir presentando valores más altos que los frutos normales (en especial los híbridos "*rin*") no mostraron un climaterio (Figura 6).

En los frutos climatéricos, la tasa de respiración es mínima en la madurez y permanece más bien constante, aún después de la cosecha. Sólo cuando va a efectuarse la maduración comercial, la tasa respiratoria asciende hasta el pico climatérico y luego declina de manera lenta. Se debe reconocer que aunque en el máximo período climatérico la tasa de respiración sea notable con relación al nivel de la respiración en la postrecolección, por lo general es sólo unas cuantas veces mayor que en la respiración basal del fruto maduro y es muy pequeña en comparación con lo que se registra en un fruto joven (Pantástico, 1984).

Es importante señalar que en forma general a los frutos no climatéricos se les asocia con tasas respiratorias bajas, sin embargo algunos frutos clasificados como no climatéricos,

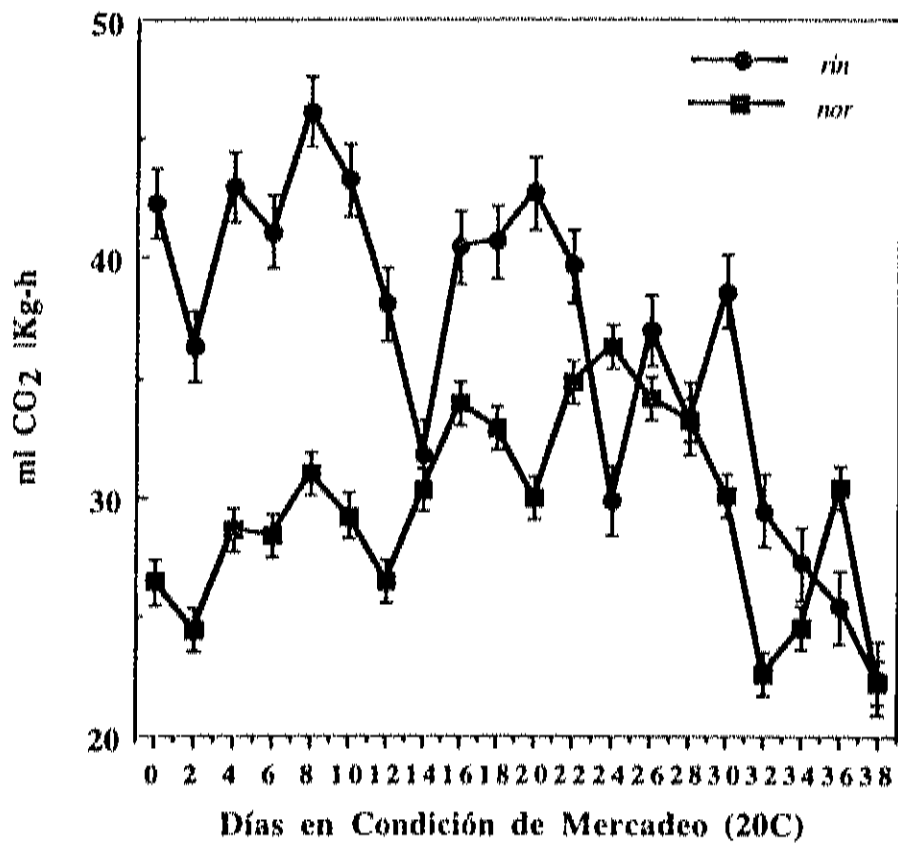


Figura 6.- Comportamiento respiratorio como producción de CO₂ en frutos de tomate con la característica *rin* y *nor* en estado verde maduro.

tales como la piña, fresa, cereza y pimientos, alcanzan niveles de producción de CO_2 similares o superiores a los reportados en frutos climatéricos como el tomate, aunque cabe aclarar el comportamiento respiratorio es diferente; esto quiere decir que en ocasiones el valor en los niveles de CO_2 no es lo importante sino su trayectoria (Friend y Rhodes, 1981).

La piña muestra un comportamiento respiratorio que se considera controversial; ya que durante su maduración presenta un incremento de CO_2 que se confunde con el climaterio, pero al examinar la evolución de la tasa respiratoria durante seis estados de madurez (con y sin etileno) se ha encontrado que el patrón respiratorio seguido por dicho fruto no es del tipo climatérico (Friend y Rhodes, 1981).

En uva, que también es un fruto no climatérico, se ha observado un comportamiento similar a la piña, ya que durante los estados tempranos de maduración presenta un incremento en respiración, el cual se asocia con los cambios en la acumulación de azúcares, pérdida de acidez, ablandamiento y cambios de color en la piel. La uva presenta una curva de crecimiento doble sigmoideal, lo cual significa que lleva a cabo dos fases de crecimiento rápido denominadas períodos I y III y una fase de lento crecimiento conocida como período II, la madurez comercial se inicia en el período III, es decir cuando su expansión celular es muy acelerada, por esta razón dicho fruto se ve en la necesidad de incrementar sus niveles energéticos en las primeras etapas de madurez comercial y muestra un incremento en la tasa respiratoria, no obstante que la producción de etileno no aumenta. Esta es la razón por la cual la uva se clasifica como no climatérica, considerándose que no tiene la capacidad de producir etileno autocatalíticamente en respuesta a la acumulación dentro de los tejidos de niveles umbrales de etileno, ya que carece del sistema 2 (Stumpf y Conn, 1980 a; Thimann,

1983).

En este sentido, se pone de manifiesto que no sólo es el aumento en respiración sino un conjunto de cambios físicos, químicos, fisiológicos y metabólicos, generalmente asociados con el incremento en la tasa respiratoria, además de las características propias del fruto, los que van a definir a un fruto como climatérico o no climatérico (Friend y Rhodes, 1981).

En base a los resultados obtenidos y apoyándonos en el hecho de que a los frutos híbridos *rin* y *nor* no se les detectó etileno (quizá porque presentaban niveles traza) se les clasifica como no climatéricos. En los frutos de tomate normales se presentó una producción de etileno que varió de 1.444 a 8.65 $\mu\text{l/Kg-h}$, siendo lo normalmente detectado de 1 a 10 $\mu\text{l/Kg-h}$, de acuerdo a Kader, (1985 b) (Figura 5).

Peso Cuticular, Contenido de Cutina y Grosor de Cutícula

El peso cuticular de los frutos normales e híbridos tendió a disminuir durante los primeros seis días bajo condiciones de mercadeo, para incrementar en el noveno día. Este incremento fue más notable para los frutos normales, pues aumentaron desde 834.79 a 2010.98 $\mu\text{g/cm}^2$, mientras que en los híbridos *rin* y *nor* los valores fueron de 1001.93 a 1241.66 y 933.88 a 1549.36 $\mu\text{g/cm}^2$ respectivamente. Al doceavo día el peso cuticular volvió a decaer, justo en el momento que los frutos normales se calificaron como comercialmente inaceptables (21 días) se dió otro incremento para el caso de la variedad normal e híbridos *nor* (Figura 7). Baker y col., (1982), reportaron pesos cuticulares de 1172 y 1231 $\mu\text{g/cm}^2$ para tomates normales de la variedad Michigan que se encontraban en estado verde maduro y rojo firme respectivamente. Tales valores, aunque más bajos que los valores

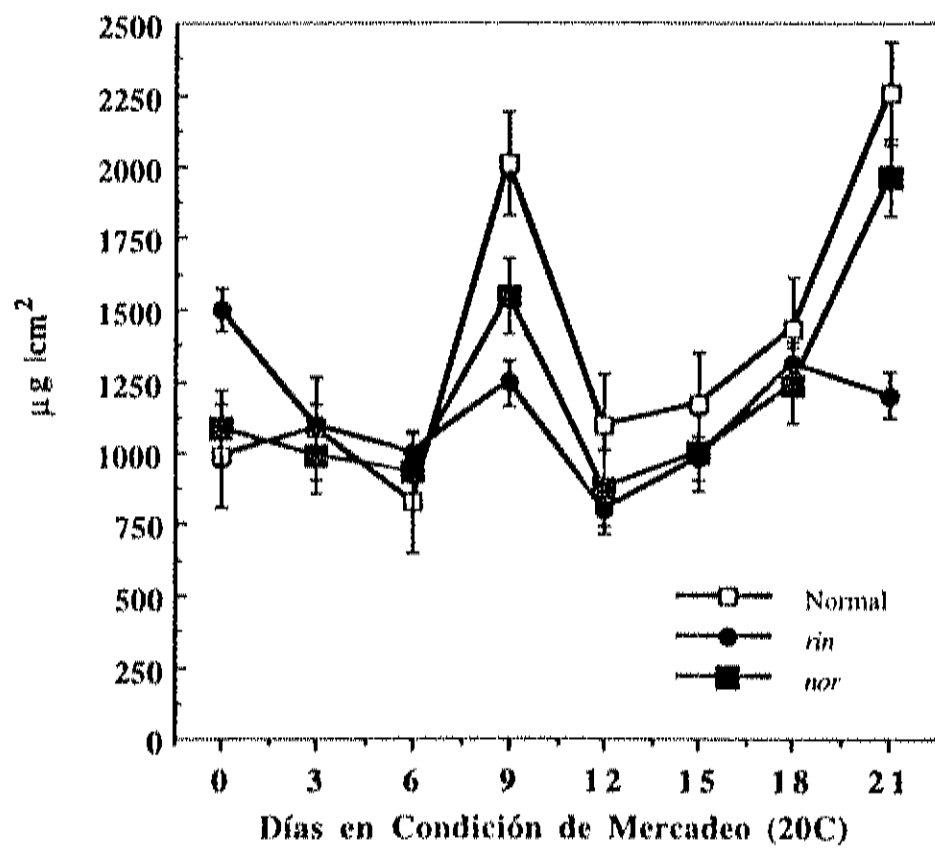


Figura 7.- Comportamiento del peso cuticular en frutos de tomate normales e híbridos con los genes mutantes *rin* y *nor*.

máximos reportados en nuestro estudio (quizá por tratarse de diferentes variedades) resultan comparables y caen dentro del rango. Además en conjunto permiten definir el comportamiento del peso cuticular a través de su maduración; de acuerdo a ello, el fruto que ha iniciado o llegado a la madurez comercial desarrolla un peso cuticular mayor que en los estados de madurez previos.

Como era de esperarse el contenido de cutina tuvo un comportamiento muy similar al peso cuticular, ya que el peso de cutícula depende en gran medida del contenido de cutina, que en tomate representa un 95% del peso total de la cutícula, mientras que el 5% restante corresponde a ceras (Petracek, 1991). El contenido de cutina de las tres variedades de tomate utilizadas en este estudio, quedó comprendido dentro de un rango de 935.96 a 1929.138 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ durante los primeros nueve días en condiciones de mercadeo, que fue cuando se alcanzó el máximo valor (Figura 8). En los tomates de la variedad Michigan para los cuales se reportó anteriormente el peso cuticular, se encontraron pesos de cutina que variaron de 962 a 929 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ en los estados verde maduro y rojo firme respectivamente. Estos valores fueron similares a los encontrados al inicio del período de mercadeo realizado en nuestro estudio, pero no denotan cambios notables al avanzar la madurez como en nuestro caso. Además, la tendencia resultó inversa, pues según los datos de Baker y col., (1982), el peso de cutina disminuyó mientras que en nuestro caso aumentó; sugiriendo que la diferencia en comportamiento se puede deber a las diferentes variedades empleadas.

El grosor de las cutículas fue similar para las tres variedades de tomate y varió poco en el transcurso del período de mercadeo, presentando valores en un rango de 18 a 20 μm . De acuerdo a Petracek, (1991), el grosor de las cutículas en los frutos generalmente varía

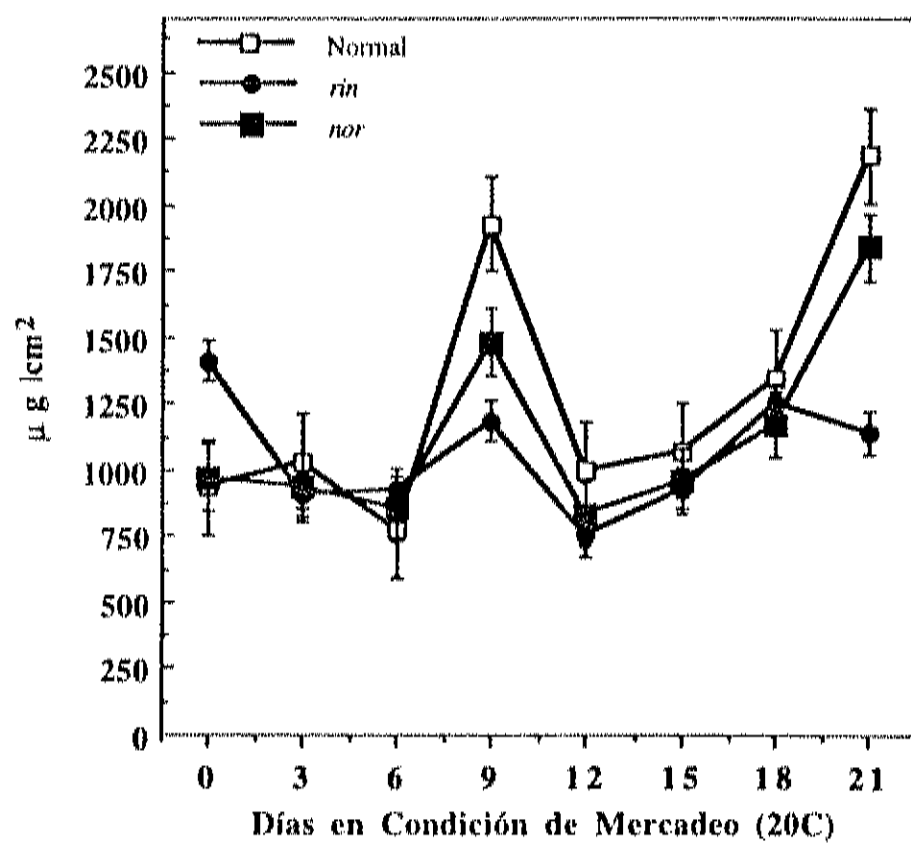


Figura 8.- Comportamiento del peso de cutina en frutos de tomate normales e híbridos con los genes mutantes *rin* y *nor*.

de 2.5 a 20 μm y de acuerdo a Chamel y col., (1991), el grosor en cutícula de tomate es de aproximadamente 18.7 μm . En base a este valor la cutícula de los frutos de tomate se clasifica como gruesa o robusta, tal como la describen Baker y col., (1982), al compararla con otros frutos distintos al tomate, pero es de similar grosor dentro de sus mismas variedades sean mutantes, híbridas o normales. Este dato es muy importante porque indica que la sensación de grosor y dureza que perciben los consumidores al comer los híbridos *rin* y *nor*, no proviene exactamente por un mayor grosor de la cutícula, ni tampoco por un mayor peso, pues -como se vio anteriormente- las cutículas de los frutos híbridos pesan menos que la cutícula de los frutos normales, lo cual sugiere otra causa. Un aspecto que se debe tomar muy en cuenta en el comportamiento, apariencia y sensación que causa la cutícula es la composición cualitativa y cuantitativa de sus constituyentes, en especial las ceras.

Contenido Total de Ceras Epicuticulares e Intracuticulares

El comportamiento en el contenido total de ceras epicuticulares fue similar para las tres variedades de tomate, éstas se incrementaron en forma continua durante los primeros 9 días en los híbridos *nor* y 12 días en los *rin* y normales bajo condiciones de mercadeo, para posteriormente decaer drásticamente, desde valores de 106.085 a 40.876, 112.099 a 32.628 y 145.27 a 53.99 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ para frutos normales, híbridos *rin* y *nor* respectivamente. Como se puede observar en estos valores, el mayor contenido de ceras epicuticulares fue para los tomates híbridos, especialmente la variedad *nor* (Figura 9). Al inicio del período de mercadeo el comportamiento en el contenido total de ceras intracuticulares fue

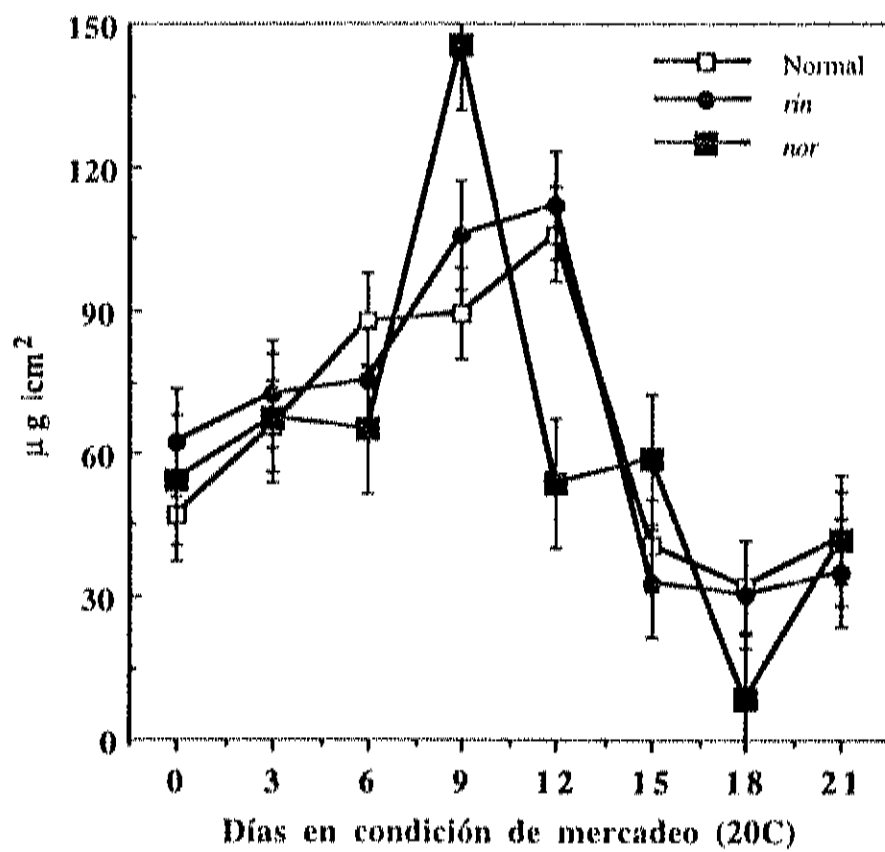


Figura 9.- Contenido total de ceras epicuticulares en frutos de tomate normales e híbridos con los genes mutantes *rin* y *nor*.

completamente opuesto al presentado por las ceras epicuticulares, ya que la tendencia en estas ceras fue a disminuir. Mientras que en los frutos híbridos disminuyeron progresivamente conforme avanzaba el tiempo de mercadeo, los frutos normales empezaron a incrementar notablemente a partir del sexto día, lo cual establece claras diferencias entre ambas variedades. Los rangos de valores en los frutos normales fueron de 54.56 a 96.45 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ y en los híbridos *rin* y *nor* de 44.30 a 89.44 y 46.03 a 110.23 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, respectivamente. El contenido total en ceras epicuticulares fue mayor al de ceras intracuticulares (Figura 10). Este resultado es congruente con algunos reportes, como el de Bukovac y col., (1971), quienes han encontrado que las ceras epicuticulares son más abundantes que las intracuticulares. En algunos frutos incluyendo algunas variedades de tomate, las ceras epicuticulares representan aproximadamente el 78% mientras que el 12% restante corresponde a ceras intracuticulares. En una variedad híbrida de tomate conocida como híbridos Michigan-Ohio se encontró que las ceras epicuticulares alcanzaban valores de 105 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, los cuales son comparables y se ubican dentro del rango estimado en nuestro estudio, en contraste las ceras intracuticulares mostraron valores muy bajos de 28 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, aproximadamente la mitad o la cuarta parte de los valores determinados en nuestro estudio (Bukovac y col., 1971).

Identificación y Cuantificación de los Componentes de las Ceras Epicuticulares e Intracuticulares

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio los componentes de las ceras cuticulares variaron en cuanto a tipo y concentración, aún dentro de una misma variedad de tomate.

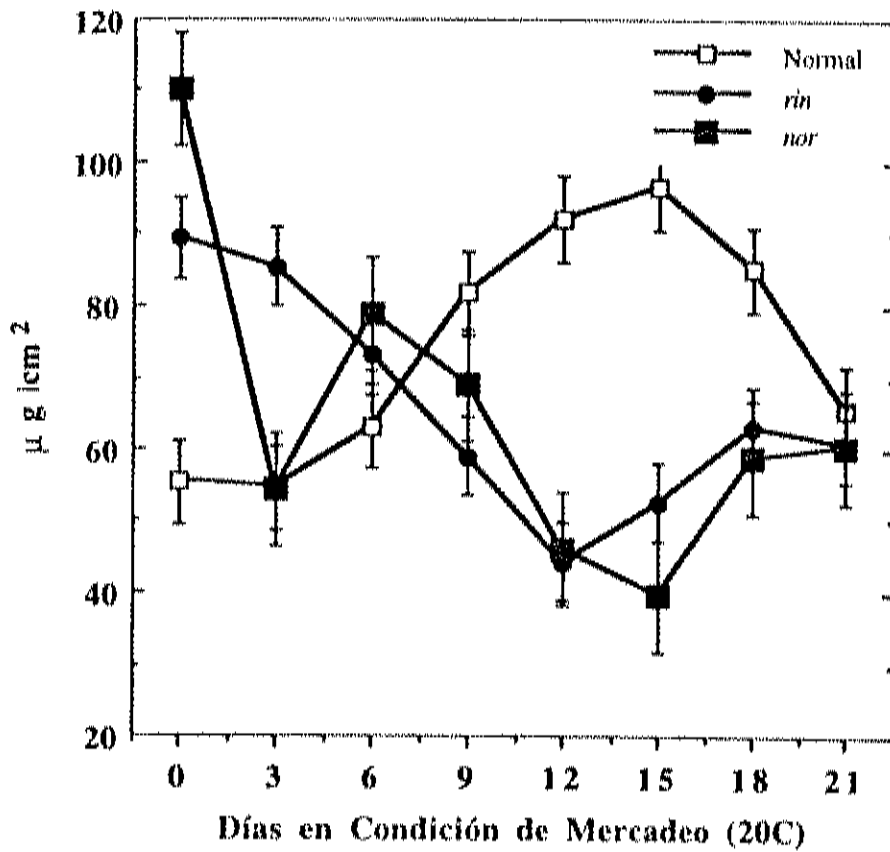


Figura 10.- Contenido total de ceras intracuticulares en frutos de tomate normales e híbridos con los genes mutantes *rin* y *nor*.

En la variedad normal se encontró que tanto en ceras epicuticulares, como en las intracuticulares la fracción predominante fueron los ácidos grasos, seguida por alcanos y en menor proporción los alcoholes grasos. Este resultado es consistente con lo reportado por Báez, (1991), quien encontró datos muy similares en las ceras epi- e intracuticulares de la piel de mandarina Clementina. Sin embargo, la concentración en que se encontraron cada uno de estos grupos de compuestos fueron diferentes para cada tipo de cera.

En las ceras epicuticulares el contenido de ácidos grasos varió de 5.734 a 33.412 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, los alcanos de 3.077 a 15.127 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ y los alcoholes grasos de 0.275 a 0.879 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (Cuadro 2). En tanto que en las ceras intracuticulares los ácidos grasos variaron de 12.059 a 39.302 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, los alcanos de 0.229 a 7.259 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ y los alcoholes grasos de 0.400 a 6.046 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (Cuadro 4). Como se puede observar los compuestos que realmente sobresalieron en las ceras epicuticulares fueron los alcanos, ya que doblaron la cantidad presente en las ceras intracuticulares. Mientras que en éstas últimas, los compuestos sobresalientes fueron los ácidos y alcoholes grasos. Las concentraciones de alcoholes grasos de las ceras intracuticulares fueron aproximadamente siete veces mayores que en el caso de las ceras epicuticulares.

Aparte de las diferencias que se encontraron entre los grupos de compuestos que constituyen a las ceras, también se ha observado que existen variaciones en relación a sus componentes individuales.

Los ácidos grasos predominantes en las ceras epicuticulares fueron los que tienen número par de carbonos en su molécula, pero fueron muy fluctuantes en cuanto la longitud de la cadena, ya que unos días predominaron los de cadena corta y en otros los de cadena

larga, no obstante el más abundante de todos fue el C_{18} seguido de C_{19} y C_{27} (Cuadros 2 y 3). En forma general se visualiza en los Cuadros 4 y 5 que en las ceras intracuticulares predominaron los ácidos grasos de cadena corta con número par de carbonos, durante casi todo el período de mercadeo; sin embargo, en los días nueve y quince predominaron los ácidos grasos de número impar de carbonos, en especial el C_{21} . Este ácido graso tuvo una concentración total ligeramente mayor al C_{18} , el cual fue el más predominante de los ácidos grasos con número par de carbonos. Otros compuestos que sobresalieron, pero con menor concentración a los anteriores fueron C_{19} , C_{20} y C_{16} .

De acuerdo a Hitchcock y Nichols, (1971) y Lehniger, (1975), los ácidos grasos de las ceras tienen una composición diferente a aquellos lípidos internos tales como fosfolípidos y glicolípidos. Los ácidos grasos se encuentran en un rango de C_{12} - C_{32} , pero los más abundantes en las ceras tienen de 14 a 22 carbonos, son saturados y con número par de carbonos. Se consideran predominantes el C_{16} y C_{18} ; sólo una pequeña porción de ácidos grasos presentan número impar de carbonos. La cutina de algunas plantas que poseen una cutícula delgada y que además son de lento crecimiento consisten de una mezcla de monómeros de ácidos grasos C_{16} y C_{18} . Sin embargo, en algunas plantas dominan los monómeros de la familia C_{18} , sólo en plantas de rápido crecimiento dominan los componentes de la familia C_{16} (Stumpf y Conn, 1980 b). Cabe aclarar que dentro de una misma planta algunos órganos presentan rápido crecimiento y otros lento; en un estudio realizado en frutos, hojas, pétalos de flores y estigma de manzana se encontró una gran diferencia en la composición de la cutina de cada uno de ellos. La cutina de los frutos mostró un 73% de monómeros C_{18} , las hojas mostraron un 45% y las partes florales de un 12 a 14%

(Espelie y col., 1979). Tomando en cuenta que existe un constante metabolismo de ácidos grasos para la formación de cutina, una fracción de ellos permanece libre y muy posiblemente pasen a formar parte de las ceras que se depositan en la superficie e interior de la cutina para formar la cutícula, es por ello que se piensa que en las ceras también abunda el contenido de monómeros C_{18} de los ácidos grasos como lo demuestran nuestros resultados.

Los alcanos que se encontraron en mayor concentración para ambos tipos de cera epicuticular e intracuticular fueron los de cadena larga y en su mayoría con número impar de carbonos entre ellos C_{33} , C_{32} y C_{29} para el caso de las primeras y C_{33} , C_{32} además de C_{25} en el caso de las últimas (Cuadros 2, 3, 4 y 5). Los alcanos de las ceras cuticulares usualmente tienen número impar de carbonos y consisten de una mezcla de C_{21} - C_{37} ; los más dominantes suelen ser el C_{29} y C_{31} , por ejemplo el C_{29} constituye más del 90% de los alcanos de manzana y el C_{31} representa una cantidad similar en *Pisum sativum*. En algunos casos el C_{27} o C_{33} son los principales componentes como sucedió para tomate en este estudio, otros alcanos raramente son encontrados como componentes dominantes de las ceras de las plantas (Stumpf y Conn, 1980 b).

Los componentes individuales que mostraron mayor diferencia entre las ceras fueron los alcoholes grasos, ya que en las ceras epicuticulares predominaron los de cadena larga, en especial con número par de carbonos, siendo el más abundante C_{26} seguido del C_{25} , mientras que en las ceras intracuticulares fue más abundante la concentración de alcoholes grasos de cadena corta e impar como el C_{19} y C_{17} (Cuadros 2, 3, 4 y 5). Aquí existe un punto por aclarar, en los Cuadros 4 y 5 correspondientes a ceras intracuticulares se observa que a partir del sexto hasta el diesochoavo día la concentración de los alcoholes grasos de cadena

Cuadro 2.- Contenido en $\mu\text{g/cm}^2$ de los componentes de las ceras epicuticulares de frutos de tomate normales.

	Días a 20°C							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Acidos Grasos								
C13	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C14	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C15	0.065	0.144	0.186	0.101	0.099	0.073	0.056	0.055
C16	0.612	0.919	trazas	0.434	0.66	0.448	0.343	0.524
C17	trazas	trazas	trazas	0.022	trazas	trazas	trazas	trazas
C18	3.492	5.224	7.279	2.977	6.12	3.103	2.077	3.12
C19	1.501	2.477	3.371	1.326	4.141	1.578	1.229	1.576
C20	1.293	1.888	2.567	1.144	2.394	1.129	0.673	1.153
C21	1.036	1.731	1.942	0.87	2.285	0.859	0.662	0.897
C22	0.45	0.702	0.813	0.372	0.971	0.374	n.d.	0.396
C23	0.434	0.627	n.d.	0.334	n.d.	n.d.	n.d.	0.373
C24	0.47	n.d.	n.d.	0.388	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C25	0.442	n.d.	n.d.	0.372	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C26	0.284	0.567	0.541	0.244	n.d.	0.289	n.d.	0.254
C27	2.018	3.96	3.446	1.213	2.683	1.634	0.694	1.386
C28	0.773	2.322	2.285	0.794	2.019	1.067	n.d.	1.049
C29	1.058	3.241	3.279	1.173	3.021	1.683	n.d.	1.38
C30	1.021	3.142	3.405	0.43	1.529	1.399	n.d.	1.689
C31	0.505	2.85	3.081	0.416	1.062	1.565	n.d.	1.397
Total	15.454	29.794	33.412	12.612	26.985	15.199	5.734	15.249
Alcanos								
C18	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C19	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C20	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C21	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C22	0.006	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C23	0.012	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C24	0.225	0.051	0.065	0.037	trazas	trazas	trazas	trazas
C25	0.379	0.635	0.335	0.150	0.087	0.046	0.511	0.095
C26	0.302	0.175	0.140	0.045	0.064	0.028	0.029	0.026
C27	0.278	0.131	0.095	0.139	0.085	0.082	0.018	0.043
C28	0.245	0.090	0.088	0.104	0.055	0.095	0.016	0.030
C29	1.201	1.252	1.059	0.368	0.489	0.565	0.349	0.639
C30	0.627	0.503	0.514	0.260	0.294	0.260	0.194	0.293
C32	1.260	1.700	2.378	0.794	2.044	1.186	0.979	1.478
C33	1.897	6.485	10.452	3.178	8.190	5.855	0.980	7.199
Total	6.431	11.021	15.127	5.075	11.307	8.116	3.077	9.802
Alcoholes Grasos								
C17	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C18	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C19	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C20	0.077	0.034	0.078	0.016	n.d.	0.026	0.013	0.025
C21	0.018	trazas	trazas	trazas	n.d.	trazas	trazas	trazas
C22	trazas	trazas	trazas	trazas	n.d.	trazas	trazas	trazas
C24	0.194	0.109	0.190	n.d.	n.d.	0.056	0.047	0.072
C25	0.238	n.d.	0.198	0.164	0.242	0.132	0.073	0.099
C26	0.350	0.240	0.414	0.202	0.412	0.221	0.143	0.238
C27	n.d.	n.d.	n.d.	0.185	n.d.	0.186	n.d.	n.d.
Total	0.876	0.384	0.879	0.616	0.654	0.621	0.275	0.434

Cuadro 3.- Contenido en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de los componentes de cadena corta y larga con número par e impar de carbonos de las ceras epicuticulares de frutos de tomate normales.

	Días a 20°C							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Acidos Grasos								
Número par de C	8.395	14.764	16.890	6.783	13.693	7.809	3.093	5.377
Número impar de C	7.059	15.030	16.522	5.829	13.292	7.390	2.641	9.872
Cadena Corta (<C ₂₂)	7.999	12.383	15.345	6.874	15.699	7.190	5.040	7.325
Cadena Larga (>C ₂₁)	7.455	17.411	18.067	5.738	11.286	8.009	0.694	7.924
Total	15.454	29.794	33.412	12.612	26.985	15.199	5.734	15.249
Alcanos								
Número par de C	2.665	2.519	3.185	1.240	2.457	1.569	1.218	1.827
Número impar de C	3.768	8.502	11.942	3.835	8.850	6.547	1.859	7.975
Cadena Corta (<C ₂₂)	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
Cadena Larga (>C ₂₁)	6.431	11.021	15.127	5.075	11.307	8.116	3.077	9.802
Total	6.431	11.021	15.127	5.075	11.307	8.116	3.077	9.802
Alcoholes Grasos								
Número par de C	0.621	0.384	0.681	0.218	0.412	0.303	0.203	0.335
Número impar de C	0.255	trazas	0.198	0.398	0.242	0.318	0.072	0.099
Cadena Corta (<C ₂₂)	0.095	0.034	0.078	0.016	trazas	0.026	0.013	0.025
Cadena Larga (>C ₂₁)	0.781	0.350	0.801	0.600	0.654	0.595	0.262	0.409
Total	0.876	0.384	0.879	0.616	0.654	0.621	0.275	0.434
Total Identificado	22.761	41.199	49.418	18.303	38.946	23.936	9.086	25.485
% del Total Extraído	48.440	62.820	56.190	20.430	36.710	58.550	27.990	59.990

Cuadro 4.- Contenido en $\mu\text{g/cm}^2$ de los componentes de las ceras intracuticulares de frutos de tomate normales

	Días a 20°C							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Acidos Grasos								
C13	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C14	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C15	0.126	0.117	0.109	0.128	0.107	0.217	0.310	0.176
C16	0.962	2.184	2.461	2.950	1.973	3.080	4.360	3.563
C17	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	0.031	0.173
C18	4.368	3.907	7.197	6.754	3.908	8.690	10.682	7.872
C19	2.433	1.766	3.694	3.736	1.719	4.436	4.882	3.840
C20	1.461	1.691	2.507	2.933	1.825	3.786	4.690	3.022
C21	n.d.	3.454	6.345	11.554	2.726	11.626	11.235	6.988
C22	0.538	0.583	0.721	0.918	0.523	n.d.	1.014	n.d.
C23	0.470	0.538	0.534	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.564
C24	n.d.	n.d.	0.653	0.851	0.450	n.d.	n.d.	0.681
C25	n.d.	n.d.	0.620	0.844	0.429	n.d.	n.d.	0.636
C27	n.d.	n.d.	0.836	1.160	n.d.	n.d.	n.d.	0.875
C28	n.d.	n.d.	0.960	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1.028
C30	n.d.	1.153	1.035	2.414	1.310	n.d.	0.897	1.535
C31	1.700	1.190	0.893	1.744	0.889	1.486	1.201	0.666
Total	12.059	16.583	28.567	35.986	15.860	33.321	39.302	31.619
Alcanos								
C18	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C19	0.731	trazas	0.051	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C20	0.272	n.d.	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	0.306
C21	trazas	n.d.	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	n.d.
C22	0.636	n.d.	0.230	0.144	trazas	0.115	0.312	0.400
C23	0.452	n.d.	0.143	trazas	trazas	trazas	0.069	0.426
C24	0.382	n.d.	0.258	0.065	trazas	0.122	0.223	0.171
C25	1.114	0.229	0.743	0.970	0.240	0.282	0.378	0.318
C26	0.284	n.d.	0.230	0.104	0.035	0.114	0.140	0.114
C27	0.343	n.d.	0.409	0.123	n.d.	0.100	0.203	0.059
C28	0.416	n.d.	0.474	0.165	0.115	0.204	0.290	0.096
C29	0.430	n.d.	0.335	0.434	0.255	0.677	0.403	0.247
C30	0.367	n.d.	0.343	0.364	0.242	0.678	0.515	0.267
C32	0.533	n.d.	0.485	0.747	0.445	1.088	0.648	0.459
C33	1.299	n.d.	0.465	1.323	0.428	1.216	0.620	0.411
Total	7.259	0.229	4.167	4.439	1.760	5.501	3.801	3.274
Alcoholes Grasos								
C17	1.509	0.129	0.240	0.230	trazas	0.020	0.376	0.364
C18	trazas	n.d.	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C19	2.160	0.271	0.897	0.553	0.229	0.878	1.065	1.537
C20	0.503	n.d.	0.140	0.044	0.036	0.079	0.056	0.270
C21	0.225	n.d.	0.108	0.011	trazas	trazas	trazas	n.d.
C22	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C24	0.196	n.d.	0.145	0.111	n.d.	n.d.	0.148	0.092
C25	0.338	n.d.	0.349	0.241	0.150	0.237	0.309	n.d.
C26	0.409	n.d.	0.432	0.362	0.204	0.491	0.364	n.d.
C27	0.382	n.d.	0.401	0.499	0.279	0.640	n.d.	n.d.
C28	0.324	n.d.	0.382	0.454	0.283	n.d.	0.483	n.d.
C30	n.d.	n.d.	0.440	n.d.	n.d.	n.d.	0.590	n.d.
Total	6.046	0.400	3.533	2.505	1.181	2.344	3.391	2.264

Cuadro 5.- Contenido en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de los componentes de cadena corta y larga con número par e impar de carbonos de las ceras intracuticulares de frutos de tomate normales.

	Días a 20°C							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Acidos Grasos								
Número par de C	7.329	9.581	15.534	16.820	9.989	15.556	21.643	17.701
Número impar de C	4.730	7.065	13.033	19.166	5.871	17.765	17.659	13.918
Cadena Corta (<C ₂₂)	9.350	13.119	22.313	28.055	12.258	31.835	36.190	25.634
Cadena Larga (>C ₂₁)	2.709	3.464	6.254	7.931	3.602	1.486	3.112	5.985
Total	12.059	16.583	28.567	35.986	15.860	33.321	39.302	31.619
Alcanos								
Número par de C	2.890	trazas	2.020	1.589	0.837	2.321	2.128	1.813
Número impar de C	4.369	0.229	2.147	2.850	0.923	3.180	1.673	1.461
Cadena Corta (<C ₂₂)	1.003	trazas	0.051	trazas	trazas	trazas	trazas	0.306
Cadena Larga (>C ₂₁)	6.256	0.229	4.116	4.439	1.760	5.501	3.801	2.968
Total	7.259	0.229	4.167	4.439	1.760	5.501	3.801	3.274
Alcoholes Grasos								
Número par de C	1.432	trazas	1.539	0.971	0.523	0.570	1.641	0.362
Número impar de C	4.614	0.400	1.994	1.534	0.658	1.774	1.750	1.902
Cadena Corta (<C ₂₂)	4.397	0.400	1.385	0.838	0.265	0.977	1.497	2.171
Cadena Larga (>C ₂₁)	1.649	trazas	2.148	1.667	0.916	1.367	1.894	0.093
Total	6.046	0.400	3.533	2.505	1.181	2.344	3.391	2.264
Total Identificado	25.364	17.212	36.267	42.930	18.801	41.166	46.494	37.157
% Total Extraído	45.790	31.540	57.440	52.450	20.410	42.670	54.580	56.490

larga resultó mayor a los de cadena corta, esto se debe a que existen un mayor número de alcoholes con cadenas largas por lo que al sumarlos hacen una cantidad mayor; sin embargo, la concentración individual de los alcoholes de cadena corta C_{19} y C_{17} es mayor que cualquiera del resto de alcoholes grasos de las ceras intracuticulares. Stumpf y Conn, (1980 b), reportan que los principales alcoholes grasos de las ceras de las plantas son de cadena saturada de C_{22} a C_{30} , aunque se les puede encontrar en el rango de C_{12} a C_{30} , los predominantes se consideran el C_{26} y C_{28} .

En los frutos de tomate híbridos se observó un comportamiento similar al de los frutos normales en cuanto a que en las fracciones de compuestos de ceras epicuticulares los más abundantes fueron los ácidos grasos, seguidos de alcanos y finalmente de los alcoholes grasos; pero hubo claras diferencias en relación a la concentración grupal e individual de cada uno de ellos.

En los híbridos *nor* los compuestos que distinguieron a las ceras epicuticulares fueron los ácidos grasos y los alcanos, ya que sus valores resultaron apreciablemente más altos que los de las ceras intracuticulares pues variaron entre 2.557 a 41.873 y 1.927 a 26.555 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ respectivamente, mientras que en las ceras intracuticulares los compuestos distintivos fueron los alcoholes grasos con valores de 2.354 a 5.462 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (Cuadros 6 y 8).

Los híbridos *rin* mostraron el mismo comportamiento que los *nor*, las fracciones epicuticulares predominantes fueron los ácidos grasos con valores que oscilaron de 11.134 a 37.949 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ y los alcanos con valores de 4.535 a 17.070 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, en tanto que los alcoholes grasos fueron la fracción predominante de las ceras intracuticulares con valores de 1.456 a 5.886 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (Cuadros 10 y 12).

Referente a la composición individual, se encontró que en los híbridos *nor* los ácidos grasos epicuticulares sobresalientes fueron los de cadena corta, algunos días predominaron los ácidos grasos con número par de carbonos y en otros los de número impar; el más abundante de todos fue el C_{18} y en menor cantidad se encontraron el C_{29} y C_{19} . En los híbridos *rin* sobresalieron los ácidos grasos de cadena corta con número par de carbonos y como en los casos anteriores el más abundante fue el C_{18} , seguido del C_{29} y C_{19} (Cuadros 6, 7, 10 y 11).

Los ácidos grasos intracuticulares que más abundaron en ambas variedades híbridas fueron los de cadena corta con número par de carbonos, entre ellos el C_{18} , seguido del C_{19} y C_{16} (Cuadros 8, 9, 12 y 13).

De los alcanos epi- e intracuticulares en las variedades híbridas los más abundantes fueron el C_{33} y C_{32} , es decir los de cadena larga con número impar de carbonos en su mayoría como sucedió en la variedad normal.

El alcohol graso más abundante en las ceras epicuticulares de las variedades híbridas fue de cadena larga con número par de carbonos, el C_{26} , en tanto que en las ceras intracuticulares el más abundante fue de cadena corta impar, el C_{19} .

Las diferencias en la composición de las ceras epicuticulares entre la variedad normal e híbridas, al parecer estriba en la concentración de las fracciones de ácidos grasos, alcanos y alcoholes grasos, debido a que éstas resultaron ser mayores en los tomates híbridos, especialmente aquéllos con la característica *nor*.

En lo que respecta a las ceras intracuticulares la diferencia está en la fracción de alcanos, pues aparte de que ésta fue mayor en los frutos híbridos, se observaron diferencias

Cuadro 6.- Contenido en μgcm^2 de los componentes de las ceras epicuticulares de frutos de tomate con característica *nor*

	Días a 20°C							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Acidos Grasos								
C13	trazas	trazas	n.d.	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C14	trazas	trazas	n.d.	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C15	0.061	0.184	n.d.	0.333	0.094	0.061	0.016	0.082
C16	0.846	1.019	0.711	1.582	0.694	0.604	0.079	0.450
C17	trazas	0.063	n.d.	0.133	trazas	trazas	trazas	trazas
C18	5.161	5.621	5.065	11.518	3.566	4.089	0.554	2.831
C19	2.722	2.556	2.316	5.805	2.333	2.429	0.286	1.508
C20	1.700	2.068	1.466	4.649	1.484	1.452	0.206	1.071
C21	1.464	0.825	1.212	3.627	1.226	1.388	0.174	0.914
C22	0.522	0.638	n.d.	1.501	n.d.	n.d.	n.d.	0.383
C23	0.504	0.681	n.d.	1.389	n.d.	0.534	0.073	0.412
C24	n.d.	0.697	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C25	0.538	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.569	0.082	0.403
C26	0.400	0.402	n.d.	0.890	0.335	0.369	0.059	0.248
C27	0.725	5.300	n.d.	3.910	1.887	2.051	0.335	1.358
C28	0.817	2.659	n.d.	2.398	1.319	1.231	0.184	0.875
C29	2.222	9.705	n.d.	2.338	2.149	1.975	0.321	1.393
C30	0.491	n.d.	n.d.	n.d.	0.662	0.560	0.097	0.387
C31	0.544	1.720	n.d.	1.799	2.000	0.634	0.090	0.418
Total	18.717	34.139	10.770	41.873	17.749	17.947	2.558	12.733
Alcanos								
C18	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C19	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C20	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C21	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C22	trazas	trazas	trazas	0.157	trazas	trazas	trazas	trazas
C23	trazas	trazas	trazas	0.222	trazas	trazas	trazas	trazas
C24	0.088	0.037	0.019	0.915	trazas	trazas	trazas	trazas
C25	0.301	0.566	0.231	1.212	0.097	0.096	0.023	0.062
C26	0.089	0.068	0.152	1.101	0.078	0.069	0.009	0.026
C27	0.092	0.126	0.107	1.052	0.270	0.062	0.034	0.039
C28	0.036	0.074	0.073	0.906	0.365	0.030	0.016	0.023
C29	0.236	0.293	0.347	0.380	0.302	0.171	0.330	0.240
C30	0.368	0.541	0.548	2.063	0.427	0.251	0.073	0.264
C32	1.839	2.154	2.371	4.115	1.321	1.447	0.267	1.254
C33	7.001	4.982	9.959	14.433	5.347	6.395	1.174	5.941
Total	10.049	8.841	13.807	26.555	8.207	8.520	1.927	7.850
Alcoholes Grasos								
C17	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C18	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C19	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C20	0.072	0.032	0.047	0.174	0.024	0.023	0.007	0.015
C21	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C22	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C24	0.337	0.184	0.345	0.684	0.232	0.243	0.027	0.128
C25	0.129	n.d.	0.154	0.920	0.444	0.141	0.033	0.096
C26	0.395	0.292	0.496	1.356	0.494	0.423	0.059	0.212
Total	0.934	0.508	1.041	3.134	1.195	0.830	0.126	0.451

Cuadro 7.- Contenido en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de los componentes de cadena corta y larga con número par e impar de carbonos de las ceras epicuticulares de frutos de tomate con la característica *nor*.

	Días a 20°C							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Ácidos Grasos								
Número par de C	9.937	13.104	7.242	22.484	8.060	8.305	1.179	6.245
Número impar de C	8.78	21.035	3.528	19.389	9.689	9.642	1.379	6.488
Cadena Corta (<C ₂₂)	11.954	12.336	10.770	27.647	9.397	10.023	1.315	6.856
Cadena Larga (>C ₂₁)	6.736	21.803	n.d.	14.226	8.352	7.924	1.243	5.877
Total	18.717	34.139	10.770	41.873	17.749	17.947	2.558	12.733
Alcanos								
Número par de C	2.420	2.874	3.163	9.257	2.191	1.797	0.365	1.567
Número impar de C	7.629	5.967	10.644	17.298	6.016	6.723	1.562	6.283
Cadena Corta (<C ₂₂)	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
Cadena Larga (>C ₂₁)	10.049	8.841	13.807	26.555	8.207	8.520	1.927	7.850
Total	10.049	8.841	13.807	26.555	8.207	8.520	1.927	7.850
Alcoholes Grasos								
Número par de C	0.804	0.508	0.887	2.214	0.750	0.689	0.093	0.355
Número impar de C	0.130	trazas	0.154	0.920	0.445	0.141	0.033	0.096
Cadena Corta (<C ₂₂)	0.072	0.032	0.047	0.174	0.024	0.023	0.007	0.015
Cadena Larga (>C ₂₁)	0.862	0.476	0.994	2.960	1.171	0.807	0.119	0.436
Total	0.934	0.508	1.041	3.134	1.195	0.830	0.126	0.451
Total Identificado	29.70	43.490	25.618	71.562	27.151	27.297	40.611	21.034
% del Total Extraído	54.400	64.500	39.450	49.250	50.280	46.560	54.240	50.170

Cuadro 8.- Contenido en $\mu\text{g/cm}^2$ de los componentes de las ceras intracuticulares de frutos de tomate con característica *nor*

	Días a 20°C							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Acidos Grasos								
C13	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C14	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C15	0.178	0.167	0.134	0.166	0.136	0.131	0.170	0.370
C16	2.968	2.456	2.190	2.347	2.238	2.274	4.126	8.406
C17	trazas	0.147	0.065	trazas	0.279	0.581	trazas	trazas
C18	7.126	4.869	5.964	7.577	4.726	5.044	5.742	10.474
C19	4.378	2.314	3.321	3.965	2.164	2.415	2.857	4.879
C20	3.050	2.248	2.246	3.350	2.429	2.409	2.712	3.905
C21	2.440	1.519	1.705	2.084	1.388	1.315	1.541	2.659
C22	1.177	n.d.	1.405	1.747	2.319	1.169	n.d.	n.d.
C23	n.d.	n.d.	0.413	0.652	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C24	n.d.	n.d.	1.058	n.d.	1.160	n.d.	n.d.	n.d.
C25	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.593	n.d.
C27	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.686	n.d.	n.d.	n.d.
C29	0.589	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C30	2.839	n.d.	0.938	n.d.	1.142	0.498	n.d.	n.d.
C31	3.215	1.660	0.944	2.365	0.900	0.512	0.864	1.982
Total	27.962	15.379	20.381	23.845	19.569	16.347	18.605	32.675
Alcanos								
C18	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C19	trazas	trazas	trazas	trazas	0.153	0.324	trazas	trazas
C20	trazas	0.074	0.215	trazas	0.002	0.740	0.172	0.828
C21	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	1.459
C22	trazas	0.222	0.258	0.206	0.304	0.648	0.273	1.081
C23	trazas	0.174	0.177	0.043	0.194	0.704	0.194	0.831
C24	trazas	0.185	0.247	0.169	0.242	0.290	0.113	0.389
C25	0.142	0.516	0.643	0.484	0.604	0.448	0.288	0.590
C26	0.060	0.125	0.150	0.118	0.175	0.189	0.069	0.249
C27	0.173	0.095	0.180	0.113	0.150	0.145	0.047	0.356
C28	0.893	0.128	0.191	0.121	0.240	0.196	n.d.	0.507
C29	0.740	0.180	0.291	0.167	0.302	0.391	0.192	0.955
C30	0.726	0.267	0.288	0.190	0.271	0.253	0.188	0.667
C32	2.338	0.448	0.518	0.452	0.501	0.413	0.377	0.977
C33	11.136	0.711	0.548	0.467	0.496	0.419	0.384	0.908
Total	16.208	3.125	3.706	2.530	3.634	5.159	2.297	9.797
Alcoholes Grasos								
C17	trazas	0.471	0.559	0.838	0.907	0.905	0.971	2.051
C18	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	0.199	trazas	trazas
C19	0.811	0.937	1.198	1.087	0.937	1.247	1.216	0.581
C20	0.160	0.100	0.064	0.087	0.059	0.073	0.238	0.717
C21	trazas	0.089	trazas	trazas	0.217	n.d.	n.d.	n.d.
C22	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C24	n.d.	0.095	0.123	0.115	0.116	0.109	0.091	0.203
C25	0.793	0.156	0.247	0.190	0.192	0.147	n.d.	0.457
C26	0.867	0.236	0.332	0.274	0.244	n.d.	0.283	n.d.
C27	0.525	0.269	0.388	0.354	0.231	0.256	0.311	0.756
C28	0.453	n.d.	0.363	0.360	0.350	0.247	0.305	0.697
C30	n.d.	n.d.	0.138	0.139	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Total	3.609	2.354	3.411	3.444	3.252	3.183	3.416	5.462

Cuadro 9.- Contenido en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de los componentes de cadena corta y larga con número par e impar de carbonos de las ceras intracuticulares de frutos de tomate con la característica *nor*.

	Días a 20°C							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Acidos Grasos								
Número par de C	17.160	9.573	13.801	15.021	14.014	11.394	12.580	22.785
Número impar de C	10.802	5.806	6.580	8.824	5.555	4.953	6.025	9.890
Cadena Corta (<C ₂₂)	20.140	13.720	15.625	19.489	13.360	14.169	17.148	30.693
Cadena Larga (>C ₂₁)	7.822	1.659	4.756	4.356	6.209	2.178	1.457	1.982
Total	27.962	15.379	20.381	23.845	19.569	16.347	18.605	32.675
Alcanos								
Número par de C	4.017	1.449	1.867	1.256	1.735	2.729	1.192	4.698
Número impar de C	12.191	1.676	1.839	1.274	1.899	2.430	1.105	5.099
Cadena Corta (<C ₂₂)	trazas	0.074	0.215	trazas	0.155	1.064	0.172	2.287
Cadena Larga (>C ₂₁)	16.208	3.051	3.491	2.530	3.479	4.095	2.125	7.510
Total	16.208	3.125	3.706	2.530	3.634	5.159	2.297	9.797
Alcoholes Grasos								
Número par de C	1.480	0.431	1.020	0.975	2.771	0.628	0.917	1.617
Número impar de C	2.129	1.923	2.391	2.469	0.481	2.555	2.499	3.845
Cadena Corta (<C ₂₂)	0.971	1.597	1.821	2.012	2.120	2.424	2.425	3.349
Cadena Larga (>C ₂₁)	2.638	0.757	1.590	1.432	1.132	0.759	0.991	2.113
Total	3.609	2.354	3.411	3.444	3.252	3.183	3.416	5.462
Total Identificado	47.779	20.858	27.498	29.819	26.455	24.689	24.318	47.934
% del Total Extraído	43.342	38.323	34.843	43.253	57.465	62.567	41.355	79.328

Cuadro 9.- Contenido en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de los componentes de cadena corta y larga con número par e impar de carbonos de las ceras intracuticulares de frutos de tomate con la característica *nor*.

	Días a 20°C							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Acidos Grasos								
Número par de C	17.160	9.573	13.801	15.021	14.014	11.394	12.580	22.785
Número impar de C	10.802	5.806	6.580	8.824	5.555	4.953	6.025	9.890
Cadena Corta (<C22)	20.140	13.720	15.625	19.489	13.360	14.169	17.148	30.693
Cadena Larga (>C21)	7.822	1.659	4.756	4.356	6.209	2.178	1.457	1.982
Total	27.962	15.379	20.381	23.845	19.569	16.347	18.605	32.675
Alcanos								
Número par de C	4.017	1.449	1.867	1.256	1.735	2.729	1.192	4.698
Número impar de C	12.191	1.676	1.839	1.274	1.899	2.430	1.105	5.099
Cadena Corta (<C22)	trazas	0.074	0.215	trazas	0.155	1.064	0.172	2.287
Cadena Larga (>C21)	16.208	3.051	3.491	2.530	3.479	4.095	2.125	7.510
Total	16.208	3.125	3.706	2.530	3.634	5.159	2.297	9.797
Alcoholes Grasos								
Número par de C	1.480	0.431	1.020	0.975	2.771	0.628	0.917	1.617
Número impar de C	2.129	1.923	2.391	2.469	0.481	2.555	2.499	3.845
Cadena Corta (<C22)	0.971	1.597	1.821	2.012	2.120	2.424	2.425	3.349
Cadena Larga (>C21)	2.638	0.757	1.590	1.432	1.132	0.759	0.991	2.113
Total	3.609	2.354	3.411	3.444	3.252	3.183	3.416	5.462
Total Identificado	47.779	20.858	27.498	29.819	26.455	24.689	24.318	47.934
% del Total Extraído	43.342	38.323	34.843	43.253	57.465	62.567	41.355	79.328

Cuadro 10.- Contenido en $\mu\text{g/cm}^2$ de los componentes de las ceras epicuticulares de frutos de tomate con característica *rin*

Acidos Grasos	Días a 20°C							
	0	3	6	9	12	15	18	21
C13	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C14	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C15	0.113	0.218	0.17	0.199	0.174	0.062	0.071	0.05
C16	0.777	1.418	0.956	1.431	0.836	0.437	0.442	0.38
C17	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C18	4.842	7.346	5.58	8.837	7.056	2.638	2.49	2.134
C19	2.292	3.362	2.448	4.262	4.041	1.381	1.319	1.072
C20	1.673	2.542	1.875	3.037	2.692	0.94	0.912	0.808
C21	1.382	2.197	1.526	2.426	2.292	0.73	0.706	0.687
C22	n.d.	0.791	n.d.	0.996	n.d.	n.d.	0.284	n.d.
C23	0.542	0.696	0.641	0.934	n.d.	n.d.	n.d.	0.311
C24	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.349	n.d.
C25	n.d.	n.d.	0.744	n.d.	n.d.	0.327	0.289	0.327
C26	0.397	0.591	0.505	0.815	n.d.	0.215	0.216	0.276
C27	2.971	4.291	3.635	3.789	3.572	1.189	0.978	1.283
C28	1.741	2.248	2.397	2.617	2.604	0.793	0.73	0.893
C29	0.927	1.579	0.928	1.213	1.295	0.441	0.349	0.4
C30	2.175	n.d.	3.607	3.969	4.249	1.284	1.138	1.36
C31	2.322	3.57	2.866	3.425	4.233	1.145	1.219	1.153
Total	22.154	30.849	27.876	37.950	33.044	11.581	11.492	11.134
Alcanos								
C18	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C19	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C20	trazas	trazas	trazas	trazas	0.931	trazas	trazas	trazas
C21	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C22	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C23	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C24	0.121	0.044	0.041	0.162	trazas	trazas	trazas	trazas
C25	0.394	0.587	0.309	0.365	0.108	0.053	0.045	0.076
C26	0.124	0.182	0.178	0.238	0.112	0.032	0.018	0.091
C27	0.129	0.121	0.114	0.365	0.068	0.081	0.085	0.044
C28	0.053	0.112	0.111	0.414	n.d.	0.149	0.028	0.022
C29	0.291	0.467	0.424	0.227	0.127	0.216	0.313	0.366
C30	0.407	0.69	0.625	1.114	0.449	0.169	0.278	0.227
C32	1.581	2.424	2.669	2.507	2.306	0.661	1.07	1.373
C33	6.248	5.807	12.6	8.943	9.696	3.172	4.756	7.335
Total	9.348	10.434	17.070	14.336	12.865	4.535	6.593	9.534
Alcoholes Grasos								
C17	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C18	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C19	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C20	0.084	0.037	0.057	0.059	0.044	0.015	0.011	0.016
C21	trazas	trazas	trazas	trazas	0.283	trazas	trazas	trazas
C22	trazas	trazas	trazas	trazas	n.d.	trazas	trazas	trazas
C24	0.148	0.145	0.174	0.18	0.172	0.06	0.058	0.155
C25	n.d.	n.d.	0.172	0.364	0.252	0.17	0.114	0.086
C26	0.257	0.32	0.407	0.657	0.413	0.188	0.202	0.215
C27	n.d.	n.d.	n.d.	0.495	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Total	0.488	0.502	0.809	1.754	1.163	0.433	0.385	0.471

Cuadro 11.- Contenido en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de los componentes de cadena corta y larga con número par e impar de carbonos de las ceras epicuticulares de frutos de tomate con la característica *rin*.

	Días a 20°C							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Ácidos Grasos								
Número par de C	11.605	14.936	14.920	21.702	17.437	6.307	6.561	5.851
Número impar de C	10.549	15.913	12.956	16.248	15.607	5.274	4.931	5.283
Cadena Corta (<C ₂₂)	11.079	17.083	12.555	20.192	17.091	6.188	5.940	5.131
Cadena Larga (>C ₂₁)	11.075	13.766	15.321	17.758	15.953	5.393	5.552	6.003
Total	22.154	30.849	27.876	37.950	33.044	11.581	11.492	11.134
Alcanos								
Número par de C	2.286	3.452	3.624	4.435	3.798	1.011	1.394	1.713
Número impar de C	7.062	6.982	13.446	9.901	9.067	3.524	5.199	7.821
Cadena Corta (<C ₂₂)	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
Cadena Larga (>C ₂₁)	9.384	10.434	17.070	14.336	11.934	4.535	6.593	9.534
Total	9.384	10.434	17.070	14.336	11.934	4.535	6.593	9.534
Alcoholes Grasos								
Número par de C	0.488	0.502	0.637	0.896	0.629	0.263	0.271	0.386
Número impar de C	trazas	trazas	0.172	0.858	0.534	0.170	0.114	0.085
Cadena Corta (<C ₂₂)	0.084	0.037	0.057	0.059	0.327	0.015	0.011	0.016
Cadena Larga (>C ₂₁)	0.404	0.465	0.752	1.695	0.836	0.418	0.374	0.455
Total	0.488	0.502	0.809	1.754	1.163	0.433	0.385	0.471
Total Identificado	32.026	41.785	45.755	54.040	46.141	16.549	18.470	21.139
% del Total Extraído	51.570	57.820	60.590	51.140	41.160	50.720	60.120	60.620

Cuadro 12.- Contenido en $\mu\text{g/cm}^2$ de los componentes de las ceras intracuticulares de frutos de tomate con característica *rin*

	Días a 20°C							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Acidos Grasos								
C13	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	n.d.	trazas
C14	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	n.d.	trazas
C15	0.183	n.d.	0.130	0.158	0.150	0.240	n.d.	0.266
C16	3.360	3.199	1.866	1.472	3.029	3.733	2.575	5.536
C17	trazas	n.d.	trazas	0.013	0.028	trazas	n.d.	trazas
C18	7.127	15.331	5.489	5.557	4.511	8.200	5.893	9.193
C19	4.094	7.101	2.749	2.889	1.689	4.197	2.651	4.572
C20	2.443	4.606	2.262	2.491	2.461	3.341	1.905	3.090
C21	2.263	3.475	1.339	1.781	1.425	2.026	1.184	2.321
C22	n.d.	n.d.	n.d.	1.340	2.427	n.d.	n.d.	n.d.
C23	n.d.	n.d.	n.d.	0.533	n.d.	0.448	n.d.	n.d.
C24	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.522	n.d.	n.d.	n.d.
C25	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.447	n.d.	n.d.	0.634
C26	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.270	n.d.	n.d.	n.d.
C27	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.672	n.d.	n.d.	n.d.
C28	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.719	n.d.	n.d.	n.d.
C30	2.365	n.d.	n.d.	n.d.	1.027	2.329	n.d.	1.635
C31	2.404	n.d.	n.d.	0.838	0.951	1.481	n.d.	1.233
Total	24.237	33.712	13.836	15.731	17.380	25.994	14.208	28.479
Alcanos								
C18	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C19	trazas	trazas	trazas	0.104	trazas	0.676	trazas	trazas
C20	trazas	trazas	trazas	trazas	0.150	0.031	trazas	trazas
C21	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas	trazas
C22	0.007	trazas	trazas	0.384	0.730	0.851	0.193	0.470
C23	trazas	trazas	trazas	0.224	0.494	0.505	0.183	0.306
C24	0.011	0.105	0.059	0.366	0.545	0.366	0.127	0.260
C25	0.268	0.616	0.479	1.249	1.324	0.712	0.309	0.436
C26	0.050	0.120	0.102	0.289	0.547	0.223	0.085	0.191
C27	n.d.	0.779	0.314	0.514	0.477	0.150	0.046	0.100
C28	0.039	0.922	0.465	0.385	0.520	0.218	0.056	0.158
C29	0.082	trazas	0.404	0.446	0.594	0.359	0.147	0.338
C30	0.136	0.964	0.412	0.360	0.475	0.419	0.201	0.321
C32	0.484	trazas	0.556	0.526	0.643	0.663	0.392	0.446
C33	2.038	2.679	0.568	0.498	1.095	0.641	0.395	trazas
Total	3.113	8.919	3.358	5.345	7.593	5.814	2.133	3.025
Alcoholes Grasos								
C17	0.200	0.064	trazas	trazas	0.586	1.165	0.225	0.870
C18	trazas	trazas	trazas	trazas	0.070	0.056	trazas	0.005
C19	0.608	1.191	0.507	1.118	0.918	1.214	0.678	0.821
C20	0.101	0.106	0.114	0.054	0.069	0.458	0.043	0.057
C21	n.d.	trazas	trazas	0.197	0.421	0.272	n.d.	0.136
C22	0.163	0.338	0.272	0.528	0.611	0.346	0.187	0.264
C24	n.d.	0.249	n.d.	0.167	0.203	0.121	0.087	0.108
C25	0.156	0.978	0.628	0.383	0.347	0.168	0.142	0.177
C26	0.227	1.081	0.509	0.408	0.190	0.260	n.d.	n.d.
C27	n.d.	1.057	0.407	0.390	0.422	n.d.	n.d.	n.d.
C28	n.d.	0.822	0.352	0.381	0.496	0.307	0.310	n.d.
Total	1.456	5.886	2.789	3.627	4.333	4.366	1.672	2.438

Cuadro 13.- Contenido en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de los componentes de cadena corta y larga con número par e impar de carbonos de las ceras intracuticulares de frutos de tomate con la característica *rin*.

	Días a 20°C							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Ácidos Grasos								
Número par de C	15.295	23.136	9.617	10.860	14.966	17.603	10.373	19.454
Número impar de C	8.942	10.576	4.219	4.871	2.414	8.391	3.835	9.025
Cadena Corta (<C ₂₂)	19.470	33.712	13.836	14.361	13.293	21.737	14.208	24.978
Cadena Larga (>C ₂₁)	4.767	n.d.	n.d.	1.370	4.087	4.257	n.d.	3.501
Total	24.237	33.712	13.836	15.731	17.380	25.994	14.208	28.479
Alcanos								
Número par de C	0.727	2.111	1.594	2.310	3.610	2.771	1.054	1.846
Número impar de C	2.386	6.808	1.764	3.035	3.983	3.043	1.079	1.179
Cadena Corta (<C ₂₂)	trazas	trazas	trazas	0.104	0.150	0.707	trazas	trazas
Cadena Larga (>C ₂₁)	3.113	8.919	3.358	5.241	7.443	5.107	2.133	3.025
Total	3.113	8.919	3.358	5.345	7.593	5.814	2.133	3.025
Alcoholes Grasos								
Número par de C	0.491	2.596	1.247	1.538	1.639	1.548	0.627	0.434
Número impar de C	0.965	3.290	1.542	2.089	2.694	2.818	1.045	2.004
Cadena Corta (<C ₂₂)	0.909	1.361	0.621	1.369	2.064	3.165	0.946	1.889
Cadena Larga (>C ₂₁)	0.547	4.525	2.168	2.258	2.269	1.201	0.726	0.549
Total	1.456	5.886	2.789	3.627	4.333	4.366	1.672	2.438
Total Identificado	28.806	48.517	19.983	24.703	29.306	36.174	18.013	33.942
% del Total Extraído	32.206	56.813	27.298	41.922	66.145	68.755	28.513	55.715

en el comportamiento de dicha fracción durante los primeros días del período de mercadeo para cada una de las variedades. En los frutos normales se dieron grandes fluctuaciones durante los primeros 6 días y a partir de ahí, la concentración de la fracción de alcanos fue más estable, en los híbridos *rin* el comportamiento fue similar al de los frutos normales, sin embargo los cambios fueron menos drásticos y más lentos. A diferencia de estos frutos, los híbridos *nor* permanecieron casi invariables en su contenido de alcanos (con excepción del primer día) manteniéndose dentro de cierto rango. La fracción de alcoholes grasos presentó cambios similares a los alcanos mostrando en conjunto un comportamiento que distinguió a cada una de las variedades estudiadas. Sin embargo, la concentración de los alcoholes grasos fluctuó dentro de un mismo rango para las tres variedades. La concentración de ácidos grasos intracuticulares resultó ser mayor en los tomates normales.

Las fracciones de ácidos grasos, alcanos y alcoholes grasos identificados en las ceras epi- e intracuticulares representaron aproximadamente el 50% de la cera total extraída. Esto quiere decir que los compuestos no identificados (ésteres, cetonas, aldeídos, flavonoides y terpenos) también podrían estar jugando un rol importante en la fisiología de los frutos estudiados. Sin embargo, siempre se ha considerado que las fracciones aquí estudiadas son las de mayor relevancia (Stumpf y Conn, 1980 b; Baker y col., 1982; Harwood y Russell, 1984)).

Permeabilidad al Vapor de Agua, Pérdida de Peso y Contenido de Humedad

La permeabilidad en los frutos normales se incrementó en forma rápida y notable durante los primeros tres días bajo condiciones de mercadeo, alcanzando un valor máximo

de 23.383 mg de vapor de $H_2O/cm^2/h$, en tanto que en las variedades híbridas el incremento en permeabilidad fue más lento y gradual, presentando valores mas bajos que en la variedad normal. Dicho incremento se observó durante los primeros seis días y los valores máximos alcanzados fueron de 18.669 y 12.939 mg de vapor de $H_2O/cm^2/h$ (Figura 11). Se observaron diferencias estadísticas significativas para las tres variedades de tomate a los tres días de permanecer a 20°C. Este resultado era de esperarse no sólo porque lo que se ha sugerido en la literatura, sino también por las diferencias encontradas en los frutos en relación a la concentración y comportamiento de las ceras que son a las que se les atribuyen los principales cambios en permeabilidad. Los frutos híbridos mostraron mayor contenido de ceras intracuticulares totales que los frutos normales durante los primeros seis días bajo condiciones de mercadeo, y ésta posiblemente sea una de las razones por la cual los tomates híbridos sean menos permeables que los tomates normales.

En otros estudios se ha observado que al extraer las ceras cuticulares de las hojas de *Citrus aurantium* L., pera (*Pyrus communis* L.) y bulbo de cebolla (*Allium cepa* L.), la permeabilidad al agua se incrementa de 300 a 500 veces con lo que se demuestra que la permeabilidad de las cutículas es determinada por la presencia de las ceras (Schönherr, 1976). Es de esperarse que a un mayor contenido de ceras exista menor permeabilidad o mayor resistencia al paso del agua a través de la cutícula y viceversa.

Las diferencias en permeabilidad en términos del comportamiento de ceras se explica de la siguiente manera: En los frutos normales al tercer día a 20°C que fue cuando se encontró el máximo incremento en permeabilidad se observó un decremento muy notable en el contenido intracuticular de alcanos y alcoholes grasos desde valores de 7.259 a

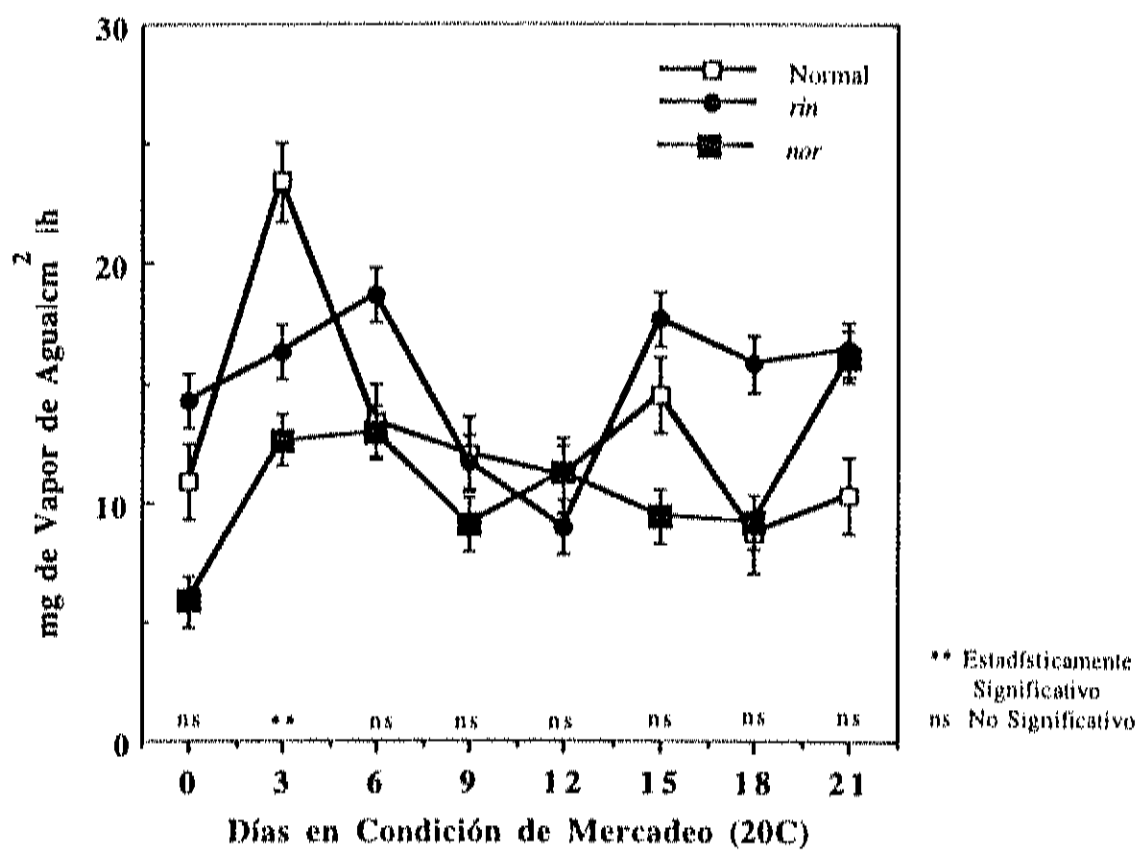


Figura 11.- Cambios de permeabilidad en frutos de tomate normales e híbridos con los genes mutantes *rin* y *nor*.

0.229 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ y 6.046 a 0.400 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ respectivamente. Posteriormente al sexto día en el cual la permeabilidad se redujo hasta niveles basales, el contenido de alcanos aumentó de 0.229 a 4.167 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ y los alcoholes grasos desde 0.400 a 3.533 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Posteriormente los valores de ceras se mantuvieron fluctuando dentro del rango alcanzado y no volvieron a decaer drásticamente, así mismo la permeabilidad no volvió a incrementar. Durante el estado inmaduro de algunos frutos se puede encontrar una fracción muy alta de alcanos, que decrecen notablemente a mínimos valores cuando están muy próximos a presentar el cambio en color y lograr su madurez, por ejemplo estos valores pueden variar desde 14-31% hasta 2.1-11.4% (Báez, 1991).

En los híbridos *rim* se observó un comportamiento similar a los frutos normales, en el sentido de que al sexto día que mostraron el mayor incremento en permeabilidad disminuyeron los niveles intracuticulares de alcanos desde 8.919 a 3.358 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ y los alcoholes grasos desde 5.886 a 2.789 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$; posteriormente cuando la permeabilidad se redujo éstos incrementaron de 3.358 a 5.345 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ y 2.789 a 3.627 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, respectivamente. Sin embargo, los cambios no fueron tan drásticos como en el caso de los tomates normales, quizá a esto se deba que la permeabilidad tampoco mostrara grandes cambios en los híbridos *rim*.

En los híbridos *nor* a diferencia de las otras variedades, el contenido de alcanos y alcoholes grasos permaneció casi invariable (alrededor de 3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) sólo con pequeñas fluctuaciones, a excepción de primer y último día del período de mercadeo, de tal manera que el máximo incremento en permeabilidad fue ligero y muy pequeño comparado a las variedades normal e híbridos *rim*. Este resultado sugiere que los cambios en permeabilidad

son controlados por la concentración de alcanos y alcoholes grasos, ya que en las tres variedades sólo se encontraron diferencias en las concentraciones, pues mostraron los mismos tipos de compuestos. Esto es relevante porque son generalmente a los alcanos en conjunto con los alcoholes grasos, a los que mayores propiedades se les atribuyen como parte de las ceras, para impedir el paso del agua y otros compuestos a través de la membrana cuticular, por su naturaleza no polar (Baker y col., 1975). En estudios que aplican películas o compuestos de ceras a cutículas separadas o membranas artificiales, se ha demostrado que los alcanos, aldehídos y alcoholes primarios restringen el paso del agua, particularmente cuando el grosor de la capa excede $25 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ (Baker y col., 1975).

La diferencia en concentración de alcanos y alcoholes grasos, así como la forma en que éstos fluctúan, probablemente sean el reflejo de un reacomodo distinto dentro de la estructura cuticular de cada variedad. Se podría especular que en las variedades híbridas el mantenimiento de niveles más altos en alcanos y de menor variabilidad en conjunto con los alcoholes grasos se deba al sostenimiento de estructuras más sólidas e incluso más rígidas.

Smalley y col., (1993) y Ehmann, (1976) determinaron que las cutículas son asimétricas por naturaleza, ya que poseen poros alineados con cargas negativas tanto en la capa hidrófoba de ceras epicuticulares, como en la capa de cutina. La cutina es más porosa que las ceras epicuticulares y se establece un gradiente de polaridad que va de bajo a alto, a medida que se adentra en las capas de células epidérmicas, lo cual influye en las variaciones de las tasas de movimiento a través de la barrera cuticular. Las cargas negativas de los poros permiten la interacción con cationes, los cuales normalmente parten del medio ambiente interno. Se ha demostrado que el tamaño funcional del poro dentro de la cutina se reduce por

la presencia de calcio (Ca^{2+}). Debido a que los cationes divalentes (especialmente el calcio) existen en la pared celular, éstos podrían ser libremente intercambiados a través de la capa de pectina que separa a la cutina de las paredes celulares epidérmicas, permitiendo así la interacción de calcio con los poros de la cutina. Para el movimiento de agua a través de la cutícula se ha establecido un tamaño de poro cercano a 0.9 nm. Quizá en la cutícula de los frutos híbridos exista más calcio ligado que en los normales y sea la causa en las diferencias en permeabilidad al agua.

Davies y Hobson, (1981), reportaron que en los tejidos de mutantes *rin* puros se encontraron altos niveles de cationes divalentes, particularmente Ca^{2+} , cuando se estudiaban las causas de la carencia en permeabilidad al agua en las células de estos frutos, a lo cual asociaron la resistencia a senescer, la baja presencia de inductores de senescencia tales como el etileno, la alta longevidad, la reducida actividad de PG y los defectos en la maduración comercial.

Partiendo de tales datos se puede suponer que los tomates híbridos están más propensos a retener el calcio en sus cutículas dado el acomodo estructural de sus ceras confiriendo impermeabilidad a dichos frutos. Al respecto Cutler, (1982), comenta que la forma estructurada de las ceras depositadas en la cutícula, es determinada por el número de poros cuticulares asociados con las partículas individuales de las ceras. Esta suposición también permite explicar la sensación de dureza y grosor que se percibe en la piel de los frutos híbridos al consumirlos. Se ha demostrado anteriormente que la cutícula que poseen los frutos híbridos no es más gruesa, ni más pesada que la de los frutos normales. Una vez más se confirma que el grosor de la cutícula no es un factor determinante en la permeabilidad

al agua, tal como lo citara Schönherr y col., (1976), sino que existen otros factores que pueden ser aún más importantes, tales como el rearrreglo de sus componentes (ceras, cutina).

Otro resultado interesante pero a la vez controversial, es el de pérdida de peso. Considerando que los frutos normales fueron más permeables, se pensaba que al perder más agua perderían más peso que los frutos híbridos, sin embargo resultó lo contrario. Los tomates híbridos presentaron mayor porcentaje en pérdida de peso. Los frutos híbridos perdieron entre el 10 y 12% de su peso, después de veintiseis días en condición de mercadeo, mientras que los tomates normales perdieron entre el 7 y 9%, encontrándose diferencias estadísticamente significativas de las variedades híbridas con respecto a la normal (Figura 12).

Buscando una explicación a tal comportamiento, se supuso inicialmente que los frutos híbridos podrían tener un mayor contenido de agua por lo que se determinó su porcentaje de humedad, el cual resultó ser igual para las tres variedades (93-94%), descartándose tal suposición.

Dentro de los factores que influyen en la pérdida de peso de un organismo vivo, en este caso el fruto, se encuentran:

- La transpiración. Mediante este fenómeno el fruto pierde agua en forma de vapor, especialmente a través de la cutícula y se considera una de las principales causas de pérdida de peso, ya que representa cerca del 0.5% del peso total que se pierde en una semana (Hardenburg y col., 1990).
- La respiración representa otro proceso fisiológico a través del cual se pierde peso en diferentes formas. Mediante la respiración se dan pérdidas de peso debidas a carbono en

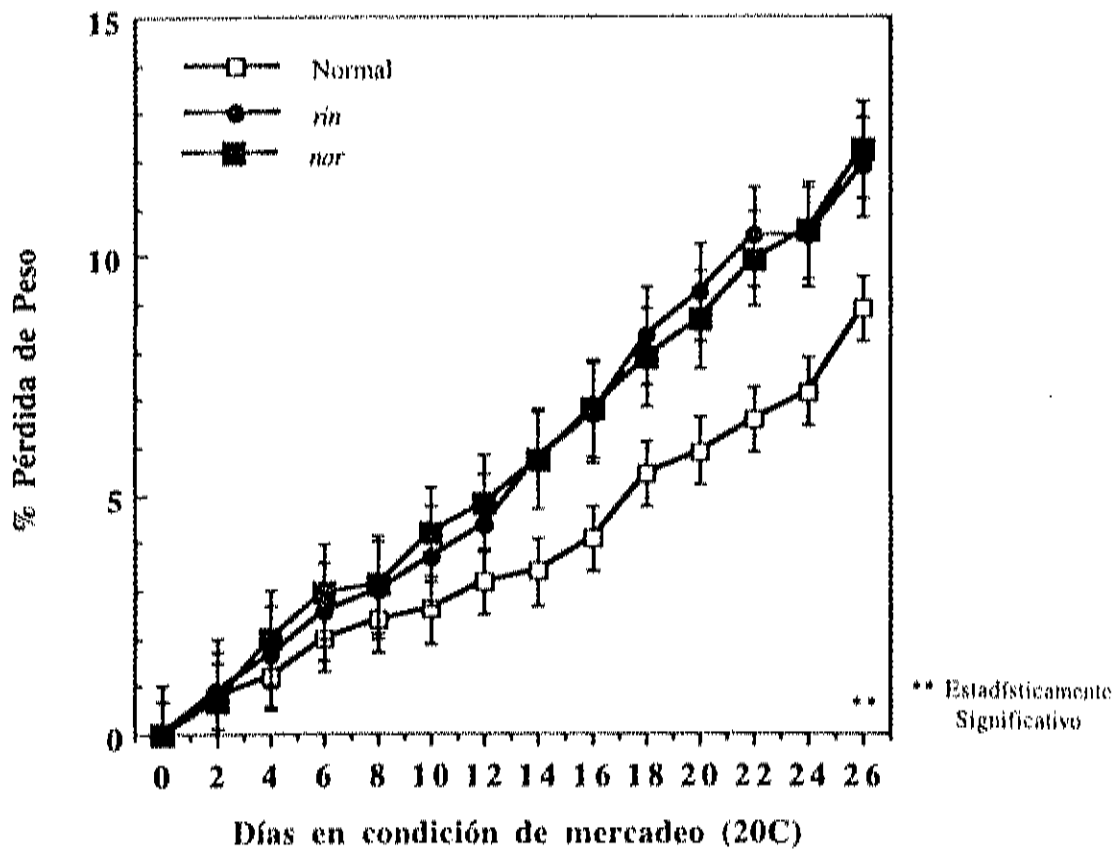


Figura 12.- Comportamiento en el porcentaje de pérdida de peso en frutos de tomate normales e híbridos con los genes mutantes *rin* y *nor*.

forma de CO_2 , pero se considera que son mínimas, ya que representan cerca del 0.05% del peso total que se pierde cada semana, esto representa la décima parte de las pérdidas debidas a transpiración. La pérdida de agua en forma de vapor debidas a respiración también son mínimas, por lo que no se consideran significativas. Durante la respiración se utilizan reservas de tejidos para proveer energía y cubrir los requerimientos energéticos de las células, sin embargo gran parte de la energía que se produce se disipa en forma de calor, lo cual representa pérdida del valor energético y puede traducirse en pérdidas de peso. Por ejemplo se ha determinado que el 60% de la energía que proviene de la oxidación de una molécula de glucosa, no es utilizada en la síntesis de ATP y es invertido en la producción de "calor vital" (Hardenburg y col., 1990).

En este sentido los tomates híbridos presentaron tasas respiratorias mucho más elevadas que las de los frutos normales, lo que sugiere un consumo de sus reservas en tejido y una producción de calor más elevada: En estos frutos el metabolismo es mas acelerado por su propia naturaleza y como consecuencia pierden peso más rapidamente.

En base a las tasas respiratorias obtenidas para cada una de las variedades aquí estudiadas, se estimó que la producción de calor en los tomates normales varió de aproximadamente 100 a 130 cal/día, mientras que en los frutos híbridos con genes mutantes varió de 80 a 210 cal/día, estas variedades produjeron casi el doble de calor que los frutos normales. Pantástico, (1984), reporta que un tomate que pierde de 120 a 170 cal/día pierde aproximadamente el 5.2 % de su peso. Este comportamiento explica el porqué los frutos híbridos perdieron mayor peso que los normales a pesar de perder menos agua por transpiración, como lo demostraron los cambios en la permeabilidad de la cutícula.

Estos datos sugieren que la pérdida de peso en los frutos híbridos puede deberse principalmente al consumo de sus reservas energéticas y producción de calor vital, más que a la pérdida de agua, mientras que en los frutos normales podría atribuirse especialmente a la pérdida de agua. Un apoyo importante para tal sugerencia lo constituye el hecho de que los frutos normales se mostraron marchitos al finalizar el período de mercadeo, mientras que los frutos híbridos y especialmente el *nor* se mostraban con buena apariencia y permanecieron así durante un tiempo prolongado. Al respecto, Hardenburg y col., (1990), afirman que una pérdida de humedad del 3 al 6% es capaz de causar una marcada pérdida de textura y calidad en muchos tipos de productos, mientras que unos cuantos pueden perder más del 10% de su humedad y permanecer aún en condiciones de ser comercializados. Esto se debe a que no todos los frutos y hortalizas pierden agua en la misma proporción, aún almacenados en las mismas condiciones, pues la naturaleza de la capa cerosa protectora varía en cada uno de ellos.

Se ha manejado que los frutos que presentan una respiración intensa, son menos susceptibles a la conservación en estado fresco, ya que llegan pronto a las etapas catabólicas, mientras que por otro lado se considera que aquellos frutos en los que la intensidad respiratoria es lenta permanecen durante mayor tiempo sin descomponerse, en condiciones normales (Calderón, 1983). En este estudio se encontró que los tomates híbridos especialmente los de la característica *nor* a pesar de mostrar tasas respiratorias mayores a la de los frutos normales presentaron mejor apariencia por un tiempo más prolongado. Son varios los factores que se conjugan y determinan la calidad y vida de anaquel de un fruto. Se ha encontrado que la vida de anaquel de los híbridos *nor* se prolonga hasta veintisiete días

más de lo normal cuando son mantenidos a 20°C, mientras que los híbridos *rin* sólo duran cuatro días más de lo normal (Buescher y Sistrunk. 1976).

Relacionando la alta producción de calor que generan los frutos híbridos, con otros eventos del proceso de madurez, tales como la producción de etileno y cambios en permeabilidad, se tiene lo siguiente: De acuerdo a Weast y Astle, (1981) y Salisbury y Ross, (1992), en condiciones normales las membranas celulares son más permeables al vapor de agua que al oxígeno y CO₂, a su vez el oxígeno se difunde más fácilmente a través de las membranas que el CO₂. Las diferencias en permeabilidad de cada uno de los gases antes mencionados, se deben a su peso molecular y a su abundancia en la atmósfera; el peso molecular más bajo lo tiene el vapor de agua, seguido del oxígeno molecular y finalmente el CO₂, además el vapor de agua y oxígeno son más abundantes en la atmósfera que el CO₂. Se ha encontrado que la atmósfera contiene de 10 a 100 veces más vapor de agua que CO₂ y ésta es una de las causas por las que el vapor de agua se difunde 1.6 veces más rápido que el CO₂.

Pantástico, (1984), menciona que en frutos con una acelerada respiración el calor se puede acumular elevando la temperatura de la célula, haciéndose menos permeables y reteniendo CO₂. Cuando los niveles de CO₂ son altos o suficientes se inhibe el metabolismo. Si esto ocurre en los frutos híbridos, la acumulación de CO₂ podría ser la causa de la carente producción autocatalítica de etileno, por inhibición del sistema 2. De acuerdo a Denis, (1973), en los frutos mutantes con el gen *rin* se ha demostrado que tienen la capacidad para producir etileno, pero que no se expresa en la madurez comercial por razones desconocidas.

Actividad de Poligalacturonasa (PG) y Firmeza

Los resultados obtenidos en la determinación de PG revelan grandes diferencias en la actividad de esta enzima para la variedad normal con respecto a las variedades híbridas. Durante los primeros tres días a 20°C, la actividad de PG de los tomates normales fue muy baja (0.166 μ moles de AG/min/mg de proteína), incluso muy similar a la actividad de los híbridos *nor*, los cuales se caracterizaron por presentar la actividad más baja durante todo el período de mercadeo (0.117 a 0.182 μ moles de AG/min/mg de proteína). A este tiempo los híbridos *rin* presentaron mayor actividad de PG que las otras dos variedades y fue de 0.273 μ moles de AG/min/mg de proteína, encontrándose diferencias estadísticas significativas en la actividad mostrada por los frutos con la característica *rin* respecto de la normal e híbridos *nor* (Figura 13). La diferencia en actividad de los híbridos *rin* con respecto del normal se atribuye a los diferentes estados de madurez en que se encontraban unos y otros frutos, ya que normalmente los tomates no presentan actividad de PG en el estado verde maduro. La diferencia en actividad de PG entre los tomates híbridos puede deberse a que los frutos con característica *rin* poseen un metabolismo más acelerado que los *nor*.

Al sexto día, la actividad de PG de los frutos normales se incrementó drásticamente hasta un valor de 0.461 μ moles de AG/min/mg de proteína y a partir de aquí se mantuvo elevada hasta alcanzar el máximo valor de 0.525 μ moles de AG/min/mg de proteína al doceavo día. La tendencia general en los frutos híbridos fue de incrementar la actividad de PG durante los primeros nueve días para después decaer. Los híbridos *rin* mostraron valores más altos que los *nor* pero mucho más bajos que los normales (con excepción de los primeros tres días); dichos valores se encontraron en un rango de 0.167 a 0.288 μ moles de

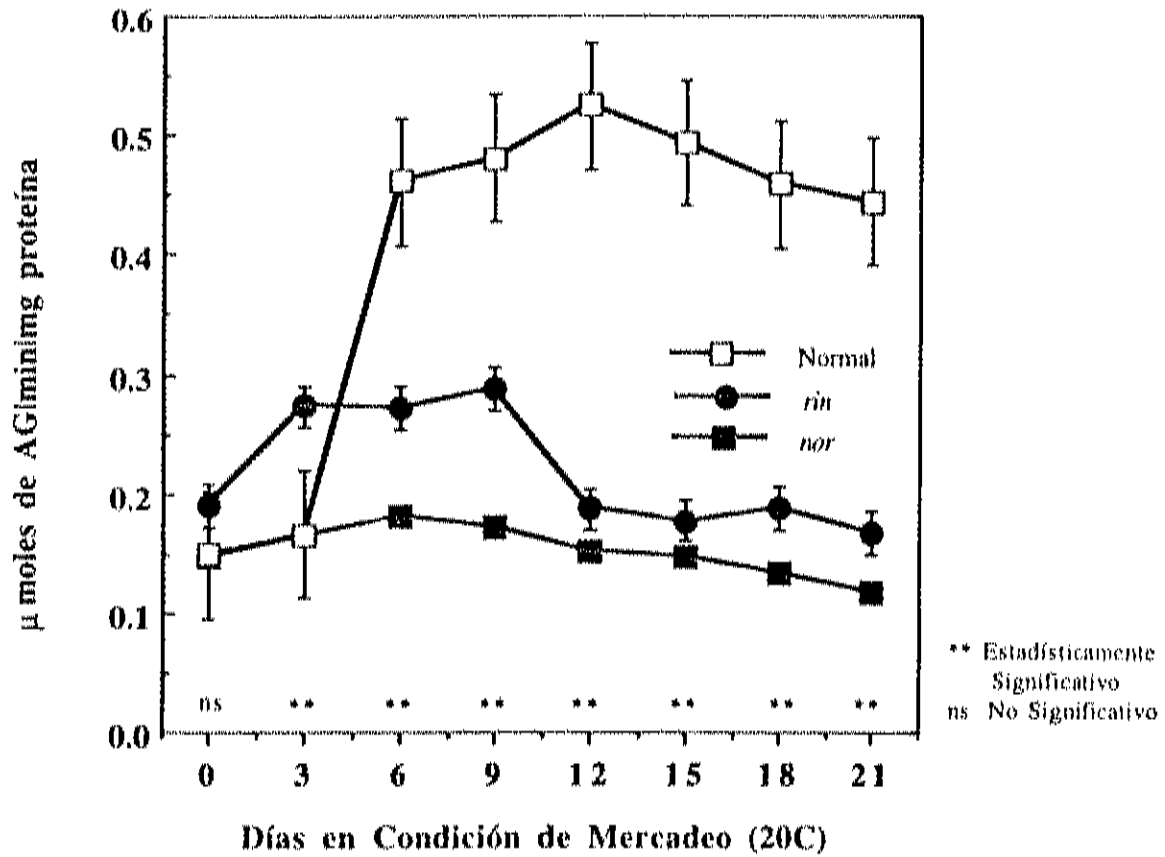


Figura 13.- Actividad de poligalacturonasa en frutos de tomate normales e híbridos con la característica *rin* y *nor*.

AG/min/mg de proteína.

En el sexto y noveno día se encontraron diferencias estadísticas significativas entre las tres variedades de tomate y del doceavo día en adelante las diferencias estadísticas se observaron en frutos normales con respecto de los híbridos, ya que para ese día la actividad entre ambos híbridos era muy similar.

La actividad de PG de los tomates normales encontrada en este trabajo, es ligeramente mayor a la que reportan Smith y col., (1990), en un rango de 0.033 a 0.42 μ moles de AG/min/mg de proteína. La actividad de PG de los híbridos *rin* representó entre el 40 y 60% de la actividad de los frutos normales, en tanto que en los híbridos *nor* representó entre 30 y 40%. En un estudio realizado por Babbit y col., (1973), se determinó que la actividad de PG en los híbridos F1 con el gen mutante *rin* representó el 35% de la actividad de frutos normales, y en híbridos F1 con el gen *nor* fue aproximadamente el 25%. Aunque estos valores son más bajos que los encontrados en el presente estudio, resultan comparables en el sentido de que los híbridos *rin* presentaron mayor actividad que los *nor*.

En lo que respecta a la determinación de firmeza se encontró que durante los primeros tres días de permanecer bajo condiciones de mercadeo los tomates normales mostraron valores altos, de 3.3 Kg-f, a este tiempo los frutos híbridos presentaron valores más bajos que los normales, correspondiendo a los híbridos *rin* el valor más pequeño, el cual fue de 1 Kg-f, en tanto que para los híbridos *nor* fue de 2.4 Kg-f, observándose diferencias estadísticas significativas entre las tres variedades. Al sexto día la firmeza de los frutos normales decayó abruptamente hasta un valor de 1.285 Kg-f, es decir hasta niveles similares a los que presentaban los híbridos *rin*, mientras que en los híbridos *nor* se seguían

manteniendo arriba de los 2 Kg-f. En este caso las diferencias estadísticas fueron significativas en la variedad híbrida *nor* con respecto a los normales e híbridos *rin*. Al noveno día la firmeza de los híbridos *nor* decayó hasta un valor de 1.572 Kg-f, sin embargo, seguía siendo más firme que las dos restantes variedades y así se mantuvo hasta el final del período de mercadeo. En este momento los híbridos *nor* presentaron valores de firmeza de 0.973 Kg-f, que comparado con los valores de los híbridos *rin* de 0.5 Kg-f y en frutos normales de 0.43 Kg-f eran altos, y por lo mismo se presentaron diferencias estadísticas significativas (Figura 14). Ojeda, (1995), sugiere que los frutos de tomate que presentan una firmeza menor de 0.5 Kg-f son frutos que han perdido su calidad y por lo mismo son catalogados como comercialmente inaceptables. En estos términos los tomate normales ya eran comercialmente inaceptables al final del período de mercadeo, mientras que los híbridos *nor* mostraban una apariencia turgente, apetecible a la vista y al tacto. Los híbridos *rin* que se encontraban en el valor límite, mostraban una apariencia intermedia, no se observaron marchitos como los frutos normales, pero sí estaban blandos.

El cambio brusco en la firmeza de los frutos normales denota la susceptibilidad de éstos al ablandamiento y cambios en calidad una vez iniciada la madurez comercial. En contraste, los frutos híbridos a pesar de tener valores más bajos mostraron una tendencia a retener la firmeza por un tiempo más prolongado, especialmente aquéllos con la característica *nor*.

El hecho que los híbridos tuvieran menor firmeza que los frutos normales al principio del período de mercadeo, no quiere decir que sean variedades menos firmes, hay que recordar que los frutos normales se cosecharon en estado verde maduro y los híbridos en

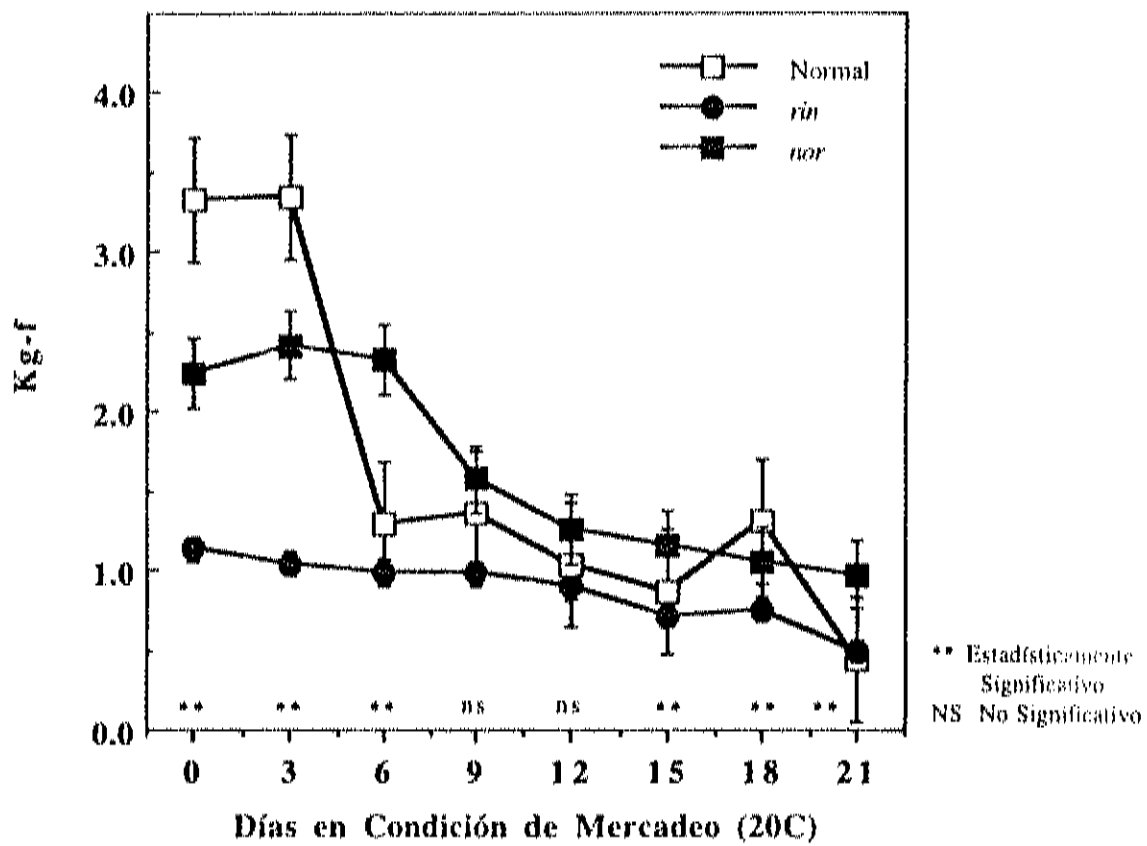


Figura 14.- Cambios de firmeza en frutos de tomate normales e híbridos con la característica *rin* y *nor*.

estado cambiante. Es conocido por otros estudios realizados previamente en estas mismas variedades híbridas que en el estado verde maduro presentan valores de firmeza similares a los tomates normales (información personal).

Las diferencias en firmeza observadas entre las tres variedades presentaron una fuerte relación con los niveles de actividad de PG determinados en cada una de ellas. En los frutos normales a los tres días de mercado la firmeza era alta y la actividad de PG demasiado baja, al sexto día la firmeza decayó bruscamente y los niveles en actividad de PG se incrementaron notablemente, a partir de este día la firmeza permaneció baja y los niveles de PG se mantuvieron altos. Los híbridos *nor* que presentaron los valores más bajos en actividad de PG fueron los que finalmente retuvieron la firmeza por más tiempo; en tanto que los híbridos *rin* que mostraron mayor actividad de PG que los *nor* presentaron menor firmeza que éstos.

Sin embargo, al comparar los niveles de actividad de PG de frutos normales e híbridos *rin* y relacionarlos con sus respectivas firmezas, se encontró que los híbridos *rin* con menor actividad de PG (40-60% de la normal), perdieron mayor firmeza que los normales con excepción del último día. Aunque las diferencias estadísticas entre estas dos variedades no fueron significativas a partir del sexto día, el significado fisiológico de tal comportamiento es importante. Un dato que apoya los resultados obtenidos en este estudio, es el que reportan Smith y col., (1990), acerca de que en frutos *rin* con una actividad de PG de aproximadamente el 60% de actividad normal, se presentaron niveles de ácido urónico soluble comparable al de la fruta normal, lo cual sugiere valores de firmeza similares entre ambos frutos.

Actualmente existen muchas controversias en relación al rol que juega la enzima PG en el ablandamiento de los frutos: mientras que Schuch y col., (1991) afirman que frutos de tomate transgénicos con sólo 1% de actividad de PG muestran un ablandamiento similar o mayor al de frutos normales; Klee, (1993), reporta que en frutos de tomate transgénicos con reducida síntesis de etileno, se observaron niveles de PG similares a los frutos normales y sin embargo, los frutos transgénicos fueron significativamente más firmes que los controles.

Es evidente que PG no es la única enzima que tiene efecto en el ablandamiento de los frutos y que además del factor enzimático, existen otros que también contribuyen; como por ejemplo, el grosor de las paredes celulares internas y externas, así como la proporción y arreglo estructural de las mismas (Al-Falluji y col., 1982). Sin embargo, así como hay controversias, existen muchos datos que apoyan a PG no como el único factor causante del ablandamiento, pero sí como el principal.

El ablandamiento de los frutos se inicia cuando en estados tempranos del proceso de madurez comercial, el complejo protopectina (principal constituyente de la pared celular primaria) es atacado por las protopectinasas, en este tiempo el complejo se separa en sus componentes principales que son celulosa, hemicelulosa, polisacáridos pécticos, proteínas y calcio, observándose que las células siguen permaneciendo en su lugar aunque menos rigidamente, pero el ablandamiento todavía no se percibe. Posteriormente, el ataque enzimático secuencial continúa en los polímeros liberados; por una parte celulosa y hemicelulosa son atacadas por celulasas (glicosidasas, galactasas y glucanasas) y las sustancias pécticas por pectinasas como PME y PG (Wilbur, 1983).

Hay evidencias de que algunas celulasas contribuyen al ablandamiento y desintegración del tejido antes de que PG sea activa, pero se ha observado que esto ocurre *principalmente* en las cavidades locales donde se forma el gel de los frutos de tomate. Al respecto se puede afirmar que aunque el ablandamiento del tejido local es importante, no es el factor determinante, pues el ablandamiento del pericarpio es el que produce las mayores pérdidas en firmeza (Friend y Rhodes, 1981).

Por otra parte, se especula que alguna celulasa sea la causante del ablandamiento del pericarpio en los frutos de tomate. Probablemente el proceso de ablandamiento sea iniciado por alguna celulasa que actúa sobre las fibrillas de celulosa que quedaron enlazadas a sustancias pécticas tras la acción de protopectinasa, pero esto es con el fin de permitir a las enzimas pécticas penetrar en la lamela media de la pared celular primaria e iniciar su actividad (Babbit, 1973).

En artículos publicados recientemente, como el de Carey y col., (1995) y otros no tan recientes como el de Pressey, (1983), se habla de la posibilidad de que β -Galactosidasa conocida también como (1-4)- β -D-Galactanasa, en especial la isoforma II, sea la responsable del ablandamiento del pericarpio en tomate, pues han observado que actúan directamente en pectinas ricas en galactanos con esas uniones, las cuales son muy abundantes en tomate, esto quiere decir que las celulasas no nada más actúan en celulosa y hemicelulosa, sino también en pectinas. Dichas pectinas experimentan una degradación durante la maduración comercial, al mismo tiempo que la mencionada enzima se incrementa hasta 4 veces de sus niveles basales. Como un apoyo a su hipótesis ellos también trabajaron con mutantes *rin* y

determinaron que a la par con el poco ablandamiento, la actividad de la enzima no se incrementó, como sucede con PG. Es importante aclarar que los galactanos solo forman una parte pequeña de las sustancias pécticas comparados con el ácido galacturónico, ya que éste es la estructura base de dichas sustancias. Gross y Wallner, (1979) y Villarreal, (1989), estiman que aproximadamente el 60% de la pared celular del pericarpio de tomates verdes maduros se componen de una mezcla de ácido galacturónico en forma de poligalacturonanos, galactosa en forma de galactanos, arabinosa como arabinogalacturonanos y ramosa como ramnogalacturonanos; de éstos, el 75% corresponde exclusivamente a ácido galacturónico. Probablemente β -Galactosidasa sea muy efectiva en la degradación de los galactanos, pero la degradación del ácido galacturónico, es decir del mayor componente de las sustancias pécticas y por consecuencia de la pared celular corresponde a PG. De aquí se concluye que son muchas las enzimas involucradas dentro del proceso de ablandamiento, pero cuando actúa PG se dan los cambios realmente notables en la firmeza de los frutos de tomate; mientras no se degrada el ácido galacturónico no se solubiliza la pectina. Algunos frutos que presentan una retención elevada de pectina insolubles, mantienen su firmeza aún cuando están maduros (Pantástico, 1984).

Por lo tanto si PG es la responsable de los cambios más notables en el ablandamiento de los frutos, es difícil explicar el porqué los híbridos *rin* presentaron menor firmeza que los frutos normales poseedores de una mayor actividad de PG. A este respecto, se ha encontrado que en otras variedades de tomate, como los Long Keeper (los cuales se caracterizan por ser muy firmes) se ha aislado una nueva isoenzima de PG, la cual muestra

características diferentes a la PG1 y PG2 de los frutos normales; aunque su actividad es baja y su peso molecular intermedio entre las otras 2 isoenzimas no se conoce como actúa realmente. En estos mismos frutos se ha encontrado PG1 y la nueva isoenzima, ya que PG2 sólo se ha encontrado en niveles traza (Pressey y Avants, 1982).

Actualmente no existen reportes donde se hayan estudiado las características y propiedades bioquímicas de las isoenzimas de PG en los mutantes *rin* y *nor*, probablemente éstas difieren de las normales no sólo en cantidad como se ha propuesto, sino en estructura y función.

Por otra parte, se ha especulado acerca de que la reducción en la actividad de PG conduce a modificaciones en la estructura de la pared celular y en consecuencia se tienen efectos significativos en las propiedades de los frutos de tomate (Schuch y col., 1991). Considerando que la actividad de PG es el cambio más drástico que ocurrió a los híbridos *rin* y *nor* durante maduración, dentro de las variables medidas en este estudio, se piensa que lo anteriormente citado tenga algún efecto. Probablemente, dependiendo de los niveles en la reducción de actividad de PG sea la magnitud en que se manifiesten los cambios en las paredes celulares de los frutos a manera de respuesta.

Gross y Wallner, (1979), al realizar un estudio en frutos de tomates normales y mutantes *rin* puros, señalan la posibilidad de que un galactano o un arabinogalactano podrían regular la actividad de PG, restringiendo su acceso al sustrato dentro de los polisacáridos complejos de la pared celular. La experiencia de nuestros resultados y en base a reportes bibliográficos, parece ser que el efecto que tiene el gen mutante *rin* como parte de una cruce con frutos normales va perdiendo efecto en algunas características, de tal manera que en

algunos aspectos muestra un comportamiento similar al de los frutos normales; esto quiere decir, que sí como línea homocigótica pura el mutante *rin* posee un galactano o arabinogalactano que restrinja la actividad de PG, probablemente como un híbrido pierda parcialmente esa característica, ya sea porque el galactano o arabinogalactano se produzca en menores cantidades o bien porque dicho compuesto pierda su capacidad de restringir a alguna isoenzima de PG en particular.

En algunos estudios se menciona la posibilidad de que PG1 sea la isoenzima presente en los frutos mutantes *rin* y *nor*, y que se carezca de PG2 o bien se encuentre en cantidades más pequeñas que PG1. Si esa situación estuviera ocurriendo, se debe considerar la posibilidad de que la subunidad β presente en PG1 posea algún defecto, pues es sabido que es una glicoproteína, lo que implica que alguna fracción de galactano o arabinogalactano podrían estar asociados con la estructura de dicha subunidad. Un cambio en la estructura normal del galactano o arabinogalactano podrían afectar la función de la subunidad β , a la cual se le asocian funciones como la de localizar el sitio de acción de la isoenzima PG1, así como la regulación de su actividad para sitios específicos.

Otra opción la constituye el hecho de que la subunidad β se vea afectada de otra manera, en algunos de los 25 aminoácidos que actúan como péptido señal y conduzca a una actividad defectuosa y en vez de producir los oligómeros que normalmente produce, produzca otros quizá de menor longitud y por eso son más solubles, a la vez que no pueden ser reconocidos para la actividad de otra isoforma de PG que pudiera estar presente. También se especula que dichos oligómeros no pudieran actuar como moduladores en la

síntesis de etileno y por ello se carezca de alta producción de etileno en los frutos híbridos (Melotto y col., 1994).

Ryan y Farmer, (1991), reportan que PG1 y PG2 son efectivas en la inducción de la síntesis de etileno, pero PG1 es más efectiva que PG2.

Existen muchas posibilidades de que algún defecto de la isoenzima PG1, que es la que supuestamente está presente en mayor concentración en los frutos mutantes, sea la responsable de las diferentes actividades que se observan entre los frutos normales con respecto a aquéllos que poseen un gen mutante.

PG2 se forma a partir de PG1, si ésta es defectuosa probablemente PG2 no se pueda formar por el mecanismo normal, o conduzca a la formación de otro tipo de enzima que aún no se ha reconocido.

Parece ser que el efecto que tiene un gen mutante o transgénico en la expresión de la madurez comercial, es dependiente de la variedad normal que se use para su cruce, pues son muy diversas las respuestas que se tienen.

Color Interno

Color Verdadero (Hue)

Los frutos de tomate normales experimentaron un incremento en los valores de Hue en el momento en que se iniciaron los cambios preparatorios para el desarrollo de la coloración característica del fruto. Al tercer día bajo condiciones de mercadeo el valor de Hue o ángulo de matiz aumentó notablemente desde un valor de -71.264 a 78.502, que de acuerdo a la esfera de color esto significó un cambio de color de verde-amarillo a naranja-amarillo. A este mismo tiempo los híbridos *rim* mostraron valores de Hue más bajos de

39.550 a 28.668, los cuales representaron cambios en color de rojo-naranja a rojo. En los híbridos *nor*, el cambio de color fue más lento que en los *rin* pues a este tiempo cambiaron de un color amarillo-naranja a un naranja-rojizo, con valores de hue correspondientes a 84.428 y 47.299 (Figura 15). Las diferencias en color observadas en las tres variedades de tomate se debían a que los frutos híbridos se encontraban en un estado de madurez (cambiante) más avanzado que los normales y desde el punto de vista estadístico las diferencias resultaron significativas para todas las variedades.

Al sexto día, los frutos normales experimentaron otro cambio en los valores de Hue, pues éstos tendieron a disminuir hasta un rango que osciló de 42.629 a 38.711; para este día los tomates normales ya habían desarrollado un color rojo-naranja que se mantuvo hasta el final de su vida útil. Como se puede observar el desarrollo de color rojo se inició al tiempo en que se presentó el climaterio y el disparo en la actividad de PG en estos frutos. En los híbridos *rin* los valores de Hue se mantuvieron muy similares a los que presentó en el tercer día y así permanecieron durante todo el período de mercadeo. En los híbridos *nor* la tendencia fue a mantener el color naranja-rojizo hasta el doceavo día y a partir de aquí los valores de Hue decrecieron a un rango que se mantuvo de 39.991 a 36.104 donde se alcanzó un color rojo-naranja muy similar al que se presentó en los frutos normales; por esta razón a partir del sexto día las diferencias estadísticas se observaron con respecto a los híbridos *rin* que desarrollaron un color más rojo que las otras dos variedades. Generalmente los frutos normales desarrollan un color más rojo que las variedades mutantes o aquellas hibridizadas con genes mutantes y en este estudio el híbrido *rin* presentó mayor coloración roja.

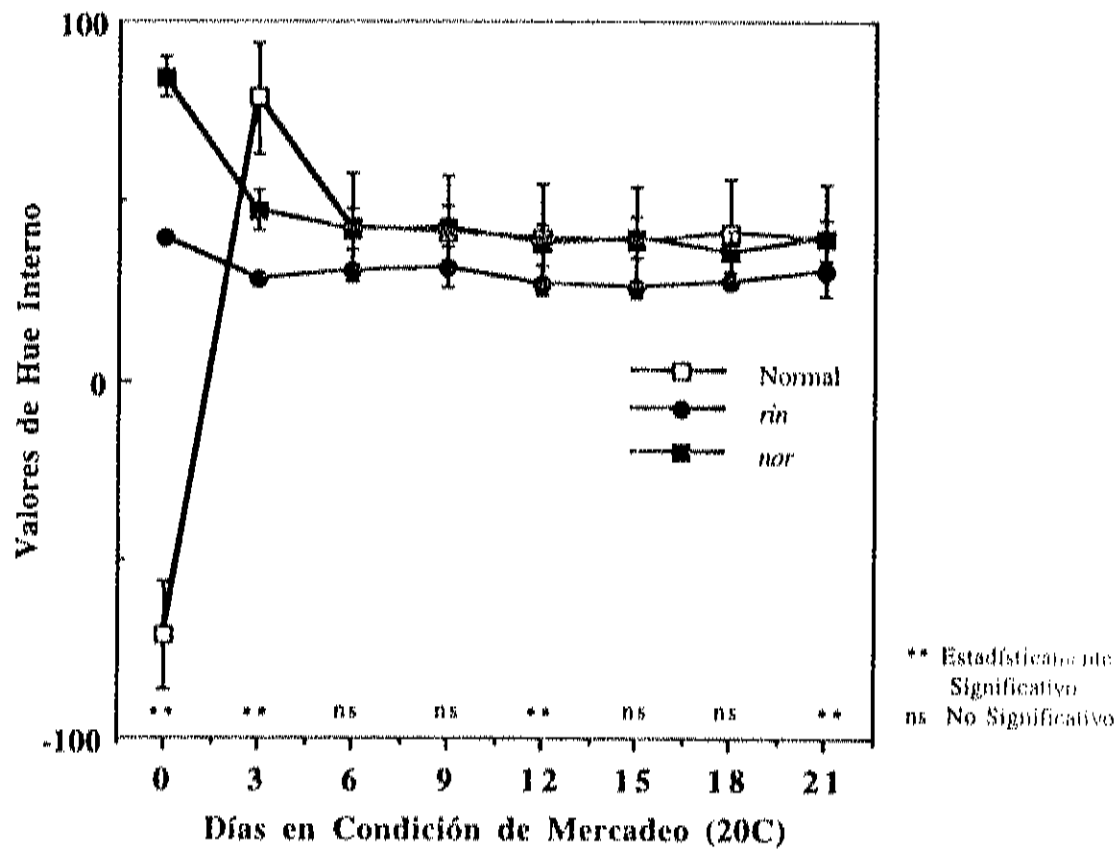


Figura 15.- Comportamiento de los valores de Hue interno en frutos de tomate normales e híbridos con la característica *rin* y *nor*.

Pureza del Color (croma)

Al inicio del período de mercadeo los tomates normales e híbridos *rin* presentaron mayor pureza de color que los frutos con la característica *nor*, pues mostraron valores de croma más altos de 21.876 y 23.473 respectivamente, contra 18.490, encontrándose diferencias estadísticas significativas con respecto a estos últimos. Conforme transcurrieron los días, la pureza del color incrementó en las tres variedades, observándose que en los frutos normales e híbridos *nor* la mayor pureza se alcanzó junto con el desarrollo del color rojo-naranja; sin embargo, los valores de croma de estos frutos fueron notablemente más bajos (en especial los *nor* con valores de 26-28) que los presentados por los híbridos *rin* que mostraron valores de 32-35 (Figura 16).

Luminosidad (L)

La luminosidad mostró una clara tendencia a disminuir conforme avanzaba el período de mercadeo y se daban los cambios en color en las tres variedades de tomate; sin embargo, se encontraron diferencias notables entre los frutos. Los valores de luminosidad resultaron mucho mayores en los frutos normales e híbridos *nor* (especialmente estos últimos), con valores aproximados a 58 que disminuyeron a 38, mientras que en los híbridos *rin* decayeron de 39 a 33. Como se puede observar los valores máximos de L alcanzados por los híbridos *rin* fueron los mínimos para las otras dos variedades, por lo que se observaron diferencias estadísticas significativas con respecto de los híbridos *rin*. Al quinceavo día la luminosidad de los tomates normales decayó abruptamente para después nivelarse, en tanto que en los híbridos *nor* siempre se mantuvieron altos (Figura 17). Esto quiere decir que los híbridos *rin* y normales tienen un color más oscuro o intenso.

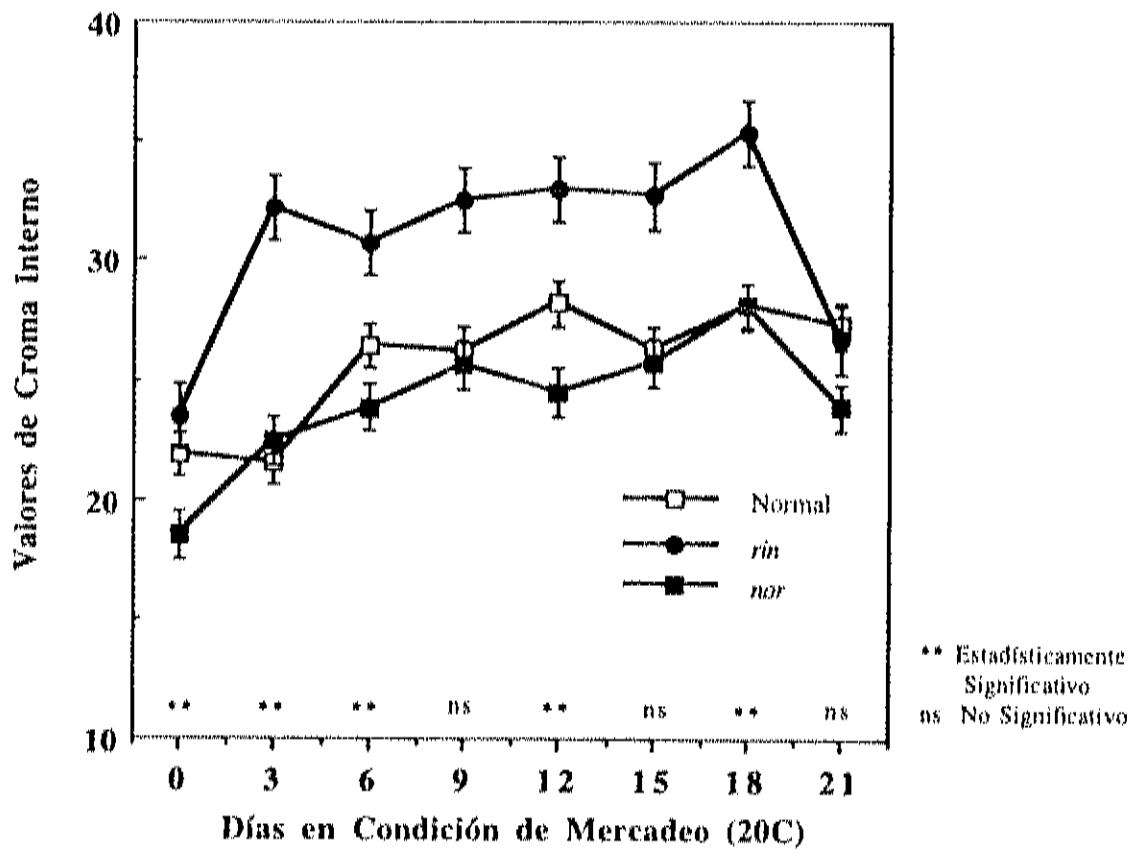


Figura 16.- Comportamiento de los valores de croma interno en frutos de tomate normales e híbridos con la característica *rin* y *nor*.

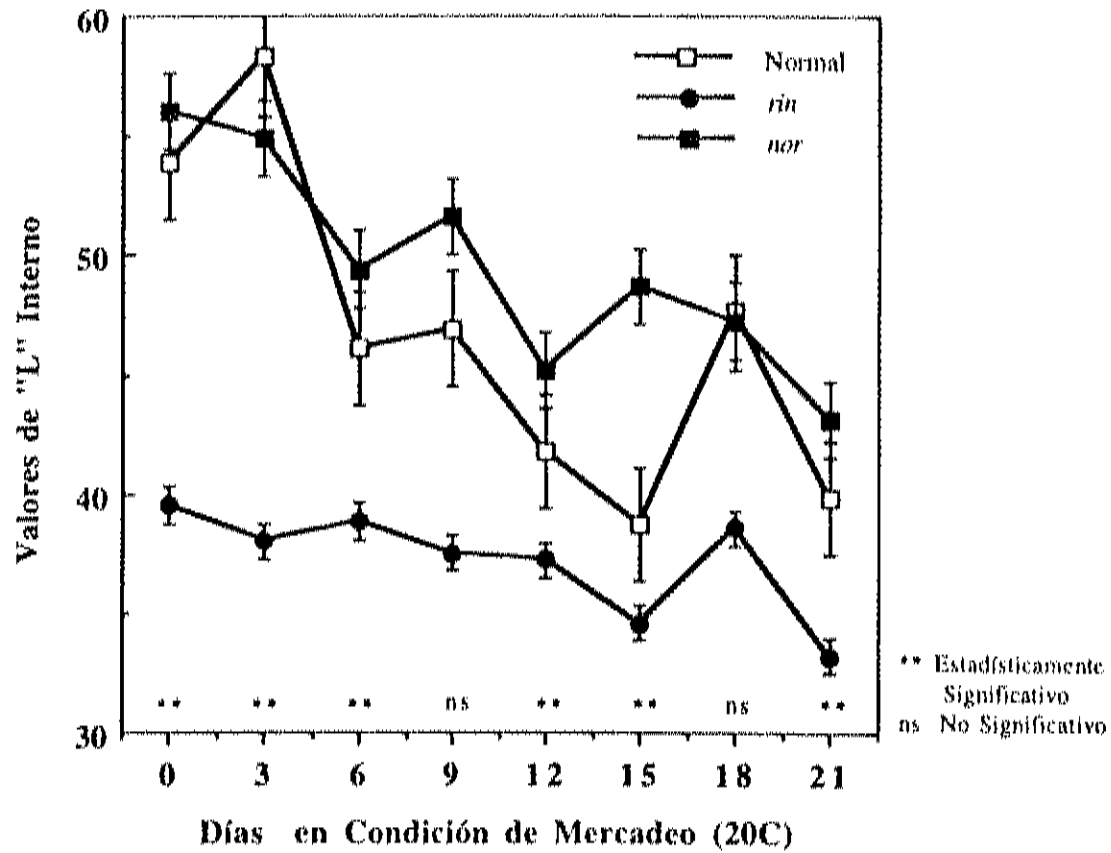


Figura 17.- Comportamiento de los valores de luminosidad "L" interna en frutos de tomate normales e híbridos con la característica *rin* y *nor*.

Color Externo

Color Verdadero (Hue)

Los cambios en Hue externo de los frutos normales fueron similares en comportamiento a los internos, pero más lentos. A los tres días a 20°C, los valores de Hue o ángulo de matiz pasaron de -72.881 a 84.737, es decir de un color verde-amarillo a un amarillo-naranja según la esfera de color. A este tiempo el Hue interno representaba un matiz más naranja, lo que revela probablemente un mayor desenmascaramiento de carotenos o una mayor degradación de clorofila internamente que externamente, y esto es lógico pues la madurez del tomate se inicia internamente. Para corroborar lo mencionado anteriormente se presentan los resultados en los cambios de Hue en híbridos *rin*, que de un valor de 51.225 (correspondiente a un matiz naranja-rojizo) pasaron a 33.89 (matiz rojo); pero internamente en este tiempo, dichos frutos pasaron de un color rojo-naranja a rojo. En los híbridos *nor* el cambio fue de un valor de Hue de 78.709 a 62.409, lo que significa un cambio de color de naranja-amarillo a naranja, mientras que para entonces internamente ya habían adquirido un color naranja-rojizo. Debido a los diferentes cambios en color, los frutos de las tres variedades presentaron diferencias estadísticas significativas.

Al sexto día, los frutos normales disminuyeron sus valores de Hue y a partir de aquí se mantuvieron en un rango de 32.179 a 24.069, correspondiente a un color rojo. Los híbridos *rin* ya presentaban también valores bajos de Hue muy similares a los frutos normales y persistieron hasta el final del período de mercadeo, éstos oscilaron de 31.640 a 20.337. El color verdadero externo alcanzado por los híbridos *rin* fue muy similar al que se presentó en los frutos normales, por lo que no se encontraron diferencias estadísticas

significativas entre estos frutos, pero si con respecto a los híbridos *nor*, los cuales mostraron valores de Hue que variaron de 60.764 a 32.525, correspondientes a un cambio de color de naranja a rojo-naranja (Figura 18).

En los híbridos *nor* los cambios en color verdadero externo e interno fueron más lentos que las dos restantes variedades y finalmente, mostraron un color rojo-naranja tanto externo como interno, aunque externamente tendió a ser un poco más rojo. Los frutos normales fueron más rojos externamente que internamente, ya que externamente adquirieron un color verdadero rojo similar a los híbridos *rin*, e internamente un color rojo-naranja similar al *nor*. Los híbridos *rin* en cambio, fueron poseedores de un color rojo verdadero tanto interna como externamente.

Según Davies y Hobson, (1981), los frutos mutantes poseen la capacidad para desarrollar una pigmentación normal, pero por razones aún desconocidas, en algunos casos ésta tiende a suprimirse.

Pureza del Color (Croma)

La pureza del color aumentó en las tres variedades de tomate conforme se daba el desarrollo de color. A los tres días en condiciones de mercadeo, la pureza de color de los frutos normales fue más baja que en los frutos híbridos *rin* y *nor*, debido a que presentaron valores de croma de 25.800, 34.392 y 29.501 respectivamente, observándose diferencias significativas entre los tres tipos de tomate. A partir del sexto día, los valores de croma de los frutos normales incrementaron con respecto de los híbridos en forma notable y significativa desde el punto de vista estadístico, a valores que variaron entre 36 y 38,

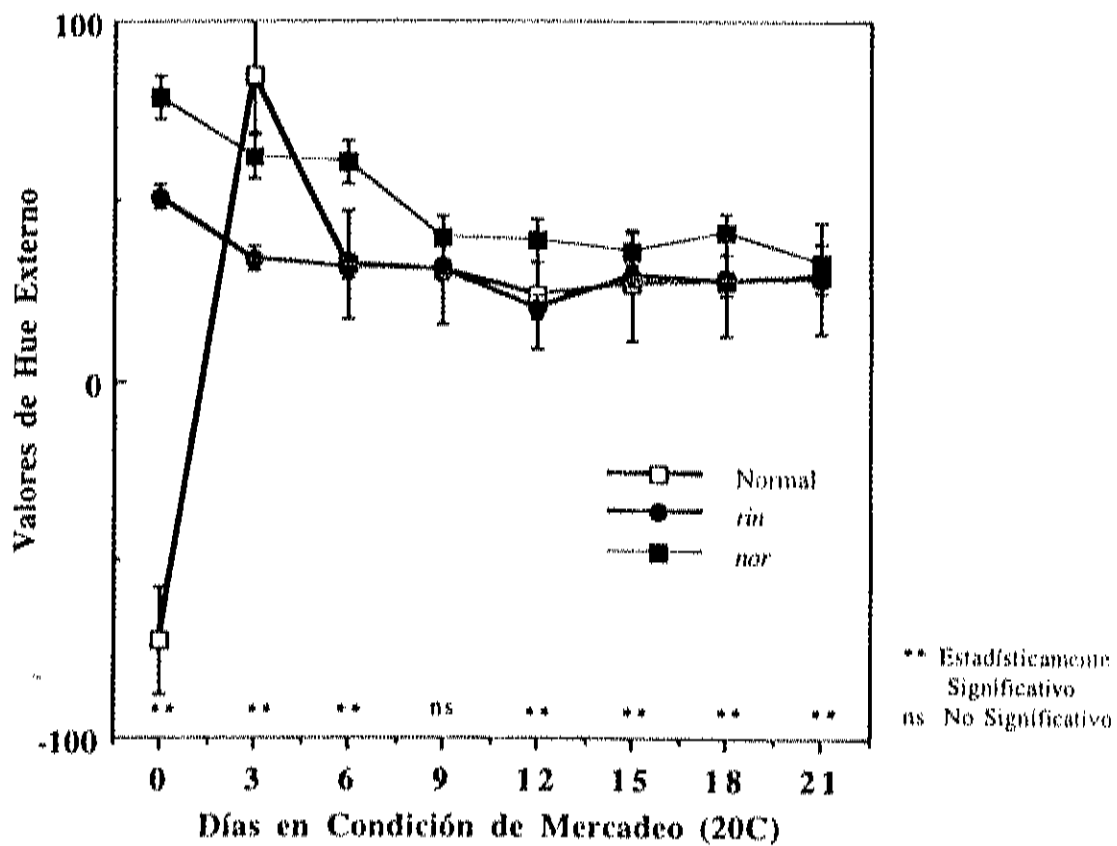


Figura 18.- Comportamiento de los valores de Hue externo en frutos de tomate normales e híbridos con la característica *rin* y *nor*.

manteniéndose dicho incremento hasta el quinceavo día. Después, los valores de croma de los frutos normales siguieron siendo más altos que los híbridos *rin*, pero similares a los *nor* (Figura 19).

En términos generales el color externo fue más puro que el color interno en las tres variedades de tomate, pues se alcanzaron valores de croma más altos. No obstante, el color externo más puro fue para los frutos normales y el color interno más puro fue para los híbridos *rin*.

Luminosidad (L)

Los valores de luminosidad del color externo mostraron una tendencia similar a la observada en el color interno, pues disminuyeron notablemente a medida que transcurrieron los días de mercadeo. Durante los primeros tres días, los valores de luminosidad de los frutos normales e híbridos *nor* fueron significativamente más altos (54-61) desde el punto de vista estadístico, que los alcanzados por los híbridos *rin* (aproximadamente 44). Sin embargo, al sexto día los valores de luminosidad de los frutos normales decayeron significativamente con respecto de los híbridos *nor* hasta alcanzar valores (46-35) muy similares a los híbridos *rin*, los cuales se distinguieron por ser los que presentaron los colores menos luminosos tanto externa como internamente. Los colores en los híbridos *nor* fueron los más luminosos en los dos casos (Figura 20).

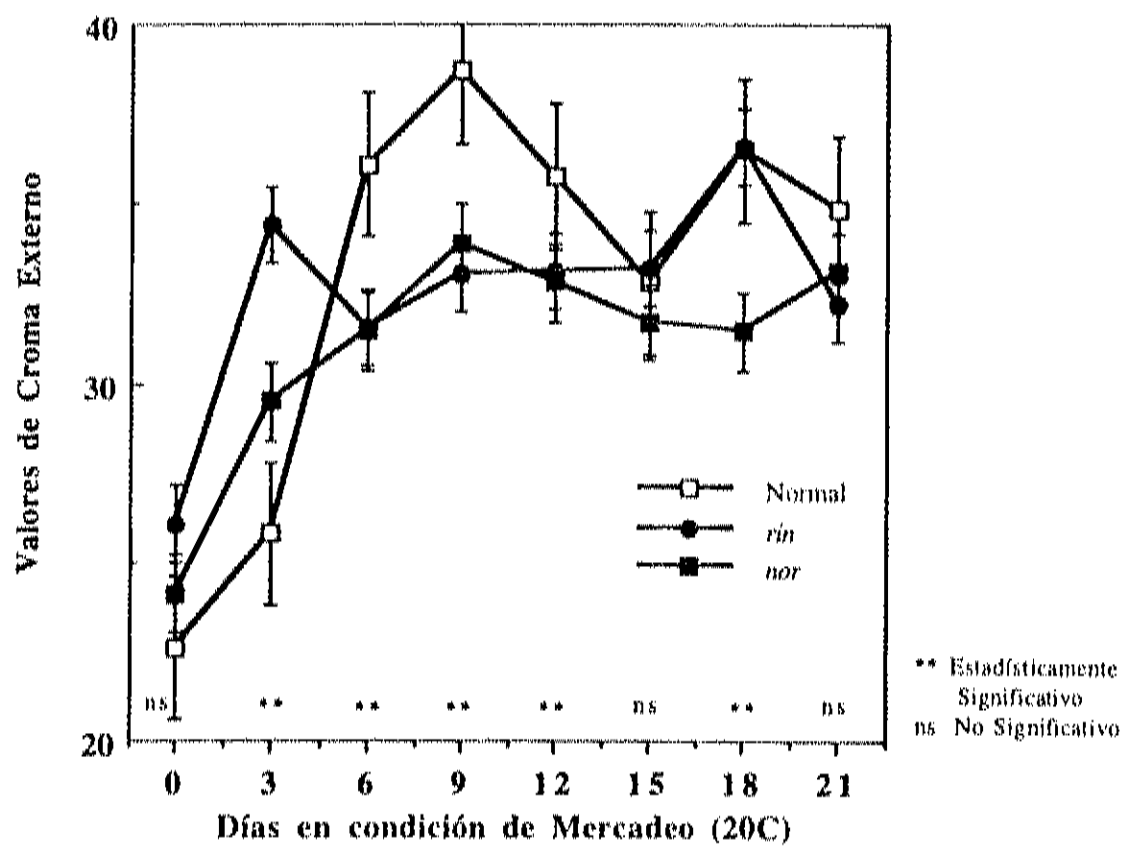


Figura 19.- Comportamiento de los valores de cromina externa en frutos de tomate normales e híbridos con la característica *rin* y *nor*.

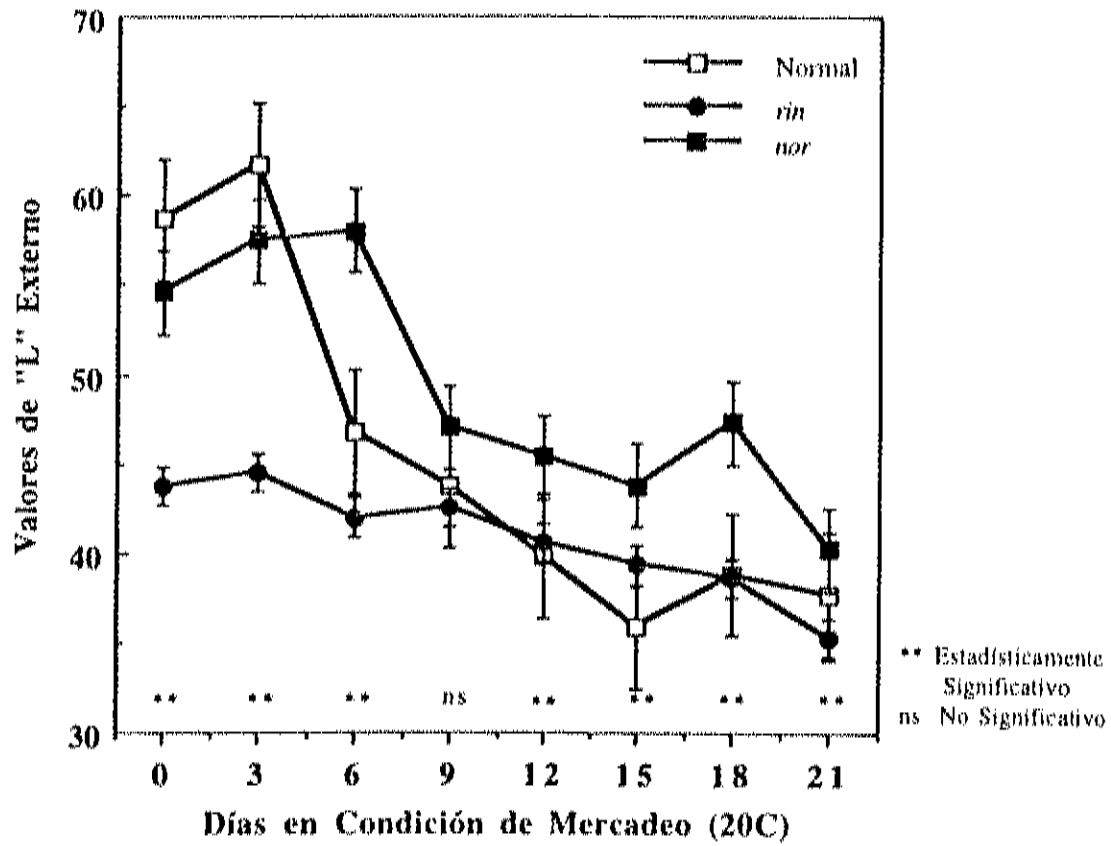


Figura 20.- Comportamiento de los valores de luminosidad "L" externa en frutos de tomate normales e híbridos con la característica *rin* y *nor*.

pH, Acidez Titulable y Sólidos Solubles Totales

El comportamiento general en los cambios de pH mostrados por los frutos de tomate, incluyendo a las tres variedades, fue el que normalmente se observa en la mayoría de los frutos, en el sentido de que la tendencia fue a aumentar a conforme avanzaba el proceso de madurez. Al inicio del período de mercadeo los valores de pH fueron muy similares en las tres variedades, pero al sexto día se observó una reducción en el pH de los híbridos *rin* (desde valores de 4.035 a 3.835) y en los frutos normales (de 4.008 a 3.904). Sin embargo, en los híbridos *nor* se observó un aumento gradual. Este comportamiento estableció claras diferencias desde el punto de vista fisiológico y también estadístico en las tres variedades de tomate. Posterior a la reducción se dió un incremento muy drástico en el pH de los híbridos *rin*, el cual permaneció hasta el doceavo día, alcanzando un valor máximo de 4.431, mientras que en los híbridos *nor* y frutos normales el aumento fue gradual, con valores más bajos y similares entre sí. Al quinceavo día el pH disminuyó ligeramente en los híbridos *rin*, mientras que en los *nor* aumento considerablemente y alcanzó valores similares al *rin*, alrededor de 4.3. Finalmente en el último día del período de mercadeo los frutos de las tres variedades alcanzaron un pH similar próximo a 4.2 (Figura 21).

En términos generales, se observó que el pH más bajo lo presentaron los frutos normales y el más alto los frutos híbridos, pero a tiempos diferentes, primero los híbridos *rin* al doceavo día y después al quinceavo día los *nor*. También se puede observar que los cambios más drásticos en los valores de pH los presentaron los frutos híbridos, en especial los *rin*, mientras que en los frutos normales se observaron menos fluctuaciones.

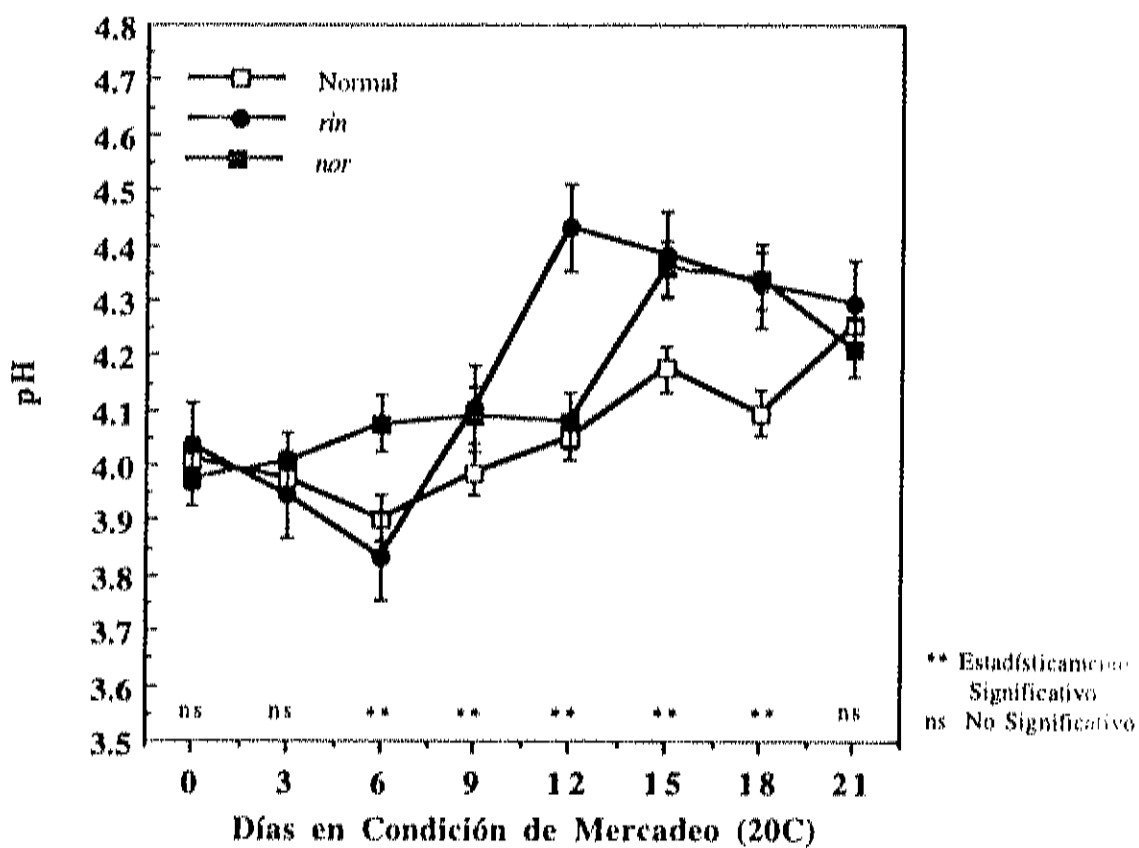


Figura 21.- Cambios de pH en frutos de tomate normales e híbridos con los genes mutantes *rin* y *nor*.

La acidez titulable de los frutos de tomate, disminuyó conforme se desarrolló el proceso de madurez. Hasta el tercer día a 20°C, los porcentajes de acidez titulable eran significativamente (estadísticamente) altos en las variedades normal e híbridos *rin* (0.802 y 0.689 respectivamente), pero a partir del sexto día empezaron a disminuir hasta finalizar el período de mercadeo. En los frutos normales el decremento fue gradual (con valores de 0.627 hasta 0.467), en contraste en los híbridos *rin* la reducción fue significativamente (estadísticamente) brusca hasta un valor de 0.325, para posteriormente mantenerse fluctuando en ese rango. Los híbridos *nor* mantuvieron porcentajes de acidez titulable casi constantes durante los primeros seis días (0.42); al noveno día mostraron un incremento hasta 0.581, posteriormente al doceavo día disminuyeron hasta 0.253 y se mantuvieron dentro de ese rango hasta el final del período de mercadeo (Figura 22). Se observó que existe correspondencia entre los valores de pH y los porcentajes de acidez titulable de los frutos normales e híbridos, ya que los primeros mostraron los pH's más bajos y al mismo tiempo los porcentajes de acidez titulable más altos; mientras que los segundos presentaron pH's mas altos que los frutos normales y a su vez los porcentajes de acidez titulable más bajos. Es importante señalar también que los cambios en los porcentajes de acidez titulable fueron drásticos en los frutos híbridos, mientras que en los normales fueron más graduales.

En otros estudios se reporta que los híbridos F1 con genes mutantes *rin* y *nor* presentan mayor acidez que las variedades normales (Tigchelaar y col., 1978 a). En nuestro estudio sucedió lo contrario.

El contenido de sólidos solubles totales aumentó en el período de mercadeo o proceso de madurez. Al inicio del estudio, los sólidos solubles totales presentaron cerca de

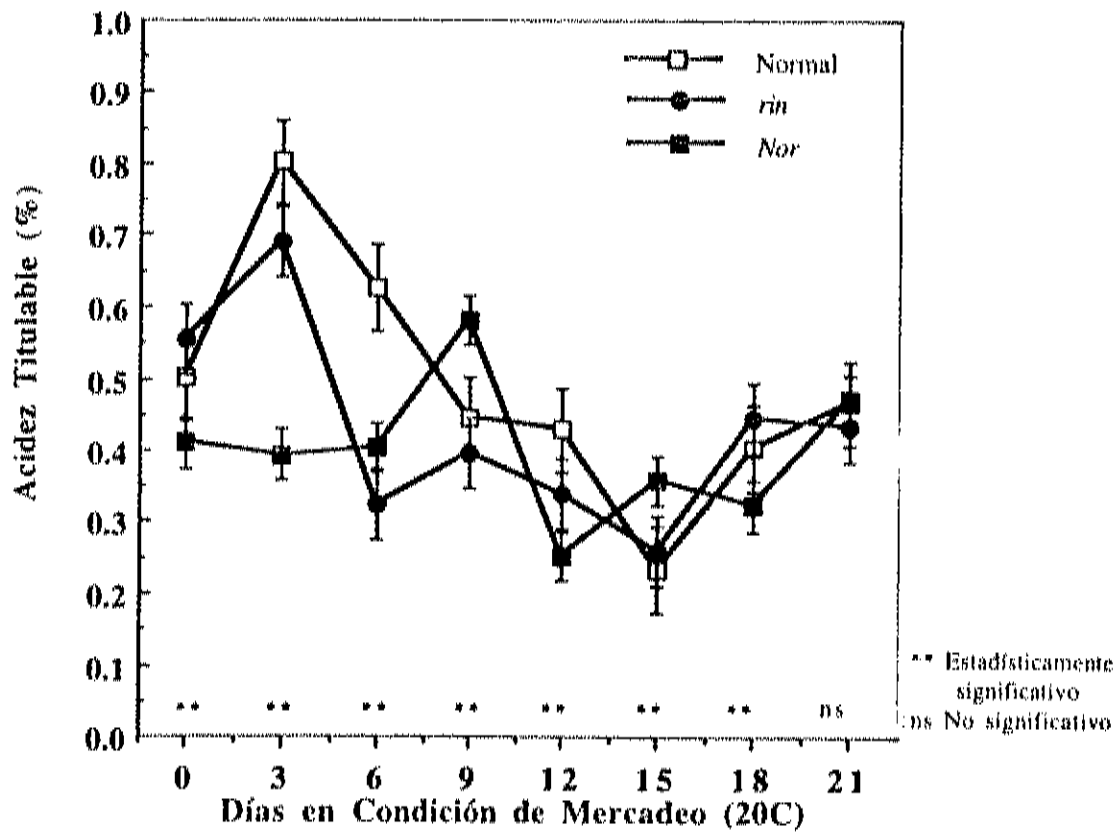


Figura 22.- Comportamiento de la acidez titulable en frutos de tomate normales e híbridos con los genes mutantes *rin* y *nor*.

1 °Brix en las tres variedades, pero al tercer día aumentaron notablemente a 2.6 °Brix en los frutos normales y 2.8 en los híbridos *rin*, mientras que en los *nor* permanecieron bajos (0.6). Encontrándose diferencias estadísticas con respecto a aquéllos. Al sexto día los frutos normales mantuvieron un valor similar al anterior (2.2 °Brix), mientras que en los híbridos *rin* se reducían notablemente hasta un valor de 0.6 °Brix al igual que en los *nor*, encontrándose nuevamente diferencias estadísticas en relación a los frutos normales. Al noveno día los híbridos volvieron a incrementarse, alcanzando un valor similar a los frutos normales (3.2 y 3.4 °Brix), y así permanecieron fluctuando hasta alcanzar su máximo valor de 3.6 °Brix al final del periodo de mercadeo. En tanto los frutos normales mantuvieron su incremento hasta el doceavo día donde alcanzaron su máximo valor que fue de 4 °Brix para después disminuir a valores próximos a los 3 °Brix (Figura 23).

Los tomates híbridos mostraron muchas fluctuaciones en el contenido de sólidos solubles totales, al igual que en pH y acidez titulable antes de estabilizarse al final del periodo de mercadeo. Los tomates normales en cambio, presentaron un comportamiento más regular, además de presentar los valores mas altos. Dichas diferencias en comportamiento entre las variedades híbridas y normal se pueden atribuir al efecto que tienen los genes mutantes en el desarrollo del proceso de madurez comercial.

Tomando en cuenta que los porcentajes de acidez titulable considerados como normales en frutos de tomate con alta calidad oscilan alrededor de 0.32%, se estimaría que las variedades híbridas y normal aquí estudiadas son ácidas, sin embargo la acidez titulable no es el único factor determinante en la calidad comestible de un fruto, sino también su contenido de sólidos solubles totales. Saltveit y Sharaf, (1992), proponen que un contenido

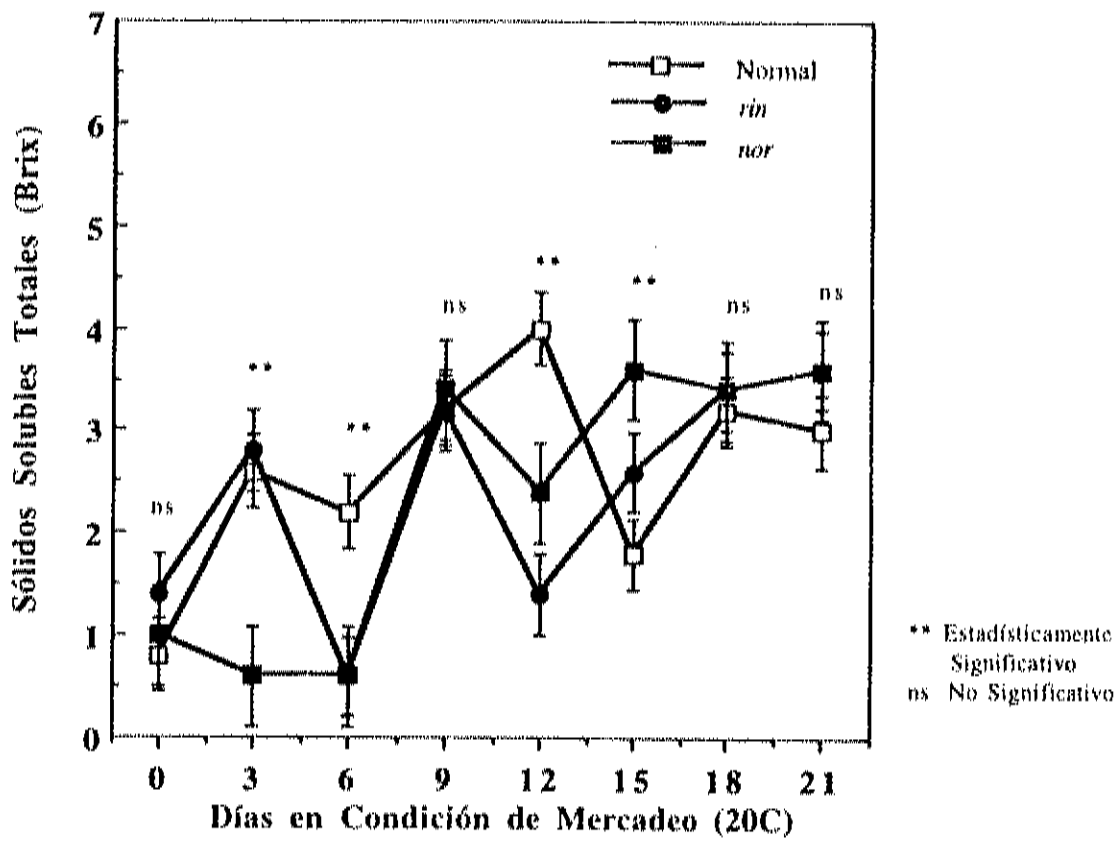


Figura 23.- Comportamiento del contenido de sólidos solubles totales en frutos de tomate normales e híbridos con los genes mutantes *rin* y *nor*.

mayor a 3°Brix puede ser determinante por la aceptación de los frutos.

Partiendo de la importancia que tiene la relación del contenido de sólidos solubles totales y el porcentaje de acidez titulable en la calidad comestible de un fruto, los tomates normales tuvieron una mejor calidad comestible que los tomates híbridos, porque presentaron la mayor acidez y el más alto contenido en sólidos solubles totales. De acuerdo a Frenkel y Jen, (1989), un fruto que presenta al mismo tiempo un alto contenido en azúcares y ácidos posee una mejor calidad sensorial, ya que intensifica fuertemente su sabor.

Muestehler y col., (1992), plantean que los efectos nocivos que tiene el gen mutante *rin* en el sabor de los frutos híbridos, son ligeros, mientras que en los frutos híbridos con el gen *nor* son más severos.

Relación de las características cuticulares y Actividad de Poligalacturonasa Dentro del Proceso de Madurez Comercial

Los resultados de este estudio muestran que los cambios en permeabilidad anteceden por tres días al climaterio, disparo en actividad de PG y cualquier cambio relacionado a la madurez comercial de los tomates normales. Un resultado similar fue reportado por Sacher y col., (1966), en frutos de plátano, donde los cambios en permeabilidad ocurrieron 40 horas antes del incremento en la producción de etileno y respiración.

En los tomates híbridos los cambios en permeabilidad fueron gradualmente acompañados por altas tasas respiratorias, además de un leve incremento en la actividad de PG.

Estos resultados sugieren que los cambios en permeabilidad son un factor primario en el desarrollo de la madurez comercial y a partir de aquí se desencadenan una serie de reacciones concatenadas que suceden como respuesta rápida, sin alcanzar a distinguir cual ocurrió primero. En estos términos la producción de etileno concomitante a la elevación de la tasa respiratoria, así como el disparo en la actividad de PG quedan situados como eventos secundarios, pero no menos importantes.

La producción de etileno durante la maduración comercial y senescencia de los frutos es una respuesta al estrés impuesto por la programación genética de la muerte de varias entidades celulares, incluyendo membranas y paredes celulares, de tal manera que el etileno sirve como acelerador de la madurez comercial, pero no es agente primario que la causa. Otros factores tales como la sensibilidad del tejido al etileno, determina la capacidad de un fruto para madurar (Ahrens y Huber, 1990).

Aunque el etileno no fue detectado en los frutos híbridos, si se observaron cambios en la actividad de PG, por lo que el desarrollo del proceso de madurez comercial puede prescindir del etileno, sin embargo, el tomate es un fruto que requiere de muy bajos niveles de etileno para madurar, comparado con otros frutos. En el preclimaterio el tomate presenta concentraciones de etileno que fluctúan entre 0.03 a 0.08 $\mu\text{l/l}$, en el comienzo de la respiración climatérica se observan cantidades de 0.8 $\mu\text{l/l}$ y en el pico climatérico puede llegar a 10 μl . El etileno es activo fisiológicamente en cantidades traza menores a 0.1 $\mu\text{l/l}$ (Thimann, 1983; Kader, 1985 b). Esto quiere decir, que quizá las cantidades de etileno producidas en los frutos híbridos eran a niveles traza y por eso no se detectaron, pero si tuvo actividad fisiológica como para inducir la síntesis y actividad de PG.

Para que PG pueda iniciar su actividad en las paredes celulares, el calcio tiene que ser removido de este lugar, pues concentraciones de 10^{-7} de este ion la inhiben (Rigney y Wills, 1981). Por esta razón deben darse cambios preparatorios para la remoción de calcio, inducidos o estimulados por el etileno a través de enzimas que rompen los complejos pécticos, tales como protopectinas, celulasas, PME. Parte del calcio liberado probablemente pasa a través de la capa de pectinas de las células epidérmicas hacia la cutina, interaccionando con las cargas negativas existentes en los poros y reduciendo de esta manera la permeabilidad al agua, como sucedió en los frutos normales e híbridos. Esta situación puede darse antes de presentarse la mayor actividad de PG. Cuando la actividad de PG se disparó en los frutos normales, la permeabilidad de las cutículas ya había disminuido hasta sus valores basales y continuó reduciéndose aún más.

Por otra parte PG puede contribuir a la liberación de proteínas transportadoras de lípidos unidas a la pared o membrana celular que contribuyen a la formación o transporte de monómeros de lípidos. En el presente estudio se observó que tras el disparo en la actividad de PG, el peso de cutina, el peso cuticular y el contenido de ceras intracuticulares se incrementó. Posiblemente este hecho se deba a una mayor deposición de monómeros de lípidos en la cutina, función que corresponde a las mencionadas proteínas.

Durante su acción PG libera enzimas que se sabe que están ligadas a la pared celular, tal como la peroxidasa. A esta enzima se le ha encontrado abundantemente en el pericarpio de tomate y se le asocia con la deposición de compuestos alifáticos y aromáticos en procesos de lignificación o suberización, para evitar pérdidas de agua, y entrada de patógenos al tejido de los frutos (Cassab y Varner, 1988).

Otra enzima que pudiera estar asociada a la actividad de PG es la lipoxigenasa. A esta enzima se le ha encontrado principalmente ligada a las membranas celulares: Probablemente tras la acción de PG sobre el deterioro de membranas y pérdidas en comparatamentalización celular, dicha enzima sea liberada. Se ha encontrado que lipoxigenasa incrementa su actividad a medida que avanza la madurez del fruto, es decir cuando existen ácidos grasos libres, que son su principal sustrato (Ferrie y col., 1994).

Se ha observado que durante la síntesis de cutina se da una alta insaturación de ácidos grasos por medio de deshidrogenasas y posteriormente son oxidizados por lipoxigenasa para dar hidroperóxidos, los cuales experimentan reacciones secundarias que conducen a la formación de ácidos polihidroxiados. Pares de estos ácidos son inicialmente ligados por uniones hidroxirane y luego son más firmemente ligados por la formación de ligaduras ester entre grupos hidroxilo y carboxilo. Interacciones similares entre moléculas pareadas de esta clase resultan en la formación de grandes unidades de cutina (Hitchcock y Nichols, 1971).

En el presente estudio se observó que el peso de la cutina de los frutos normales empezó a incrementar cuando se disparó la actividad de PG (al sexto día a 20°C); en este tiempo también se inició el aumento en el contenido de ceras intracuticulares, donde sobresalió la fracción de ácidos grasos, en especial el ácido oléico (C_{18}), que es el análogo saturado del ácido linoléico (18:2, 9C, 12C) uno de los principales sustratos de lipoxigenasa. En los híbridos la actividad de PG fue más baja y a su vez el peso de cutina fue menor y el contenido de ceras intracuticulares también disminuyó. Aunque en este estudio no se determinó la actividad de peroxidasa y lipoxigenasa, ni de alguna enzima transportadora de

lípidos como las transacilasas, los resultados permiten especular acerca de su incremento en actividad después o en conjunto a la acción de PG.

Hitchcock y Nichols, (1971), afirman que los cambios en el carácter morfológico y comportamiento metabólico de las células de plantas son invariablemente acompañados y en algunas ocasiones estimulados por cambios en su contenido de lípidos.

Estos datos sugieren una fuerte relación entre algunas de las características cuticulares como son la permeabilidad al agua, peso de cutina, peso cuticular y contenido de ceras intracuticulares con la actividad de PG. Aunque dicha relación sea indirecta, representa un punto crítico en el desarrollo y evolución del proceso de madurez comercial.

La lipoxigenasa es involucrada en varias funciones fisiológicas, pues aparte de las anteriormente vistas, se asocia de manera importante con los cambios en color, así como con la formación de sabores y olores.

Los cambios en color se dan porque lipoxigenasa cataliza la co-oxidación de carotenoides y clorofila en conjunto a la oxidación de ácido linoleico (síntesis de cutina). La característica de olor del tomate es debida en parte al aldeído volátil hexenal, el cual resulta de la ruptura del hidroperóxido 13 del ácido linoleico y del cual se han encontrado cantidades deficientes en los mutantes *rin* y *nor* (Hitchcock y Nichols, 1971; Todd, 1991; Ferrie y col., 1994).

Tras el disparo en actividad de PG se dan los cambios en color, aroma y sabor; quizá tras la acción de PG, lipoxigenasa se libere de las membranas e inicie su acción, dándose los cambios en color y desarrollo de sabores y olores caraterísticos de tomate (Davies y Hobson, 1981; Ferrie y col., 1994).

Para complementar el desarrollo en los cambios de color, sabor y aroma y realzar a la vez, la actividad de PG, en el presente estudio al dispararse la actividad de PG, disminuyó la firmeza de los frutos, incrementó el contenido de sólidos solubles totales, disminuyó la acidez y se inició el desarrollo de color rojo.

Los cambios en las características cuticulares y actividad de PG muestran una fuerte relación entre si y con el resto de los eventos relacionados al proceso de madurez, sin embargo, al efectuar una matriz de correlaciones entre todos los parámetros medidos no se observaron correlaciones fuertes entre ninguna de las variables. Cabe señalar que en este caso la fuerte relación fisiológica que sugieren los resultados es de mayor importancia que la relación estadística.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados de este trabajo se obtienen las siguientes conclusiones:

- 1) Los tomates híbridos *rin* y *nor* presentaron un comportamiento respiratorio no climatérico, ya que a pesar de la alta producción de CO₂ no se les detectó etileno, quizá por producir cantidades traza de esta hormona, lo cual sugiere que carecen del sistema autocatalítico 2 para la producción de etileno, característica peculiar de los frutos no climatéricos.
- 2) El peso cuticular y el peso de cutina resultaron mayores en los frutos normales que en los frutos híbridos, especialmente que aquéllos con el gen mutante *rin*.
- 3) El grosor de las cutículas mostró poca variación durante el proceso de madurez y fue muy similar en las tres variedades de tomate estudiadas.
- 4) Los tomates híbridos presentaron mayor contenido de ceras epicuticulares totales que los frutos normales, siendo los híbridos *nor* en los que se observó la mayor cantidad.
- 5) El comportamiento en el contenido de ceras intracuticulares fue muy distinto en la variedad de tomate normal con respecto de las híbridas, mientras que en la primera la tendencia fue a aumentar y en las segundas disminuyó.
- 6) Se identificó y cuantificó aproximadamente el 50% del total de las ceras epi e intracuticulares, con un total de 46 compuestos individuales, los cuales se agruparon en ácidos grasos (19), alcanos (15) y alcoholes grasos (12).

- 7) La fracción de ácidos grasos fue la que se presentó en mayor concentración seguida de alcanos y finalmente por alcoholes grasos.
- 8) El ácido graso predominante de las ceras epicuticulares de frutos normales fue de cadena corta con número par de carbonos, el C_{18} , seguido de C_{19} y C_{27} .
- 9) En los frutos híbridos *rin* y *nor* el ácido graso predominante de las ceras epicuticulares fue también C_{18} , seguido de C_{29} y C_{19} .
- 10) En las ceras intracuticulares de los tomates normales predominó también C_{18} y se mostró muy abundante C_{21} , otros ácidos grasos que sobresalieron pero en menor concentración fueron C_{19} , C_{20} y C_{16} .
- 11) Los ácidos grasos predominantes en las ceras intracuticulares de los tomates híbridos *rin* y *nor* fueron C_{18} , seguido de C_{19} y C_{16} .
- 12) De los alcanos epi- e intracuticulares de las variedades normal e híbridas abundaron los de cadena larga, en su mayoría con número impar de carbonos, entre ellos C_{31} y C_{32} .
- 13) En frutos normales e híbridos el alcohol graso epicuticular más abundante fue de cadena larga con número par de carbonos, el C_{26} .
- 14) A diferencia del anterior, el alcohol graso intracuticular predominante en las tres variedades de tomate fue de cadena corta con número impar de carbonos, C_{19} .
- 15) Las diferencias entre frutos normales e híbridos en cuanto a la composición de ceras epicuticulares se sujeta a la concentración de las fracciones de ácidos grasos, alcanos y alcoholes grasos, las cuales resultaron mayores en frutos híbridos, en especial la variedad *nor*.

- 16) Las diferencias en las ceras intracuticulares entre las tres variedades de tomate se deben especialmente a la fracción de alcanos, pues ésta resultó mayor en los frutos híbridos además de mostrar un comportamiento distinto en cada variedad .
- 17) La permeabilidad de los tomates normales incrementó en forma rápida y notable, mientras que en los frutos híbridos fue más lenta y gradual, aparte de alcanzar valores más bajos, particularmente en los híbridos con la característica *nor*.
- 18) Los cambios en permeabilidad se presentaron antes del climaterio y del disparo en actividad de PG en los frutos normales, mientras que en los híbridos la permeabilidad cambió al tiempo que incrementó la actividad de PG.
- 19) Los cambios en permeabilidad mostraron una fuerte relación fisiológica con los cambios en las fracciones de alcanos y alcoholes grasos intracuticulares y fueron dependientes de la variedad de tomate.
- 20) La pérdida de peso resultó significativamente mayor en los frutos híbridos que en los normales.
- 21) La actividad de PG de los frutos híbridos se redujo de un 40-60% de lo normal en los *rin* y 30-40% en los *nor*.
- 22) La firmeza de los frutos normales decayó drásticamente, mientras que en los frutos híbridos el cambio fue lento y gradual.
- 23) Los cambios en firmeza mostraron una relación fisiológica fuerte con los niveles de actividad de PG en las tres variedades de tomate, lo que sugiere un rol importante de PG en la pérdida de firmeza de los frutos de tomate.

- 24) El desarrollo del color rojo fue más lento externa que internamente, en particular para los híbridos *nor*. La causa se atribuye a que la madurez del tomate se inicia en el interior del fruto.
- 25) Al madurar los tomates normales desarrollaron un color rojo externamente, mientras que en el interior el color fue rojo-naranja, los híbridos *rin* presentaron un color rojo interno y externo similar al normal; los híbridos *nor* desarrollaron un color rojo-naranja interno y externo similar al que presentó internamente la variedad normal.
- 26) La pureza del color incrementó conforme avanzaba la madurez, sin embargo el color externo fue más puro que el interno en las tres variedades de tomate. Internamente el color más puro lo obtuvieron los híbridos *rin* y externamente los frutos normales.
- 27) La luminosidad del color interno y externo disminuyó al avanzar la madurez en las tres variedades de tomate. No obstante se observaron diferencias entre los frutos, los híbridos *nor* mostraron los colores externo e interno más luminosos, en contraste los *rin* presentaron los colores menos luminosos.
- 28) Los frutos de tomate normales presentaron valores de pH más bajos que los híbridos *rin* y *nor*, así mismo los mayores porcentajes de acidez titulable y contenido de sólidos solubles totales, razón por la cual se consideraron frutos con mejor calidad comestible que los híbridos.
- 29) La actividad de la enzima poligalacturonasa mostró una relación muy importante aunque indirecta con algunas de las características cuticulares, tales como la permeabilidad al agua, peso cuticular, de cutina y el contenido de ceras intracuticulares en las variedades de tomate normal e híbridas.

- 30) Los cambios en permeabilidad y la actividad de poligalacturonasa de tomates normales e híbridos, representaron puntos importantes en el desarrollo y evolución del proceso de madurez comercial.

RECOMENDACIONES

En base a la experiencia del presente estudio y para complementarlo se recomienda efectuar las siguientes evaluaciones:

- Determinar las concentraciones de CO₂ interno en los frutos de tomate normales e híbridos *rin* y *nor* para estudiar la posibilidad de que la acumulación interna de este gas sea la causante de la inhibición de la producción y actividad del etileno.
- Medir el calor interno en los mencionados frutos para evaluar la forma en que éste se disipa y descartar la posibilidad de que su acumulación sea la causante de un metabolismo más acelerado en los frutos híbridos, en especial los *rin*.
- Identificar el 50% restante de los componentes de las ceras cuticulares, agrupados en las fracciones de ésteres grasos, terpenos, flavonoides, cetonas y aldehídos principalmente, con la finalidad de determinar alguna diferencia entre los frutos normales e híbridos *rin* y *nor*.
- Efectuar un estudio ultraestructural e histológico de las cutículas con el objeto de visualizar alguna diferencia en tomates híbridos con respecto de los normales.
- Cuantificar los niveles de calcio soluble y ligado en el tejido estratificado del tomate, es decir dividido en zona locular, endocarpio y epicarpio (piel) para determinar su efecto en los cambios de permeabilidad en las cutículas y en el desarrollo del proceso de madurez comercial.

- Determinar las pérdidas de vapor de agua a través de la cutícula y la región peduncular de tomates normales e híbridos con la finalidad de establecer su efecto en la pérdida de peso de dichos frutos.
- Llevar a cabo un fraccionamiento de las pectinas a medida que se desarrolla el proceso de madurez para determinar de acuerdo a la forma en que se encuentren (solubles, quelatadas, neutras, etc.), su procedencia y relacionarlas con algún tipo de enzima que contribuye a la degradación de la pared celular; tanto en frutos normales como en los híbridos *rin* y *nor*.
- Estudiar las características bioquímicas de las isoenzimas de tomates normales e híbridos con los genes mutantes *rin* y *nor* para conocer su peso molecular, pH de actividad óptimo y estructura, para determinar a su vez de esta forma alguna nueva isoenzima o la presencia de algún defecto que inhiba su actividad normal en los tomates híbridos.
- Analizar la composición y estructura de las paredes celulares con el fin de descartar alguna diferencia entre tomates normales e híbridos.

BIBLIOGRAFIA

- Ahrens, J. and Huber, D.J. 1990. Physiology and Firmness Determination of Ripening Tomato Fruit. *Phys. Plantarum*. 78: 8-14.
- Albrigo, L.G. 1986. Peel Morphology and Fruit Blemishes In: *Citrus Flowering, Fruit Set and Development (Citrus Short Course)*. Edited by Ferguson, J.J. University of Florida. Institute of Food and Agricultural Sciences. pp. 73-80.
- Al-Falluji, R.A.; Trinklein, D.H. and Lambeth, V.N. 1982. Inheritance of Pericarp Firmness in Tomato by Generation Mean Analysis. *HortScience*. 17(5): 763-764.
- Anónimo. 1989. Asamblea Nacional Especializada de Productores de Tomate. Cuaderno de trabajo temporada 1988-1989. Culiacán, Sinaloa. pp. 1-5.
- Anónimo. 1993. Tomate Estadísticas y tendencias. *Hortalizas, Frutas y Flores*. 6: 12-19.
- Anónimo. 1995 a. Jitomate Rendidor y de Venta Segura. *Hortalizas, Frutas y Flores*. Edición de Septiembre 30. p. 22.
- Anónimo. 1995 b. Sonora con Recursos, Cultura y Tecnología para Producir; Falla la Comercialización. *Revista Así*. Edición especial de Abril. pp. 6-9.
- A.O.A.C. 1990. *Official Methods of Analysis*. 14th. edition. Williams s., Ed. Publicado por the Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C. p. 1141.
- Babbit, J.K.; Powers, M.J. and Patterson, M.E. 1973. Effects of Growth-Regulators on Cellulase, Polygalacturonase, Respiration, Color and Texture of Ripening Tomatoes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 98 (1): 77-81.
- Báez S., R. 1991. Cambios Fisiológicos Asociados a la Maduración y Senescencia de Mandarina Clementina (*Citrus clementina* Hort. Ex. Tanaka). Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. pp. 209-211.
- Baker, E.A.; Bukovac, M.J. and Hunt, G.M. 1982. Composition of Tomato Fruit Cuticle as Related to Fruit Growth and Development, en Cutler, D.F.; Alvin, K.L. and Price, C.E. *The Plant Cuticle*. First edition. Academic Press, Inc. New York, N.Y. pp. 33-44.
- Bergman, D.K.; Dillwith, J.W.; Zarrabi, A.A. and Berberet, R.C. 1991. Epicuticular Lipids of Alfalfa Leaves Relative to position on the Stem and their Correlation with Aphid (Homoptera: Aphididae) Distributions. *Environmental-entomology*. 20 (2): 470-476.

- Biggs, M.S.; Harriman, R.W. and Handa, A.K. 1986 Changes in Gene Expression During Tomato Fruit Ripening. *Plant Physiol.* 81: 395-403.
- Bird, C.R.; Smith, C.J.S.; Ray, J.A.; Moureau, P.; Bevan, M.W.; Bird, A.S.; Hughes, S.; Morris, P.C.; Grierson, D. and Schuch, W. 1988. The Tomato Polygalacturonase Gene and Ripening-Specific Expression in Transgenic Plants. *Plant Molecular Biology.* 11: 651-662.
- Bourne, C.M. 1980. Texture Evaluation of Horticultural Crops. *Hortscience.* 15 (1): 51.
- Bradford, M.M. 1976. A Rapid Method for the Quantitation of Microgram quantities of Protein utilizing the principle of Protein-Dye Binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Brady, C.J.; MacAlpine, G.; Mc Glasson, W.B. and Ueda, Y. 1982. Polygalacturonase in Tomato Fruits and the Induction of Ripening. *Aust. J. Plant Physiol.* 9: 171-178.
- Brecht, J. K. 1987. Locular Gel Formation in Developing Tomato Fruit and the Initiation of Ethylene Production. *HortScience.* 22: 476-479.
- Buescher, R. W. and Sistrunk, W. A. 1976. Softening, Pectolytic Activity, and Storage-life of *rin* and *nor* Tomato Hybrids. *Hortscience* 11(6): 603-604.
- Bukovac, M.J.; Sargent J.A.; Powell, R.G. and Blackman, G.E. 1971. Studies on Foliar Penetration. *J. of Exp. Botany.* 72 (22): 598-612.
- Burg, P.S. and Burg, E.A. 1967. Molecular Requirements for the Biological Activity of Ethylene. *Plant Physiol.* 42: 144-152.
- Calderón A., E. 1983. *Fruticultura General. Segunda edición.* Editorial LIMUSA. México, D.F. pp. 173-189.
- Cameron, A.C. and Yang, S.F. 1982. A Simple Method for the Determination of Resistance to Gas Diffusion in Plant Organs. *Plant Physiol.* 70: 21-23.
- Carey, A.T.; Holt, K.; Picard, S.; Wilde, R.; Tucker, G.; Bird C.R.; Schuch, W. and Seymour, G.B. 1995. Tomato Exo-(1-4)- β -D-Galactanase. *Plant Physiol.* 108: 1099-1107.
- Cassab, G. I. and Varner, J. E. 1988. Cell Wall Proteins. *Ann. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 39: 321-353.
- Ceponis, M.J.; R.A. Cappellini and Lighther, G.W.. 1986. Disorders in tomato shipments to the New York Market, 1972-1984. *Plant Dis.* 70: 261-265.

- Chamel, A.; Pineri, M. and Escoubes, M. 1991. Quantitative determination of Water Sorption by Plant Cuticles. *Plant, Cell and Environment* 14: 87-95.
- Cheffel, J.C. Y Cheffel, H. 1976. Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos. Primera edición. Editorial Acribia. Zaragoza, España. Volumen I. pp. 136-138.
- Cienfuegos, F. y Ramírez, R. 1990. Los Efectos del TLC en los Subsectores de Granos, Oleaginosas y Hortalizas. Sonora ante el Tratado de Libre Comercio. pp. 60-67.
- Crookes, P.R. and Grierson, D. 1983. Ultrastructure of Tomato Fruit Ripening and the Role of Polygalacturonase Isoenzymes in Cell Wall Degradation. *Plant Physiol.* 72: 1088-1093.
- Cutler, D.F.; Alvin, K.L. and Price, C.E. 1982. *The Plant Cuticle*. First edition. Academic, Press, Inc. New York, N.Y. pp. 1-461.
- Davies, J.N. and Hobson, G.E. 1981. *The Constituents of Tomato Fruit the Influence of Enviroment, Nutrition, and Genotype*. Division of Food Research. Australia. pp. 205-280.
- Davis, J.M. and Gardner, R.G. 1994. Harvest Maturity Affects Fruit Yield, Size, and Grade of Fresh-market Tomato Cultivars. *HortScience*. 29 (6): 613-615.
- DellaPenna, D.; Alexander, D.C. and Bennett, A.B. 1986. Molecular Cloning of Tomato Fruit Polygalacturonase: Analysis of Polygalacturonase mRNA Levels During Ripening. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 83: 6420-6424.
- DellaPenna, D. and Bennett, A.B. 1988. *In Vitro* Synthesis and Processing of Tomato Fruit Polygalacturonase. *Plant Physiol.* 86: 1057-1063.
- DellaPenna, D.; Lincoln, J.E.; Fischer, R.L. and Bennett, A.B. 1989. Transcriptional Analysis of Polygalacturonase and Other Ripening Associated Genes in Rutgers, *rin*, *nor* and *Nr* Tomato Fruit. *Plant Physiol.* 90: 1372-1377.
- Denis, R.J. 1973. *A Study of the Physiology and Biochemistry of Maturation and Senescence of Normal, "Never-ripe", and "Ripening-inhibited" tomatoes*. Thesis Doctoral. Rutgers University. New Brunswick, New Jersey. Pp. 4-30.
- De Swardt, G.H.; Swanepoel, J.H. and Dubenage, A.J. 1973. Relationships Between Changes in Ribosomal RNA and Total Protein Synthesis, and the Respiration Climateric in Pericarp Tissues of Tomatoes. *Z. Pflanzenphysiol.* 70: 358-363.

- Dreyer, A.S.; Seymour, S.A. and Cleland, R.E. 1981. Low Proton Conductance of Plant Cuticles and its Relevance to the Acid-Growth Theory. *Plant Physiol.* 68: 664-667.
- Ehmann, J.L. 1976. A Model System: The Photochemical Interaction of Heptachlor and Selected Epicuticular Wax Components of the Tomato Fruit and Pear Leaf. Thesis Doctoral. Michigan State University. pp. 30-40.
- El-Otmani, M. and Coggins, C. W. Jr. 1985 (a). Fruit Development and Growth Regulator Effects on Normal Alkanes of Cultivar Washington navel orange. *Citrus sinensis* Fruit Epicuticular wax *J. Agric. Food Chem.* 33 (4): 656-663.
- El-Otmani, M. and Coggins, C. W. Jr. 1985 (b) Fruit Age and Growth Regulator Effects on the quality and Structure of Epicuticular Wax of Cultivar. Washington navel orange fruit. *Citrus sinensis*. *J. Amer. Soc. Hort., Sci.* 110 (3): 371-378.
- El-Otmani, M.; Arpaia, M.L., and Coggins, Ch. W. Jr. 1987. Developmental and Topophysical Effects on the n-Alkanes of "Valencia" Orange Fruit Epicuticular Wax. *J. Agric. Food Chem.* 35: 42-46.
- El-Otmani, M.; Arpaia, M.L.; Coggins, C. W. Jr.; Pehrson, J. E. Jr. and O'Connell, N. V. 1989. Developmental Changes in "Valencia" Orange Fruit Epicuticular Wax in Relation to Fruit Position on the Tree. *Scientia Hort.* 41: 69-81.
- Eskin, N.A.M. 1989. Quality and Preservation of Vegetables. First edition CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. pp. 53-73.
- Espelie, K. E.; Dean, B.B. and Kolattukudy, P.E. 1979. Composition of Lipid-derived Polymers from Different Anatomical Regions of Several Plant Species. *Plant Physiol.* 64: 1089-1093.
- Ferrie, B. J.; Beaudoin, N. Burkhart, W.; Bowsher, C. G. and Rothstein, S. J. 1994. The Cloning of Two Tomato Lipoxigenase Genes and Their Differential Expression during Fruit Ripening. *Plant Physiol.* 106: 109-118.
- Fisher, R.L. and Bennett, A.B. 1991. Role of Cell Wall Hydrolases in Fruit Ripening. *Annu. Rev. Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.* 42: 675-703.
- Fraser, P.D.; Truesdale, M.R.; Bird, C.R.; Schuch, W. and Bramley, P.M. 1994. Carotenoid Biosynthesis During Tomato Fruit Development. *Plant Physiol.* 105: 405-413.
- Freeman, B.; Albrigo, L.G. and Biggs, R.H. 1979. Ultrastructure and Chemistry of Cuticular Waxes of Developing *Citrus* Leaves and Fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 104 (6): 801-808.

- Frenkel, C.; Klein, I. and Dilley, D.R. 1968. Protein Synthesis in Relation to Ripening of Pome Fruits. *Plant Physiol.* 43: 1146-1153.
- Frenkel, Ch. and Jen, J.J. 1989. Quality and Preservation of Vegetables. Tomatoes. C.R.C. Press, Inc. Boca Raton, Florida. pp. 53-73.
- Friend, J. and Rhodes, M. J. C. 1981. Recent Advances in the Biochemistry of Fruits and Vegetables. First edition. Academic, Press, Inc. New york, N. Y. pp. 1-148.
- Geyer, U., Schönherr, J. 1990. The Effect of the Environment on the Permeability and Composition of *Citrus* leaf cuticles. I. Water permeability of isolated cuticular membranes. *Planta.* 180: 147-153.
- Giovane, A.; Quagliuolo, L.; Servillo, L.; Balestrieri, C.; Laratta, B.; Lojudice, R. and Castaldo, D. 1994. Purification and Characterization of Three Isozymes of Pectin Methylsterase from Tomato Fruit. *J. of Food Bioch.* 17: 339-349.
- Grierson, D. and Tucker, G.A. 1983. Timing of Ethylene and Polygalacturonase Synthesis in Relation to the Control of Tomato Fruit Ripening. *Planta.* 157: 174-179.
- Gross, K.C. and Wallner, S. J. 1979. Degradation of Cell Wall Polysaccharides during Tomato Fruit Ripening. *Plant Physiol.* 63: 117-120.
- Gross, K.C. 1982. A Rapid and Sensitive Spectrophotometric Method for Assaying polygalacturonase Using 2-Cyanoacetamide. *HortScience.* 17 (6): 933-934.
- Hardenburg, R.; Watada, A.E. and Wang, Ch.Y. 1990. The Comercial Storage of Fruits, Vegetables, Florist and Nursery Stocks. pp. 6-27.
- Harwood, J.L. and Russell, N.J. 1984. Lipids in Plants and Microbes. First edition. Edit. George Allen and Unwin, Londres. p. 110.
- Harwood, L.J. 1988. Fatty Acid Metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 39: 101-138.
- Hemer, R.C. and Sink, K.C. Jr. 1973. Ethylene Production and Respiratory Behavior of the *rin* Tomato Mutant. *Plant Physiol.* 52: 38-42.
- Herskowitz, I.H. 1982. Genética. Primera edición, octava reimpresión. Edit. CECOSA. México, D.F p. 88.

- Higuera C., I. 1991. Exportación de Productos Hortofrutícolas Mexicanos, en yahia, E.M. e Higuera C., I. Memorias Simposio Nacional Fisiología y Tecnología Postcosecha de productos Hortícolas en México. Primera edición. Editorial Limusa. México, D.F. pp. 169-178.
- Hitchcock, C. and Nichols, B. W. 1971. Plant Lipid Biochemistry. First edition. Academic press New York, N. Y. pp. 4-278.
- Hobson, G.E. 1965. The Firmness of Tomato Fruit in Relation to Polygalacturonase Activity. *J. Hort. Sci.* 40: 66-72.
- Huber, D.J. 1985. A Possible Role for Cellulose and C_x - cellulase Activity in Locular Gel Formation in Tomato Fruit. *Hortscience.* 20 (3): 442-443.
- Hulme, A.C. 1972. The Proteins of Fruits: Their Involvements as Enzymes in Ripening. A review. *J. Food Tech.* 7: 343-371.
- Hunter, W.J. and Elkan, G.H. 1974. Endopolygalacturonase From Tomato Fruit. *Phytochemistry.* 13: 2725-2727.
- John, M.A. and Dey, P.M. 1986. Postharvest Changes in Fruit Cell Walls. *Adv. Food Res.* 30: 139-193.
- Jones, J.B., Stall, R.E., and Zitter, T.A. 1991. Compendium of Tomato Diseases. First edition. The American Phytopathological Society Press. U.S.A. pp. 2.
- Kader, A.A. 1985 a. Quality factors: Definition and Evaluation for Fresh Horticultural Crops. *Postharvest Technology of Horticultural Crops.* University of California-Davis. 20: 118-121.
- Kader, A.A.; Kashmire, R.; Mitchell, F.; Reid, M.; Sommer, N. and Thompson. 1985 b. *Postharvest Technology of Horticultural Crops.* University of California. Division of Agriculture and Natural Resources. Special Publication. U.S.A. pp. 3-7.
- Khudairi, A.K. 1972. The Ripening of Tomatoes. *American Scientist.* 60: 696-707.
- Klee, H.J. 1993. Ripening Physiology of Fruit from Transgenic Tomato (*Lycopersicon esculentum*) Plants with Reduced Ethylene Synthesis. *Plant Physiol.* 102: 911-916.
- Kokkinakis, D. M. and Brooks, J. L. 1979. Tomato Peroxidase. *Plant Physiol.* 63: 93-99.
- Kolattukudy, P.E. 1968. Biosynthesis os Surface Lipids. *Science.* 159 (3814): 498-505.

- Kolattukudy, P.E. and Walton, T.J. 1972. Structure and Biosynthesis of the Hydroxy fatty Acids of Cutin in *Vicia faba* Leaves. *Biochemistry*. 11 (10): 1897-1907.
- Kolattukudy, P.E., Walton, T.J., and Kushwaha, R.P.S. 1973. Biosynthesis of the C₁₈ Family of Cutin Acids: w-Hydroxyoleic Acid, w-Hydroxy-9,10-epoxystearic Acid, 9,10,18-trihydroxystearic Acid, and Their Δ^{12} -Unsaturated Analogs. *Biochemistry*. 12 (22): 4488-4498.
- Kolattukudy, P.E., Croteau, R., and Brown, L. 1974. Structure and Biosynthesis of Cuticular Lipids *Plant Physiol*. 54: 670-677.
- Kolattukudy, P.E. 1980. *The Biochemistry of Plants a Comprehensive Treatise. Lipids: Structure and Function.* P.K. Stumpf and E.E. Conn Editor-in-chief. U.S.A. Volumen 4. pp. 571-643.
- Kolattukudy, P.E. 1981. Structure, Biosynthesis and Degradation of Cutin and Suberin. *Ann. Rev. Plant Physiol*. 32: 539-567.
- Kolattukudy, P.E. 1984. Biochemistry and Function of Cutin and Suberin. *Can. J. Bot.* 62: 2918-2933.
- Lehninger, A. L. 1975. *Biochemistry*. Second edition. Worth Publishers, Inc. New York, N. Y. pp. 279-283.
- Levin, R.P. 1985. *Genética*. Primera edición, séptima reimpression. Edit. CECSA. México, D.F. pp. 63, 173-179.
- Ling, Y.S.; McKeon, T.; Grierson, D.; Cantwell, M and Yang, S.F. 1984. Development of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic Acid Synthase and Polygalacturonase Activities During the Maturation and Ripening of Tomato Fruit. *HortScience*. 19 (4): 576-578.
- Márquez S., F. 1987. *Genética*. Primera edición. Edit. CECSA. México, D.F. p. 192.
- Melotto, E.; Greve, L.C. and Labavitch, J.M. 1994. Cell Wall Metabolism in Ripening Fruit. *Plant Physiol*. 106: 575-581.
- Mutschler, M. A.; Wolfe, D. W., Cobb, E. D. and Yourstone, K. S. 1992. Tomato Fruit Quality and Shelf Life in Hybrids Heterozygous for the alc Ripening Mutant. *Hortscience* 27 (4): 352-355.
- Nordby, H.E., and Nagy, S. 1977. Hydrocarbons from Epicuticular Waxes of Citrus Peel. *Phytochem*. 16: 1393-1397.

- Nordby, H.E. and McDonald, R.E. 1991. Relationship of Epicuticular Wax Composition of Grapefruit to Chilling Injury. *J. Agric. Food Chem.* 39 (5): 957-962.
- Ojeda C, A.J. 1995. Evaluación del Manejo Postcosecha de Tomate para la Obtención de Modelos de Predicción de Pérdidas Cualitativas y Cuantitativas. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Hermosillo, Sonora. pp. 43-112.
- Pantástico, B. 1979. Fisiología de la Postrecolección de Manejo y utilización de Frutas y Hortalizas Tropicales y Subtropicales. Compañía Editorial Continental, S.A. México, D.F. pp. 28-31.
- Pantástico, B. 1984. Fisiología de la Postrecolección de Manejo y Utilización de Frutas y Hortalizas Tropicales y Subtropicales. Segunda impresión. Compañía Editorial Continental, S.A. México, D.F. pp. 24-128.
- Petracek, P.D. 1991. Studies on the Properties of Isolated Tomato Fruit Cuticles: Selected Cuticular Physiochemical Characteristics and Cuticular Sorption and Desorption of a Nonionic Surfactant. Thesis Doctoral. Michigan State University. pp. 4-39.
- Pomeranz, Y. and Meloan, E.C. 1978. Food Analysis: Theory and Practice. First Edition. Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut. USA. pp. 72.
- Potter, N. 1978. La Ciencia de los Alimentos. Editorial Edutex, S.A. México, D.F. pp. 273.274.
- Pressey, R. and Avants, J.K. 1973. Separation and Characterization of Endopolygalacturonase and Exopolygalacturonase from Peaches. *Plant Physiol.* 52: 252-256.
- Pressey, R. 1977. Enzymes in Food and Beverage Processing. ACS Symposium Series. Academic Press. N.Y. pp. 172-191.
- Pressey, R. and Avants, J.K. 1982. Pectic Enzymes in "Long Keeper" Tomatoes. *HortScience* 17 (3): 398-400.
- Pressey R. 1983. β -Galactosidases in Ripening Tomatoes. *Plant Physiol.* 71: 132-135.
- Reicosky, D.A. and Hanover, J.W. 1978. Physiological Effects of Surface Waxes. *Plant Physiol.* 62: 101-104.
- Richmond, A. and Biale, J.B. 1966. Protein Synthesis in Avocado Fruit Tissue. *Arch. Biochem Biophys.* 115: 211-214.

- Riederer, M. and Schneider, G. 1990. The Effect of Environment in the Permeability and Composition of Citrus Leaf Cuticles. II. Composition of Soluble Cuticular Lipids and Correlation with Transport Properties. *Planta*. 180 (2): 154-165.
- Rigney, C.J. and Wills, R.B.H. 1981. Calcium Movement a Regulating Factor in the Initiation of Tomato Fruit Ripening. *HortScience*. 16 (4): 550-551.
- Ryan, C.A. and Farmer, E.E. 1991. Oligosaccharide Signals in Plants: A Current Assessment. *Annu. Rev. Plant Mol. Bio.* 42: 651-674.
- Sacher, J.A. 1966. Permeability Characteristics and Amino Acid Incorporation during Senescence of Banana Tissue. *Plant Physiol.* 41: 701-708.
- Sacher, J.A. 1973. Senescence and Postharvest Physiology. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 24: 197-224.
- Salisbury, F. B. and Ross C. W. 1992. *Plant Physiology*. Fourth edition. Wadsworth Publishing Company. Belmont, California. pp. 66-92.
- Saltveit, M. E., Jr. and Sharaf, A. R. 1992. Ethanol Inhibits Ripening of Tomato Fruit Harvested at Various Degrees of Ripeness Without Affecting Subsequent Quality. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 117 (5): 793-798.
- Schönherr, J. 1976. Water Permeability of Isolated Cuticular Membranes: The Effect of Cuticular Waxes on Diffusion of Water. *Planta*. 131: 159-164.
- Schönherr, J. and Huber, R. 1977. Plant Cuticles are Polyelectrolites with Isoelectric Points Around Three. *Plant Physiol.* 59: 145-150.
- Schönherr, K.; Eckl, K. and Gruler, H. 1979. Water Permeability of Plant Cuticles: The Effect of Temperature on Diffusion of Water. *Planta*. 147: 21-26.
- Schönherr, J. and Riederer, M. 1986. Plant Cuticles Sorb Lipophilic Compounds During Enzymatic Isolation. *Plant Cell and Environment*. 9: 459-466.
- Schuch, W.; Bird, C.R. and Ray, J. 1989. Control and Manipulation of Gene Expression During Tomato Fruit Ripening. *Plant Mol. Biol.* 13: 303-311.
- Schuch, W.; Kanczler, J.; Robertson, D.; Hobson, G.; Tucker, G.; Grierson, D. Bright, S. and Bird, C. 1991. Fruit Quality Characteristics of Transgenic Tomato Fruit with Altered polygalacturonase Activity. *HortScience*. 26 (12): 1517-1520.

- Schulman, Y. and Monselise, S.P. 1970. Some Studies on the Cuticular Wax of Citrus Fruit. *J. Hort. Sci.* 45: 471-478.
- Sheehy, R.E.; Pearson, J.; Brady, C.J. and Hiatt, W.R. 1987. Molecular Characterization of Tomato Fruit Polygalacturonase. *Mol. Gen. Genet.* 208: 30-36.
- Showalter, A.M. 1993. Structure and Function of Plant Cell Wall Protein. *The Plant Cell.* 5: 9-23.
- Skoss, J.D. 1955. Structure and Composition of Plant in Relation to Environmental Factors and Permeability. *Bot. Gaz.* 55-72.
- Smalley, S.J., Hauser, H.D. and Berg, V.S. 1993. Effect of Cations on Effective Permeability of Leaf Cuticles to Sulfuric Acid. *Plant Physiol.* 103: 251-256.
- Smith, C.; Watson, C.F.; Morris, P.C.; Colin, R.B.; Graham, B.S.; Gray, J.E.; Arnold, C.; Tucker, G.A.; Schuch, W.; Harding, S. and Grierson, D. 1990. Inheritance and Effect on Ripening of Antisense Polygalacturonase Genes in Transgenic Tomatoes. *Plant Mol. Biol.* 14: 369-379.
- Stumpf, P. K. and Conn, E. E. 1980 a. *The Biochemistry of Plants. Vol. 2. Metabolism and Respiration.* First edition. Academic Press, Inc. New York, N. Y. pp. 419-462.
- Stumpf, P. K. and Conn, E. E. 1980 b. *The Biochemistry of Plants. Vol. 4. Lipids Structure and Function.* First edition. Academic Press, Inc. New York, N. Y. pp. 571-645.
- Thai, C.N.; Shewfelt, R.L.; Garner, J.C. 1990. Tomato Color Changes Under Constant and Variable Storage Temperatures: Empirical Models. *Transactions of the ASAE.* 33: 607-614.
- Themmen, A.; Tucker, G.; Grierson D. 1982. Degradation of Isolated Tomato Cell Wall by Purified Polygalacturonase in vitro. *Plant Physiol.* 69: 122-124.
- Theologis, A.; Zarembinski, T.I.; Oeller, P.W.; Liang, X. and Abel, S. 1992. Modification of Fruit Ripening by Suppressing Gene Expression. *Plant Physiol.* 100: 549-551.
- Thimann, K. V. 1983. *Senescence in Plants.* Segunda impresión. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. pp. 158-205.
- Thoma, S.; Hecht, U.; Kippers, A.; Botella, J.; De Vries, S. and Somerville, Ch. 1994. Tissue-Specific Expression of a Gene Encoding a Cell Wall-Localized Lipid Transfer Protein from *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 105: 35-45.

- Tieman, D.M. and Handa, A.K. 1989. Immunocytolocalization of Polygalacturonase in Ripening Tomato Fruit. *Plant Physiol.* 90: 17-20.
- Tieman, D.M. and Handa, K. A. 1994. Reduction in Pectin Methylesterase Activity Modifies Tissue Integrity and Cation Levels in Ripening Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Fruits. *Plant Physiol.* 106: 429-436.
- Tigchelaar, E.C.; McGlasson, W.B. y Buescher, R.W. 1978 a. Genetic Regulation of Tomato Fruit Ripening. *Hortscience.* 13 (5): 508-513.
- Tigchelaar, E.C., McGlasson, W.B and Franklin, M.J. 1978 b. Natural and Ethephon-stimulated Ripening Inhibitor (*rin*) and Non-ripening (*nor*) Mutants of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Aust. J. Plant Physiol.* 5: 449-456.
- Todd, J.F. 1991. Catabolism of Membrane Lipids in Tomato Fruits (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Thesis Doctoral. University of Guelph. pp. 1-32.
- Tucker, G.A.; Robertson, N.G. and Grierson, D. 1980. Changes in Polygalacturonase Isoenzymes During the "Ripening" of Normal and Mutant Tomato Fruit. *Eur. J. Biochem.* 112: 119-124.
- Tucker, G.A. and Grierson, D. 1982. Synthesis of Polygalacturonase During Tomato Fruit Ripening. *Planta.* 155:64-67.
- United States Standards for Grades of Fresh Tomatoes. 1991. United States Department of Agriculture. Washington, D.C. pp. 1-11.
- Vanderpan, S. 1994. A Look Inside a New Tomato. *Science of Food Agriculture and Environment.* pp. 2-5.
- Villarreal L., O. 1989. Aplicaciones Precosecha de Calcio en Durazno y su Efecto Sobre la Firmeza y Calidad del Fruto Durante el Almacenamiento Poscosecha. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Hermosillo, Sonora. pp. 1-39.
- Walton, T.J. and Kolattukudy, P.E. 1972. Determination of the Structures of Cutin Monomers by a Novel Depolymerization Procedure and Combined Gas Chromatography and Mass Spectrometry. *Biochemistry.* 11 (10): 1885-1896.
- Ward, T.; Wright, M.; Roberts, J.; Self, R. and Osborne, D. 1978. Analytical Procedures for the Assay and Identification of Ethylene. In J. Hillman. *Isolation of Plant Growth Substances.* Cambridge University Press. Cambridge, UK. pp. 135-151.

- Watkins, C.B.; Haki, J. and Frenkel, C. 1988. Activities of Polygalacturonase, α -D-Mannosidase, and α -D- and β -D-Galactosidases in Ripening Tomato. *Hortscience*. 23 (1): 192-194.
- Weast, R.C. and Astle, M.J. 1981. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. 61st edition. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. p. F-62.
- Weete, J.D., Leek, G.L., Peterson, C.M., Currie, H. E., and Branch, W.D. 1978. lipid and Surface Wax Synthesis in Water-Stressed Cotton Leaves. *Plant Physiol*. 62: 675-677.
- Wilbur, A.G. 1983. *Tomato Production, Processing and Quality Evaluation*. Second edition. Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut. pp. 347-349.
- Wills, R.H.H.; Lee, T.H.; McGlasson, W.B.; Hall, E.G. y Graham, D. 1984. *Fisiología y manipulación de Frutas y Hortalizas Post-Recolección*. Editorial Acribia. Zaragoza, España. pp. 1-17
- Yang, G., Wiseman, B.R. and Espelie, K.E. 1992. Cuticular Lipids from Silks Corn Genotypes and Their Effect on Development of Corn Earworm Larvae [*Helicoverpa zea* (Boddie)]. *J. Agric.Food Chem*. 40 (6): 1058-1061.
- Zheng, L.; Heupel, R.C. and DellaPenna, D. 1992. The β Subunit of Tomato Fruit Polygalacturonase Isoenzyme 1: Isolation, Characterization, and Identification of Unique Structural Features. *The Plant Cell*. 4: 1147-1156.

- Watkins, C.B.; Haki, J. and Frenkel, C. 1988. Activities of Polygalacturonase, α -D-Mannosidase, and α -D- and β -D-Galactosidases in Ripening Tomato. *Hortscience*. 23 (1): 192-194.
- Weast, R.C. and Astle, M.J. 1981. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. 61st edition. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. p. F-62.
- Weete, J.D., Leek, G.L., Peterson, C.M., Currie, H. E., and Branch, W.D. 1978. lipid and Surface Wax Synthesis in Water-Stressed Cotton Leaves. *Plant Physiol*. 62: 675-677.
- Wilbur, A.G. 1983. *Tomato Production, Processing and Quality Evaluation*. Second edition. Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut. pp. 347-349.
- Wills, R.H.H.; Lee, T.H.; McGlasson, W.B.; Hall, E.G. y Graham, D. 1984. *Fisiología y manipulación de Frutas y Hortalizas Post-Recolección*. Editorial Acribia. Zaragoza, España. pp. 1-17
- Yang, G., Wiseman, B.R. and Espelie, K.E. 1992. Cuticular Lipids from Silks Corn Genotypes and Their Effect on Development of Corn Earworm Larvae [*Helicoverpa zea* (Boddie)]. *J. Agric.Food Chem*. 40 (6): 1058-1061.
- Zheng, L.; Heupel, R.C. and DellaPenna, D. 1992. The β Subunit of Tomato Fruit Polygalacturonase Isoenzyme 1: Isolation, Characterization, and Identification of Unique Structural Features. *The Plant Cell*. 4: 1147-1156.