

**APLICACIÓN EXÓGENA DE INDUCTORES DE TOLERANCIA Y  
SU EFECTO EN LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA ANTIOXIDANTE  
EN FRUTOS DE TOMATE**  
*(Lycopersicon esculentum Mill)*

*JUAN DAVID SÁNCHEZ CHAPARRO*

**TESIS**

*Presentada como Requisito Parcial para*

*Obtener el Grado de:*

**MAESTRO EN CIENCIAS  
HORTICULTURA**



*UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
" ANTONIO NARRO "*

*PROGRAMA DE GRADUADOS  
Buenavista, Saltillo, Coahuila, México*

*Noviembre de 2004*

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO**

**APLICACIÓN EXÓGENA DE INDUCTORES DE TOLERANCIA Y SU EFECTO  
EN LA ACTIVIDAD ANZIMATICA ANTIOXIDANTE EN FRUTOS DE TOMATE  
( *Lycopersicon esculentum* Mill )**

TESIS POR:

**JUAN DAVID SÁNCHEZ CHAPARRO**

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada  
como requisito parcial para optar al grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS  
HORTICULTURA**

**COMITÉ PARTICULAR**

**Asesor Principal:**

\_\_\_\_\_  
**Dr. Adalberto Benavides Mendoza**

**Asesor:**

\_\_\_\_\_  
**Dr. Homero Ramírez Rodríguez**

**Asesor:**

\_\_\_\_\_  
**Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal**

**Asesor:**

\_\_\_\_\_  
**Dra. Hortensia Ortega Ortiz**

\_\_\_\_\_  
**Dr. Jerónimo Landeros Flores  
Subdirector de Posgrado**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila. Noviembre de 2004**

## **DEDICATORIA**

### **A mi hijo Juan David Sánchez Betancourt.**

Principal motivo de todos mis esfuerzos y deseos de superación.

### **A mi esposa Esther Guadalupe.**

Por su amor y apoyo en todo momento, y brindarme su fortaleza en momentos difíciles.

### **A la Familia Sánchez Chaparro.**

A mis padres y hermanos por creer siempre en mí.

### **A la Familia Betancourt Mota**

Por todo su apoyo y confianza.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al **Dr. Adalberto Benavides Mendoza**, por haberme brindado la oportunidad de colaborar en tan importante proyecto, por permitirme su amistad y su asesoría en este trabajo de investigación. Muchas gracias.

A la **Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal**, por compartir sus conocimientos, su acertada asesoría y su apoyo, gracias.

Al **Dr. Homero Ramírez Rodríguez**, por ser un ejemplo para mi, por sus consejos y apoyo en todo momento, gracias.

A la **Dra. Hortensia Ortega Ortiz** del Centro de Investigación en Química Aplicada, por sus consejos y observaciones al presente trabajo, gracias.

A la **T. L. Q. Ma. de Jesús Sánchez Velázquez**, por su importante colaboración en todas las pruebas de laboratorio llevadas a cabo en la presente investigación, gracias.

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** por brindarme una vez más la oportunidad de continuar superándome, gracias.

**A mis compañeros de la Maestría en Horticultura:** Ing. Elfego Gordillo, Ing. Sanjuana Acosta, Ing. Abel Zamarripa, Ing. Hugo Rancaño, Ing. Jesús Fuantos, Ing. Daniel Burgos, Ing. Antero Domínguez e Ing. Saret Alonso, por su amistad y compañerismo. Gracias.

**" De todas las ocupaciones de la que se deriva beneficio, no hay ninguna tan amable, tan saludable y tan merecedora de la dignidad del hombre libre, como la Agricultura "**

*Cicerón*

## **COMPENDIO**

**Aplicación exógena de inductores de tolerancia y su efecto en la actividad  
enzimática antioxidante en frutos de tomate  
(*Lycopersicon esculentum* Mill)**

**POR**

**JUAN DAVID SÁNCHEZ CHAPARRO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS**

**HORTICULTURA**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, Noviembre de 2004**

**Dr. Adalberto Benavides Mendoza – Asesor**

**Palabras clave:** antioxidante, catalasa, peroxidasa, ácido benzóico, ácido salicílico, quitosano.

En forma exógena se aplicaron los inductores de tolerancia quitosano al 0.1 por ciento, ácido salicílico 0.1 mM y ácido benzoico 0.1 mM en frutos de tomate sin aplicarlos en las hojas y tallos de la planta. Los compuestos inductores se aplicaron mediante aspersión a los racimos fructificados en alguna de las siguientes etapas: amarre, llenado y etapa 3 de la maduración del fruto.

La actividad de las enzimas antioxidantes catalasa y peroxidasa se determinó en la etapa 4 de maduración, encontrándose aumento en la actividad de ambas enzimas al aplicar los inductores en ciertas etapas del crecimiento del fruto. El quitosano aplicado en el llenado de fruto, y el ácido salicílico durante el amarre incrementaron la actividad de catalasa. La actividad de peroxidasa aumentó significativamente al aplicar quitosano en el amarre y llenado de fruto encontrando un efecto menor para el ácido salicílico. El ácido benzoico no modificó la actividad de catalasa o peroxidasa.

**ABSTRACT**

**Exogenous application of tolerance elicitors and antioxidant enzymatic activity in tomato fruit (*Lycopersicon esculentum* Mill)**

**BY**

**JUAN DAVID SÁNCHEZ CHAPARRO**

**MASTER IN SCIENCES**

**HORTICULTURE**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, November 2004.**

**Dr. Adalberto Benavides Mendoza – Adviser**

**Key words:** antioxidant, catalase, peroxidase, benzoic acid, salicylic acid, chitosan



The elicitor compounds chitosan 0.1 percent, salicylic acid 0.1 mM and benzoic acid 0.1 mM were sprayed on tomato fruits without applying them in the leaves and stems of the plant. The elicitors were sprayed at one of the following stages: fruit set, fruit growth and phase 3 of fruit ripening.

The activity of the antioxidant enzymes catalase and peroxidase was determined in the phase 4 of fruit ripening, being found an increase in the activity of both enzymes upon applying the elicitors in certain stages of the fruit development. The chitosan applied during the growth of the fruit, and the salicylic acid applied during the fruit set increased the activity of catalase. The peroxidase activity increased significantly upon applying chitosan during fruit set and growth of the fruit, finding a smaller effect for the salicylic acid. Benzoic acid did not modify the peroxidase or catalase activity.

## INDICE GENERAL

	Página
<b>INDICE DE FIGURAS</b> .....	ix
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
Objetivos.....	3
Hipótesis.....	3
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	4
Señalización del estrés.....	4
Quitano.....	5
Ácido Benzóico.....	6
Ácido Salicílico.....	7
Características del fruto de tomate.....	8
Cambios fisiológicos y bioquímicos durante la maduración del fruto.....	9
Estructura celular durante la maduración del fruto.....	10
Enzimas.....	11
Catalasa.....	11
Peroxidasa.....	11
<b>ARTÍCULO: APLICACIÓN EXÓGENA DE INDUCTORES DE TOLERANCIA Y SU EFECTO EN LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA ANTIOXIDANTE EN FRUTOS DE TOMATE</b> .....	13
Resumen.....	13
Summary.....	14
Introducción.....	14
Materiales y Métodos.....	16
Resultados y Discusión.....	18
Conclusión.....	21
Literatura citada.....	24
<b>CONCLUSIÓN GENERAL</b> .....	28
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	29

## INDICE DE FIGURAS

Fig. No.	Página
2.1. Estructura química de la Quitina y el Quitosano .....	6
2. 2. Vía propuesta de síntesis del ácido salicílico en plantas a partir del ácido benzoico.....	8
2. 3. Estructura anatómica del tomate.....	8

## INTRODUCCIÓN

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) es la principal hortaliza de exportación de México; el valor de las exportaciones totales de esta hortaliza en el año 2002 ascendieron a 632.3 millones de dólares (FAO, 2004), de los cuales 551.7 millones provinieron de los Estados Unidos; este último valor corresponde al 69.4% de las importaciones totales de tomate fresco hechas por Estados Unidos (USDA, 2004).

El tomate es uno de los productos agrícolas de consumo más generalizado en la cocina internacional, ya sea como componente principal o para agregar sabor a platillos –fresco, cocinado, procesado, en salsas, purés, pastas e incluso como jugo- lo cuál le permite incorporarse en la alimentación de diversos países y culturas. En el caso de México, a pesar de ser el tomate una parte importante en la preparación de platillos y salsas, su consumo per cápita en el año 2001 fue de 14 Kg / año. De la producción total del año 2002 (1.9 millones de toneladas) el 61.2% se destinó al consumo nacional y el 38.8% al mercado externo.

La superficie cultivada de tomate en México a inicios y mediados de los noventa osciló alrededor de 100 mil hectáreas, disminuyendo a partir de 1998 para situarse en 67 mil hectáreas durante los años 2002 y 2003. A pesar de la disminución de la superficie cultivada, el nivel de producción no se vió afectado

debido al uso de tecnologías más intensivas, así en el año de 1998 la producción total ascendió a 2.3 millones de toneladas con un rendimiento promedio de 22.5 toneladas por hectárea, mientras que en el 2003 la producción alcanzada fue de 2.2 millones de toneladas con un rendimiento promedio de 32 toneladas por hectárea (FAO, 2004).

De acuerdo a estimaciones de la FAO (2004), las pérdidas en poscosecha debido a pudriciones, sobre maduración, daños mecánicos, pérdida de peso, son del 28.1% en frutas y del 42.2% para los vegetales. Debido a que las pérdidas son cuantiosas y ejercen un impacto aún mayor si se considera que dependiendo de la etapa del sistema del manejo en poscosecha, en donde ocurra ésta, el producto ya se encuentra gravado con costos de producción, costos de cosecha, costos de preparación para el mercado, costos de almacenamiento, costos de transportación y distribución, etc.

Se tiene el conocimiento de que la señalización del estrés induce resistencia a condiciones ambientales adversas y al ataque de patógenos, situaciones a las que siempre se encuentran, a veces en grado extremo, los productos cosechados. La resistencia sistémica inducida permite la adaptación de las plantas frente al estrés oxidativo, incluyendo la presencia de patógenos, que depende de un sistema de señalización por medio de los salicilatos y posiblemente de los oligómeros de la quitina. (Buchel *et al.*, 1999; Knoester *et al.*, 1999).

Los principales mecanismos de protección contra el estrés oxidativo son la activación del sistema de las enzimas antioxidantes (catalasa, peroxidasa, dehidroascorbato, glutatión reductasa y glutatión peroxidasa) y el consumo de

los compuestos antioxidantes hidrosolubles (glutati3n reducido y 1cido asc3rbico) y/o liposolubles ( $\alpha$ -tocoferol, carotenoides, flavonoides, polifenoles y otros).

Por lo tanto un incremento en los mecanismos de defensa puede ser determinante frente al estr3s oxidativo y en consecuencia en la tolerancia al estr3s.

Por lo anterior, los objetivos del presente trabajo son:

### **Objetivos:**

- a) Determinar el nivel de la actividad enzim1tica antioxidante de la peroxidasa y la catalasa en frutos de tomate mediante la aplicaci3n ex3gena del quitosano, el 1cido salic3lico y el 1cido benz3ico, que se sabe son se1alizadores del estr3s.
- b) Establecer el momento de aplicaci3n de los se1alizadores del estr3s en diferentes etapas del desarrollo del fruto de tomate.

### **Hip3tesis:**

El quitosano, el 1cido salic3lico y el 1cido benz3ico aplicados de manera ex3gena incrementan los niveles de la actividad enzim1tica de las enzimas catalasa y peroxidasa para controlar los efectos causados por el estr3s oxidativo en los frutos de tomate.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Señalización del estrés

Al proceso por medio del cuál las plantas perciben las señales de factores ambientales estresantes y las transmiten a la maquinaria celular para activar respuestas adaptativas y de defensa se le llama transducción de señales. Para que ocurra la transducción de señales se requiere de la acción de una vía o cascada de señalización, es decir, de la transferencia de estímulos desde la molécula receptora primaria, la que percibe el estímulo y se le llama receptor, a través de un conjunto de moléculas llamadas señalizadores, cuya función es transmitir la señal por medio de un evento químico como la fosforilación hasta las moléculas o genes que se encargan de la respuesta al estímulo llamados efectores ( Benavides-Mendoza *et al.*, 2002 ).

Las plantas, al igual que todos los seres vivos, aprovechan la naturaleza reactiva del oxígeno para obtener la mayor energía de los nutrientes reducidos que son oxidados hasta  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  durante la respiración. Sin embargo, la molécula de  $\text{O}_2$  puede ser activada de distintas formas produciendo un radical hidroxilo ( $\text{OH}^\cdot$ ) y su peróxido ( $\text{O}_2^-$ ), que es capaz de sustraerle electrones a otras moléculas llevándolas a la oxidación, además, puede formar en presencia de hidrógeno el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) que es el sustrato de enzimas de oxido reducción como la catalasa, peroxidasa, su peróxido dismutasa y glutatión reductasa que forman los antioxidantes enzimáticos (Noctor y Foyer, 1998).

En el entorno celular las especies activas del oxígeno (EAO) pueden oxidar a compuestos químicos tan importantes como las proteínas, los lípidos de las membranas o el ADN, causando daños importantes a la maquinaria bioquímica (Benavides, 2002). Se ha observado que la exposición a un estrés moderado puede provocar un aumento en algunos de los compuestos y/o las enzimas involucradas en los mecanismos de desintoxicación (Foyer *et al*, 1997).

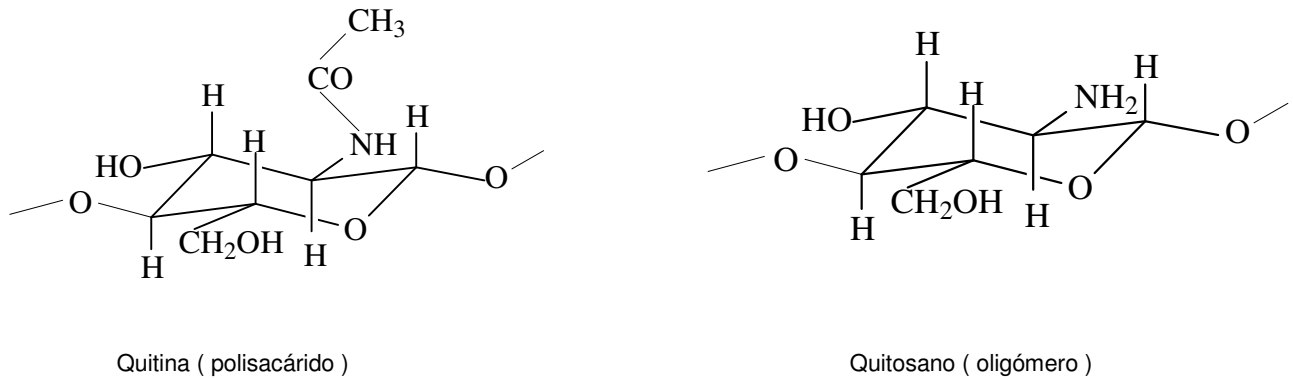
### **Quitosano**

El quitosano es un oligosacárido de origen natural extraído por procesos químicos del caparazón de crustáceos. Que al aplicarlo directamente a los tejidos de las planta, actúa como señalizador del estrés induciendo la peroxidación de lípidos y la producción de EAO, causa el cierre de estomas, promueve la activación de defensa contra los patógenos y probablemente contra el estrés abiótico (Benavides, 2002). Además de controlar la liberación de antioxidantes, la transferencia de humedad entre el fruto y el medio circundante, la velocidad de respiración de los frutos y el oscurecimiento enzimático. Es considerado como un inhibidor potencial de hongos debido a su capacidad de inducir enzimas de defensa y a su naturaleza catiónica, por lo que se ha utilizado para recubrir frutas y hortalizas con el fin de inhibir el crecimiento microbiano.

El quitosano es la forma desacetilada de la quitina, soluble en soluciones ácidas (Figura 2.1). Los factores principales que determinan la calidad del quitosano son: el grado de desacetilación, entre mayor sea, mejor será la



calidad y la viscosidad estándar, la cuál va a reflejar el peso molecular.  
(González *et al*, 2001).



**Figura 2.1.** Estructura química de la Quitina y el Quitosano

### Ácido Benzóico

Es considerado junto con el ácido orto-cumárico como uno de los precursores del ácido salicílico en las plantas superiores a través de la vía del Shikimato-fenilpropanoides (Figura 2.2).

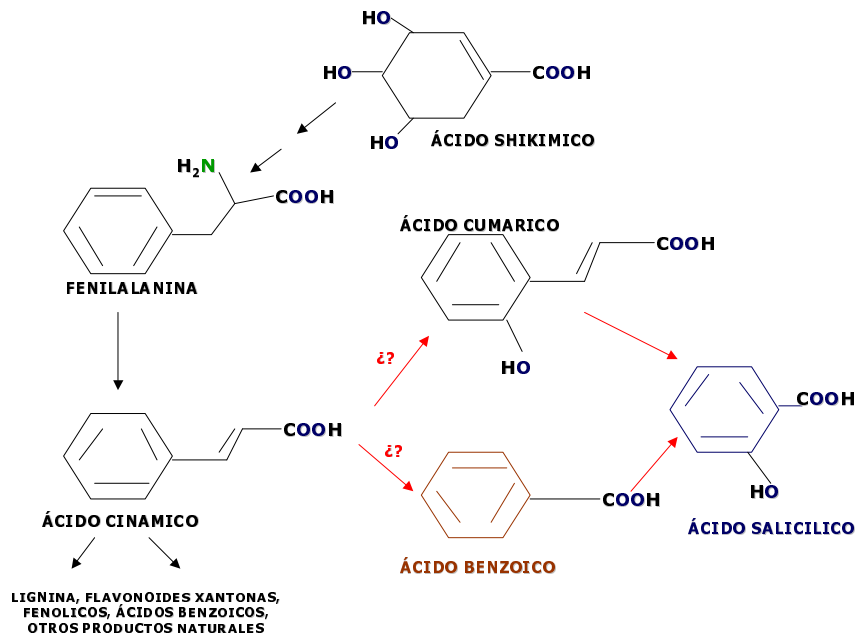
Se han propuesto dos caminos de síntesis del ácido salicílico a partir de la fenilalanina, la diferencia entre uno y otro se encuentra en el paso de la hidroxilación del anillo aromático. En una reacción catalizada por la enzima fenilalanina-amonio-liasa (PAL) la fenilalanina es convertida en ácido cinámico, este último es transformado en ácido benzóico, el cuál es precursor del ácido salicílico (Raskin, 1992).

## Ácido Salicílico

El ácido salicílico comenzó a sobresalir como una molécula señalizadora en plantas cuando se descubrió su papel como inductor de la termogénesis en plantas de la familia Araceae (Raskin, 1992).

Aplicado en forma exógena disminuye la susceptibilidad al daño por patógenos o estrés abiótico (Shiratsu *et al.*, 1997). Es probable que actúe como un regulador sobre el balance de oxidación/reducción de las células vegetales e inducir respuestas fisiológicas, morfogénicas y adaptativas en las plantas (Benavides, 2002), además de la actividad de la catalasa y otras enzimas que controlan el nivel de las EAO (Raskin, 1992); así como la oxidasa mitocondrial (Murphy *et al.*, 1999).

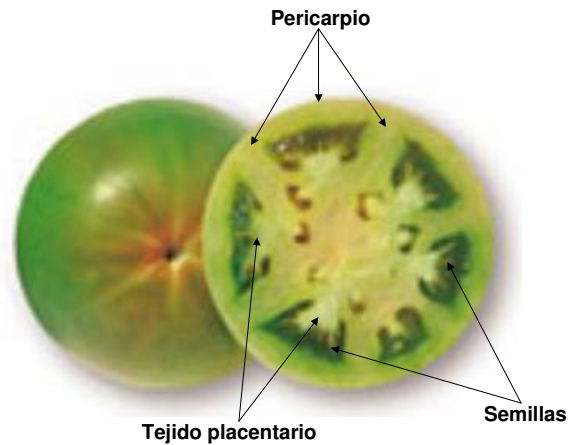
En base a estos resultados, el ácido salicílico y sus derivados podrían resultar herramientas útiles para el manejo agronómico del estrés.



**Figura 2.2.** Vía propuesta de síntesis del ácido salicílico en plantas a partir del ácido benzoico (Modificado de Raskin, 1992)

## Características del fruto de tomate

El fruto adulto del tomate está constituido básicamente por el pericarpio, el tejido placentario y las semillas (Figura 2.3).



**Figura 2.3.** Estructura anatómica del tomate.

El pericarpio lo componen la pared externa, las paredes radiales o septos que separan los lóculos y la pared interna o columnela. Se origina de la pared del ovario y consta de un exocarpo o piel, un mesocarpo parenquimático con haces vasculares y el endocarpo constituido por una capa unicelular que rodea los lóculos.

El mesocarpo de la pared externa está compuesto principalmente por células parenquimáticas, que son mayores en la región central y disminuyen junto a la epidermis y los lóculos. Las células adultas son grandes, de paredes delgadas y mantienen un alto grado de organización estructural, especialmente de las mitocondrias, los cromoplastos y el retículo endoplásmico. Los plastidios contienen almidón y tienen un sistema tilacoidal grana-intergrana. Las células epidérmicas tienen menos almidón que las células parenquimáticas.

La piel o exocarpo consta de la capa epidérmica externa, sin estomas y prácticamente sin almidón, y de dos a cuatro capas de células hipodérmicas de pared gruesa con espesamientos de tipo parenquimático. La epidermis está cubierta por una fina cutícula que se engrosa a medida que se desarrolla el fruto. La zona cuticular de 4 a 10  $\mu\text{m}$  de espesor consta de dos regiones: una capa de cutina que cubre las células epidérmicas y una capa cuticular (Wilson *et al*, 1976).

### **Cambios fisiológicos y bioquímicos durante la maduración del fruto**

Por su comportamiento respiratorio durante la maduración, el tomate está clasificado como un fruto climatérico. Durante esta etapa se producen cambios importantes en el color, la composición, aroma, sabor y textura mediante un proceso dirigido que comprende tanto procesos de síntesis como de degradación. Aunque durante la maduración se produce una degradación de la pared celular y algunos componentes cloroplásticos se desintegran, simultáneamente se produce la formación de cromoplastos (Brady, 1987).

### **Estructura celular durante la maduración del fruto**

Durante la maduración las modificaciones estructurales más importantes tienen lugar en la pared y los cloroplastos. La pared celular está constituida por fibrillas de celulosa impregnadas por una matriz de sustancias pécticas, hemicelulosas y proteínas (Crookers *et al*, 1983). En la maduración los cambios en la pared celular inician en la lámina media, que se hace más densa a los electrones y, casi de forma simultánea, comienza la solubilización de la pared

celular por la acción de la enzima poligalacturonasa y la acumulación de pectinas solubles en agua.

Los cloroplastos pierden la clorofila y la estructura típica de las tilacoides desaparece, reemplazada por un sistema de membranas internas de aspecto ondulado.

El pigmento rojo, licopeno, se acumula en asociación con este sistema de membranas interno a medida que se desarrolla el cromoplasto, y el  $\beta$ -caroteno, que tiene una solubilidad diferente, se acumula en glóbulos lipídicos.

A medida que avanza la maduración se presenta degradación de la pared celular; por lo que el fruto muy maduro tiene las paredes frágiles. Esto produce una textura blanda y jugosa, que hace al tejido del fruto susceptible al daño mecánico y a la penetración de organismos patógenos.

## **Enzimas**

Las enzimas son proteínas que catalizan reacciones químicas en los seres vivos. Son catalizadores excelentes, más eficaces y específicos que muchos otros compuestos químicos; dirigen y regulan miles de reacciones celulares al mantener la transformación de la energía, la síntesis y la degradación metabólica. Sin ellas, no se llevarían a cabo la mayoría de las reacciones celulares. Cada enzima cataliza un solo tipo de reacción y casi siempre actúa sobre un único sustrato o sobre un grupo muy reducido de ellos.

## **Catalasa**

La enzima catalasa (CAT) cataliza la dismutación del peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) en agua ( $\text{H}_2\text{O}$ ) y oxígeno ( $\text{O}_2$ ). Es importante en la remoción del peróxido de hidrógeno generado durante el ciclo de glicoxilato en la fotorrespiración, la  $\beta$ -oxidación de lípidos en los peroxisomas y el catabolismo de las purinas. La catalasa tiene un papel predominante en los mecanismos de detoxificación de EAO (Redinbaugh, *et al*, 1988).

## **Peroxidasa**

Las enzimas peroxidasa (PX) se localizan en el citoplasma, las vacuolas y la pared celular; y en menor cantidad en el tonoplasto, la plasmalema, las mitocondrias y las microsomas. Las peroxidasa intervienen en el catabolismo de las hormonas, la oxidación de fenoles, el entrecruzamiento de los polisacáridos y las proteínas de la pared celular, la polimerización de la lignina, la maduración de las frutas y la defensa contra patógenos.

Además durante la maduración de frutos y particularmente durante el climaterio, se ha encontrado que la actividad de las peroxidasa se incrementa junto con otras enzimas, como la poligalacturonasa y las celulasas, las cuales se asocian con el proceso de maduración (Robinson, 1991). Las enzimas de óxido reducción desencadenan la transducción de señales por medio de la fosforilación.

**ARTÍCULO: APLICACIÓN EXÓGENA DE INDUCTORES DE TOLERANCIA Y SU EFECTO EN LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA ANTIOXIDANTE EN FRUTOS DE TOMATE ( *Lycopersicon esculentum* )**

EXOGENOUS APPLICATION OF TOLERANCE ELICITORS AND ANTIOXIDANT ENZYMATIC ACTIVITY IN TOMATO FRUIT

**Juan David Sánchez-Chaparro<sup>1</sup>, Adalberto Benavides-Mendoza<sup>2</sup>, Rosalinda Mendoza-Villarreal<sup>3</sup>, Hortensia Ortega-Ortíz<sup>4</sup>, Homero Ramírez<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Estudiante de la Maestría en Ciencias en Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

<sup>2</sup>Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila 25315 México Email: abenmen@uaaan.mx

<sup>3</sup>Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

<sup>4</sup>Departamento de Biopolímeros, Centro de Investigación en Química Aplicada, Blvd. Enrique Reyna # 140, CP 25100 Saltillo, Coahuila. Email: hortega@ciqa.mx

**RESUMEN**

En forma exógena se aplicaron los inductores de tolerancia quitosano al 0.1%, ácido salicílico 0.1 mM y ácido benzoico 0.1 mM en frutos de tomate sin aplicarlos en las hojas y tallos de la planta. Los compuestos inductores se aplicaron mediante aspersion a los racimos fructificados en alguna de las siguientes etapas: amarre, llenado y etapa 3 de la maduración del fruto.

La actividad de las enzimas antioxidantes catalasa y peroxidasa se determinó en la etapa 4 de maduración, encontrándose aumento en la actividad de ambas enzimas al aplicar los inductores en ciertas etapas del crecimiento del fruto. El quitosano aplicado en el llenado de fruto, y el ácido salicílico durante el amarre incrementaron la actividad de catalasa. La actividad de peroxidasa

aumentó significativamente al aplicar quitosano en el amarre y llenado de fruto encontrando un efecto menor para el ácido salicílico. El ácido benzóico no modificó la actividad de catalasa o peroxidasa.

**Palabras Clave: antioxidante, catalasa, peroxidasa, ácido benzóico, ácido salicílico, quitosano.**

## SUMMARY

The elicitor compounds chitosan 0.1%, salicylic acid 0.1 mM and benzoic acid 0.1 mM were sprayed on tomato fruits without applying them in the leaves and stems of the plant. The elicitors were sprayed at one of the following stages: fruit set, fruit growth and phase 3 of fruit ripening. The activity of the antioxidant enzymes catalase and peroxidase was determined in the phase 4 of fruit ripening, being found an increase in the activity of both enzymes upon applying the elicitors in certain stages of the fruit development. The chitosan applied during the growth of the fruit, and the salicylic acid applied during the fruit set increased the activity of catalase. The peroxidase activity increased significantly upon applying chitosan during fruit set and growth of the fruit, finding a smaller effect for the salicylic acid. Benzoic acid did not modify the peroxidase or catalase activity.

**Key words: antioxidant, catalase, peroxidase, benzoic acid, salicylic acid, chitosan**

## INTRODUCCIÓN

La adaptación de las plantas a diversos tipos de estrés depende de un complejo sistema de señalización celular en donde intervienen las especies activas de oxígeno (EAO), los salicilatos y los oligómeros de quitina y celulosa (Foyer *et al.*, 1997; Buchel *et al.*, 1999; Knoester *et al.*, 1999; Wojtaszek, 1997). La presencia de estos compuestos inductores activa los sistemas de antioxidantes y defensa celular contra el estrés abiótico y biótico (López-Delgado, 1998; Pastori y Foyer, 2002), además de cumplir algunas funciones de regulación del desarrollo (Raskin, 1992) y de la maduración del fruto de tomate (Jiménez *et al.*, 2002).



El quitosano (poli-N-acetil-D-glucosamina), preparado comercialmente por la desacetilación alcalina de la quitina, parece actuar como inductor de tolerancia al estrés al aplicarlo directamente a los tejidos de la planta, desencadenando una reacción hipersensible y de lignificación (Maksimov *et al.*, 2003), induciendo la peroxidación de lípidos, la producción de EAO, el cierre de estomas y promoviendo la activación de defensas contra los patógenos (Lee *et al.*, 1999; Ortega-Ortiz *et al.*, 2003).

El ácido salicílico aplicado en forma exógena disminuye la susceptibilidad al daño por patógenos o estrés abiótico (Shirasu *et al.*, 1997) y aumenta la tolerancia del fruto al daño por frío (Ding *et al.*, 2002) extendiendo asimismo la vida de almacenamiento (Srivastava y Dwivedi, 2000). Al parecer actúa como un regulador sobre el balance de oxidación/reducción de las células vegetales, induciendo respuestas fisiológicas, morfogénicas y adaptativas en las plantas (Pastori y Foyer, 2002). Además, participa en la actividad de las catalasas y otras enzimas que controlan el nivel de las EAO (Raskin, 1992) y la oxidasa mitocondrial (Murphy *et al.*, 1999).

El ácido benzóico es otro salicilato que aplicado en plantas superiores modifica el crecimiento, la tolerancia al estrés y la anatomía y morfología de especies comestibles y ornamentales<sup>1</sup>.

La catalasa (CAT) es una enzima relacionada con el control celular de los niveles de EAO. Cataliza la dismutación del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno (Redinbaugh, *et al.*, 1988).

Las peroxidasas (PX) intervienen en el catabolismo de hormonas, la oxidación de fenoles, el entrecruzamiento de los polisacáridos y de las proteínas de la pared celular, la polimerización de la lignina, la maduración de frutos y la defensa contra patógenos. Durante la maduración de frutos y particularmente durante el climaterio, se ha encontrado que la actividad de las

---

<sup>1</sup> [García-Magallón, E., A. Rojas-Duarte, A. Benavides-Mendoza, Francisca Ramírez-Godina, Leobardo Bañuelos-Herrera. Aplicación del ácido benzoico en forma foliar al cultivo de \*Lilium\* cv. Dreamland. Memoria del XIX Congreso Nacional de Fitogenética. Saltillo, Coah., 1 al 5 de septiembre del 2002. p. 72. ISBN 968-839-314-2.](#)

peroxidasas se incrementa junto con la poligalacturonasa y las celulasas (Robinson, 1991).

Aunque existen diferentes estudios del efecto del quitosano y los salicilatos sobre las respuestas de los tejidos vegetativos de las plantas, se tiene menos información acerca de la respuesta de los tejidos reproductivos, en particular los frutos. Por ello, el objetivo de este estudio fue determinar el nivel de la actividad enzimática de la peroxidasa y la catalasa inducida mediante la aplicación exógena de quitosano, ácido salicílico y ácido benzóico en frutos de tomate.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

Este trabajo fue realizado en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ubicada en Coahuila, México, cuyas coordenadas geográficas son: 25° 22' latitud norte, 101° 00' longitud oeste y altitud de 1760 msnm.

Se emplearon plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) de la variedad "Río Grande" de la empresa Petoseed. Las semillas fueron sembradas el 12 de mayo de 2003 en una charola de poliestireno de 200 cavidades, utilizando turba canadiense TBK. La charola fue colocada en una cama flotante con solución nutritiva Douglas (Douglas, 1976). El 14 de junio las plántulas fueron trasplantadas a macetas de polietileno de color negro de 20 litros utilizando turba canadiense PROMIX BX como sustrato. Las macetas fueron establecidas en un invernadero de tipo colombiano con ventilación pasiva, utilizando la técnica de cultivo hidropónico propuesto por Bentley (1974). Se aplicó un litro de solución Douglas por maceta por día hasta el inicio de la floración, 40 días después del trasplante, cambiando a dos litros por día durante la floración y amarre del fruto, 65 días después del trasplante, y tres litros por día durante el llenado del fruto y la cosecha que inició a los 85 días después del trasplante.

Los tratamientos aplicados fueron quitosano de la marca Carbomar con un peso molecular de 650,000 gr mol, con un grado de desacetilación del 86% a una concentración del 0.1% en ácido acético al 1%, ácido salicílico 0.1 mM y ácido benzóico 0.1 mM. Los compuestos inductores de tolerancia fueron aplicados mediante aspersión en tres etapas de desarrollo. En algunos racimos

los tratamientos se aplicaron solamente en el amarre de los frutos, en otros racimos la aplicación fue durante el llenado del fruto, mientras que en otros fue en la etapa 3 de la maduración. Se define la etapa 3 cuando más del 10% pero menos del 30% de la superficie del fruto presenta un cambio de color verde a amarillo oscuro, rosa, rojo o una combinación de colores (Cantwell, 2002).

Todos los frutos tratados fueron cosechados al llegar a la etapa 4 de la maduración, cuando del 30% al 60% de la superficie mostró color rosa o rojo. En dicha etapa se esperan los valores más altos de actividad de enzimas antioxidantes (Andrews *et al.*, 2004). Los frutos fueron cortados durante las primeras horas de la mañana para realizar la extracción y cuantificación de la actividad enzimática de la catalasa y la peroxidasa.

### **Extracción y determinación de la actividad enzimática**

#### **Catalasa**

La extracción de la catalasa se hizo a partir de 0.5 g de pulpa de tomate sin cáscara en 5 ml de buffer fosfatos 100 mM de pH 7.0, 50 mg de polivinilpirrolidona en un mortero previamente enfriado a 4°C. La mezcla se centrifugó a 11,000 rpm por 11 minutos a 4°C. En el sobrenadante se obtuvo la enzima (Masia, 1998).

Para la determinación de la actividad enzimática de la catalasa se prepararon 5 ml de la mezcla de reacción en un tubo de ensaye que contenía: 300µM de buffer fosfatos 100 mM pH 6.8, 100µM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y 1 ml del sobrenadante con la enzima diluido 1:20.

La mezcla de reacción se incubó por un minuto a 25°C, la reacción fue detenida al agregar 10 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 2% (v/v). El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> residual se tituló con una solución de KMnO<sub>4</sub>, 0.2 M hasta obtener un color púrpura débil que persistió al menos 15 segundos. Una unidad de catalasa se define como la cantidad de enzima que descompone 1 µM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por minuto a 25°C.

## **Peroxidasa**

Se homogenizaron 0.5 gr de pulpa de tomate sin cáscara con 5 ml de buffer fosfatos 100 mM a pH 6.8, en un mortero previamente enfriado a 4°C. La mezcla se centrifugó a 13000 rpm por 15 minutos a 4°C. El sobrenadante que contiene la enzima peroxidasa se decanta y se diluye 1:20.

La actividad enzimática se determinó con 125 µM de buffer fosfatos 100mM a pH 6.8, 50 µM de pirogalol, 50 µM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y 1 ml de extracto de enzima diluido 1:20.

La mezcla de reacción se incubó por 1 minuto a 25°C, después se añadieron 0.5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 5% (v/v) para detener la reacción. La concentración de purpurogalina formada se mide a una absorbancia a 445 nm. Una unidad de peroxidasa es igual a 0.1 de absorbancia (Kar y Mishra, 1976).

Para la cuantificación de la actividad enzimática se utilizó un diseño experimental 4 X 3 completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento, siendo la unidad experimental el extracto de la pulpa de tres tomates. Los resultados de las variables determinadas se analizaron estadísticamente por medio de un análisis de varianza ( $\alpha = 0.01$ ), utilizando el programa estadístico SAS.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Actividad de la catalasa en el fruto de tomate**

Los resultados del análisis de varianza marcaron diferencias significativas para la interacción tratamientos\*etapa de aplicación ( $p < 0.05$ ). Efectivamente, en la Figura 1 se aprecia que los inductores de tolerancia ejercieron diferente efecto de acuerdo a la etapa en que fueron aplicados. Fue notable el aumento en la actividad de catalasa en el fruto de tomate cuando se aplicó quitosano durante el llenado o ácido salicílico durante el amarre. Lo contrario ocurrió cuando los mencionados compuestos fueron aplicados en la etapa 3 de la maduración.

El ácido salicílico, y posiblemente el benzoico, se unen de manera específica a las enzimas que contienen hierro como las catalasas, aconitasas y

peroxidasas (Ruffer *et al.*, 1995). Dicha unión cambia positiva o negativamente la actividad de las enzimas modificando rápidamente la tolerancia de las plantas o de los tejidos al estrés oxidativo (Willekens *et al.*, 1997). Sin embargo, los resultados de estos estudios no explican como pudo modificada la actividad de la catalasa, en la etapa 4 de la maduración, por los inductores de tolerancia aplicados en las etapas previas del desarrollo.

Se sabe que la aplicación de los inductores de tolerancia modifica el metabolismo y la expresión génica diferencial. Estos cambios a su vez regulan a largo plazo el desarrollo de los tejidos (Pastori y Foyer, 2002). Dicho efecto fue observado al aplicar ácido salicílico y ácido benzoico en semillas sin germinar, resultando plántulas más tolerantes a la baja temperatura (Benavides-Mendoza *et al.*, 2004) y a la salinidad<sup>2</sup>, a pesar de no recibir directamente algún tratamiento. En nuestro estudio se observó que la aplicación de quitosano o ácido salicílico antes de cosechar el fruto cambió la actividad de catalasa de los frutos durante la etapa 4 de la maduración. Puede suponerse que este efecto fue consecuencia de la activación de algunos genes relacionados con la defensa celular contra el estrés (Ding *et al.*, 2002).

El aumento en el nivel de catalasa se relaciona con una mayor tolerancia al daño oxidativo por frío (Lafuente *et al.*, 2004). La aplicación exógena de quitosano aumentó la tolerancia a los patógenos en frutos de aguacate no maduros (Salvador *et al.*, 1999) pero aplicado en frutos de tomate maduros disminuyó la firmeza de los mismos<sup>3</sup>; estas respuestas aparentemente opuestas tal vez obedezcan a que algunas respuestas enzimáticas, como la de la catalasa, sigan un patrón particular de acuerdo a la etapa de aplicación de los compuestos inductores.

---

<sup>2</sup> Santiago Guillén, A.R. 2002. Efecto del Ácido Salicílico y Ácido Benzoico en la Germinación y Biomasa de Betabel y Lechuga en Medio Salino. Tesis Ingeniero Agrónomo en Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

<sup>3</sup> Vásquez Santiago, C. 2003. Uso de Compuestos Señalizadores del Estrés para Modificar la Vida Postcosecha del Tomate (*Lycopersicon esculentum*). Tesis Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

### **Actividad de la peroxidasa en el fruto de tomate**

Los resultados de los análisis de varianza para el factor inductores de tolerancia y el factor etapa de aplicación marcaron diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.01$ ) así como para la interacción tratamientos \* etapa de aplicación ( $p < 0.01$ ). Al igual que en la catalasa se observó que los inductores de tolerancia ejercieron diferente efecto sobre la actividad de peroxidasa de acuerdo a la etapa en que fueron aplicados (Figura 2), aunque en este caso el quitosano fue el compuesto que indujo mayores diferencias frente al testigo.

La actividad peroxidasa de la planta parece estar bajo un control estricto que depende de la etapa del desarrollo y de los estímulos ambientales (Gadea *et al.*, 1999). Sala (1998) y Rivera (2001) reportaron que la actividad de la peroxidasa aumentó al aplicar alta temperatura como inductor de tolerancia al estrés en frutos de mandarina y limón persa, respectivamente. Edreva *et al* (1993) concluyeron que existe una estrecha relación entre los altos niveles de peroxidasa en los tejidos y la tolerancia a la baja temperatura en el trigo. Por otra parte, la activación de la peroxidasa esta correlacionada con las respuestas de defensa del fruto en presencia de patógenos (Maksimov *et al* 2003). Una actividad mayor de la peroxidasa en los tratamientos con quitosano parece indicar la efectividad de este compuesto como inductor de los sistemas antioxidantes de la planta (Simontacchi *et al*, 2000).

Los tratamientos en los que se aplicó ácido benzoico no mostraron diferencias significativas con el testigo. Mientras que los tratamientos a los cuales se les aplicó ácido salicílico presentaron niveles de actividad superior al ácido benzoico, sobre todo en las etapas de amarre y cosecha de fruto. Demostrando la gran capacidad que tiene el ácido salicílico de inducir respuestas fisiológicas y adaptativas en las plantas (Benavides, 2002).

## **CONCLUSIÓN**

La aplicación exógena de los inductores de tolerancia quitosano y ácido salicílico, en distintas etapas del desarrollo del fruto, aumentó notablemente el nivel de la actividad de las enzimas catalasa y peroxidasa en el tejido de frutos. Los valores más altos de activación de la actividad enzimática antioxidante de catalasa y peroxidasa se obtuvieron al tratar los frutos con quitosano al 0.1% en la etapa de llenado de fruto. El ácido salicílico aplicado en la etapa de amarre de fruto incremento la actividad de la enzima catalasa.

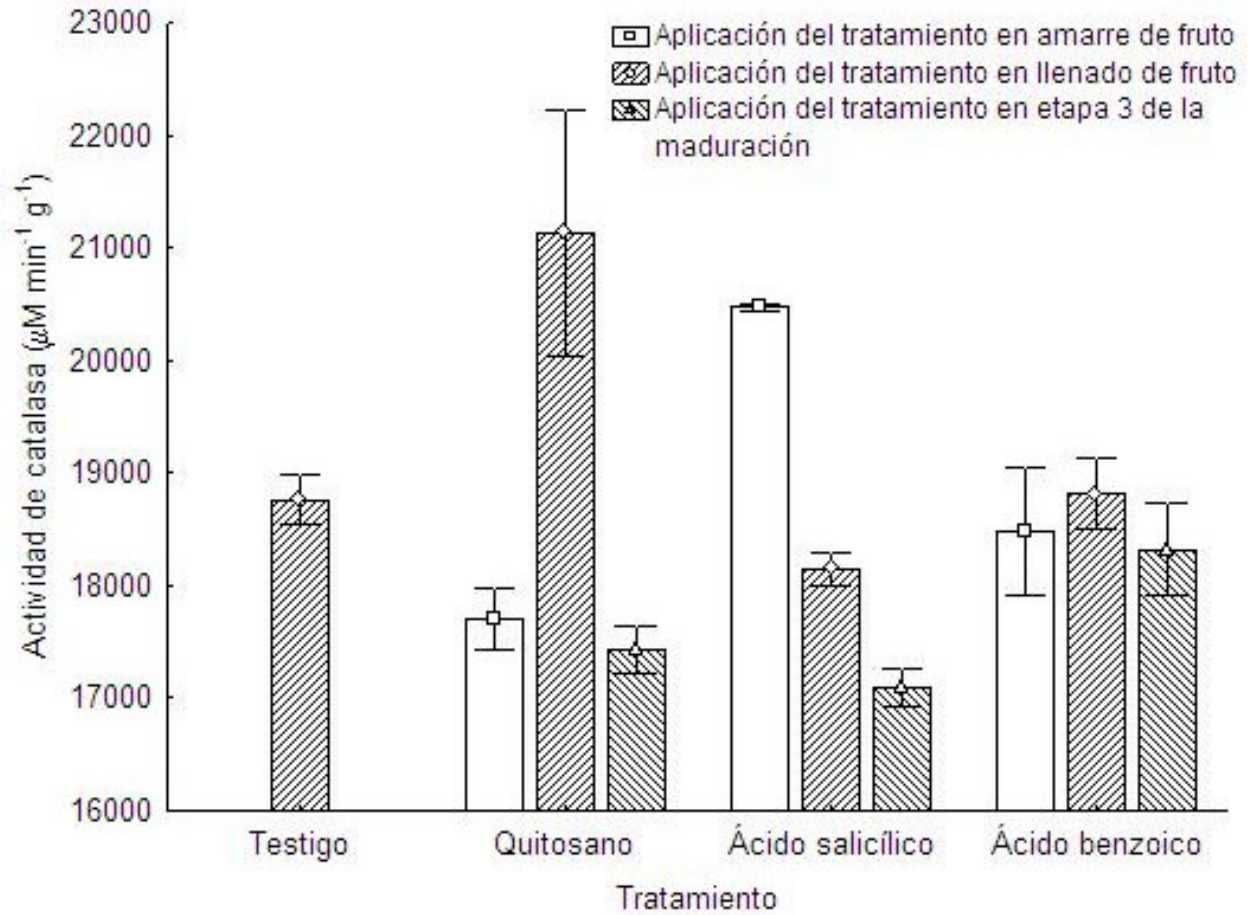


Figura 1. Respuesta de la actividad enzimática de la catalasa en frutos de tomate tratados con señalizadores de estrés: quitosano al 0.1 %, ácido salicílico 0.1 mM y ácido benzoico 0.1 mM.



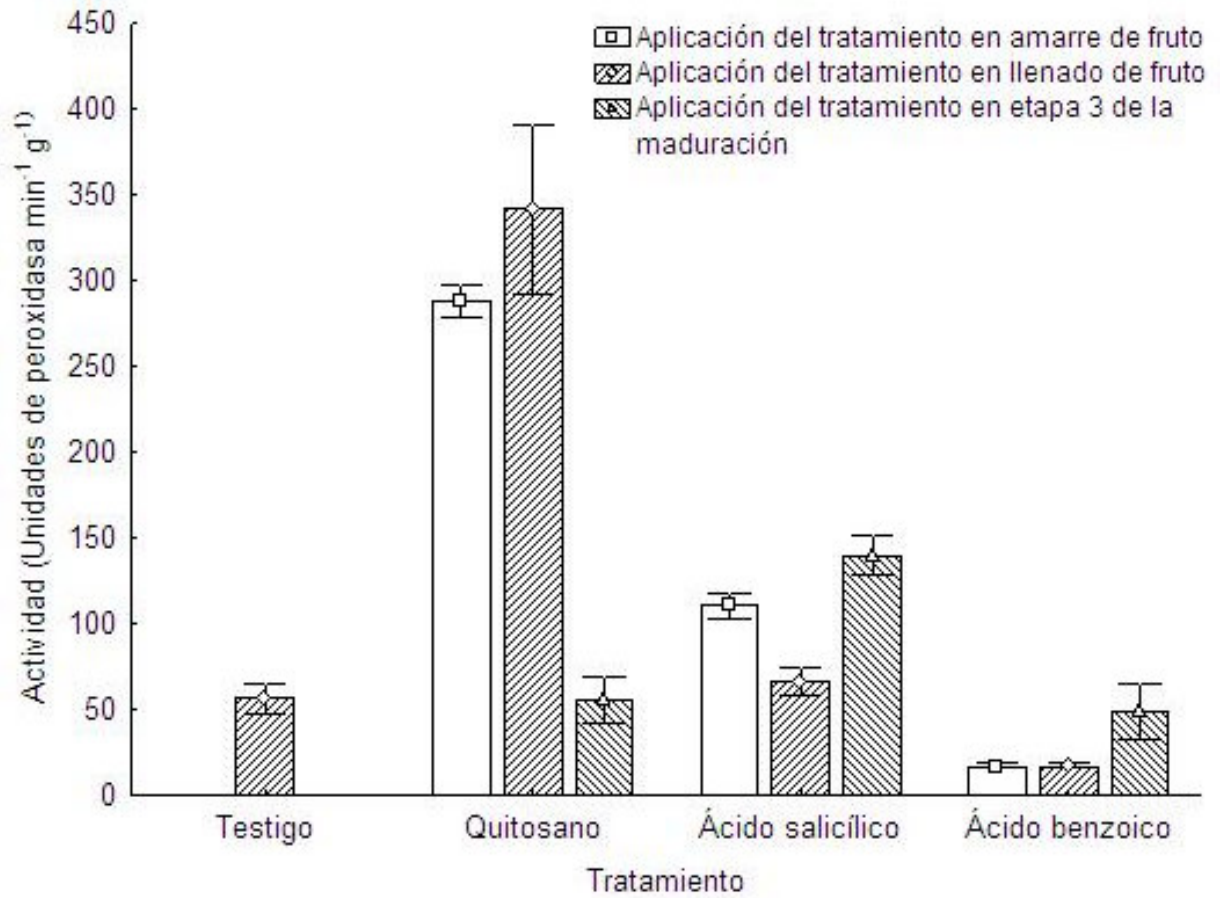


Figura 2. Respuesta de la actividad enzimática de la peroxidasa en frutos de tomate tratados con señalizadores de estrés: quitosano al 0.1%, ácido salicílico 0.1 mM, y ácido benzoico 0.1 mM.

## LITERATURA CITADA

- Andrews PK, Fahy DA, Foyer CH. 2004.** Relationships between fruit exocarp antioxidants in the tomato (*Lycopersicon esculentum*) high pigment-1 mutant during development. *Physiol. Plant.* 120:519-528.
- Benavides-Mendoza A. 2002.** Ecofisiología y bioquímica del estrés en plantas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coah. 287 p.
- Benavides-Mendoza A., Salazar-Torres AM, Ramírez-Godina F, Robledo-Torres V, Ramírez-Rodríguez H, Maiti RK. 2004.** Tratamiento de semilla de chile con ácido salicílico y sulfosalicílico y respuesta de las plántulas al frío. *Terra Latinoamericana* 22:41-47.
- Bentley M. 1974.** Hydroponics Plus O'Connors Printers, Sioux Falls, South Dakota. USA.
- Buchel AS, Brederode FT, Bol JF, Linthorst HJ. 1999.** Mutation of GT-1 binding sites in the Pr-1A promoter influences the level of inducible gene expression in vivo. *Plant Mol. Biol.* 40: 387-396.
- Cantwell M. 2002.** Tomate. Recomendaciones para mantener la calidad en poscosecha. Department of Vegetable Crops, University of California, Davis, CA 95616.  
<http://www.coolforce.com/facts/espanol/Tomate.html>
- Ding CK, Wang CY, Gross KC, Smith DL. 2002.** Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. *Planta* 214:895-901.
- Douglas JS. 1976.** Advanced guide to hydroponics. Drake Publishers, Inc. New York, USA. 195 p.
- Edreva, A., Salcheva, G., Georgieva, D. 1993.** Stress damage is related to peroxidase induction in wheat plants. In: Plant peroxidases. Biochemistry and Physiology. Eds. K. G. Welinder, S. K. Rasmussen, C. Penel, H. Greppin. University of Geneva. 401-404.
- Foyer CH, López-Delgado H, Dat JF, Scott I.M. 1997.** Hidrogen peroxidase and glutathione associated mechanisms of acclamatory stress tolerance and signaling, *Physiol. Plant.* 100: 241-254.
- Gadea J, Conejero V, Vera P. 1999.** Developmental regulation of a cytosolic ascorbate peroxidase gene from tomato plants. *Mol Gen Genet* 262(2): 212-9

- Garcia-Magallon, E., Rojas-Duarte, A., Benavides-Mendoza, A., Ramírez-Godina, F., Bañuelos-Herrera, L. 2002.** Aplicación del ácido benzóico en forma foliar al cultivo de *Lilium* cv. Dreemland. Memoria del XIX Congreso Nacional de Fitogenética. Saltillo, Coah., México. p. 72. ISBN 968-839-314-2.
- Jiménez A, Creissen G, Kular B, Firmin J, Robinson S, Verhoeyen M, Mullineaux P. 2002.** Changes in oxidative processes and components of the antioxidant system during tomato fruit ripening. *Planta* 214: 751-718.
- Kar M, Mishra D. 1976.** Catalase, peroxidase and polifenoloxidase activities during rice leaf. *Plant Physiol*, 57: 315-319.
- Knoester M, Pieterse CM, Bol JF, Van Loon LC. 1999.** Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by rhizobacteria requires ethylene-dependent signaling at the site of application. *Mol. Plant Microbe Interact.* 12: 720-727.
- Lafuente MT, Sala JM, Zacarias L (2004).** Active oxygen detoxifying enzymes and phenylalanine ammonia-lyase in the ethylene-induced chilling tolerance in citrus fruits. *J. Agric. Food Chem.* 52:3606-3611.
- Lee S, Choi H, Suh S, Doo IS, Oh KY, Choi EJ, Schroeder Taylor AT, Low PS, Lee Y. 1999.** Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing the evolution of reactive oxygen species from guard cells of tomato and *Commelina communis*. *Plant Physiol.* 121(1): 147-152.
- Lopez-Delgado H, Dat J, Foyer C, Scott I. 1998.** Induction of thermotolerance in potato microplants by acetylsalicylic acid and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *J. Exp. Bot.* 49: 713-720.
- Masia A. 1998.** Superoxide dismutase and catalase activities in apple fruit during ripening and post-harvest and special reference to ethylene. *Physiol Plant.* 104: 668-672.
- Maksimov IV., Cherepanova EA, Khairullin RM. 2003.** "Chitin-specific" peroxidases in plants. *Biochemistry* 68: 111-5 .
- Murphy M, Chivasa S, Singh DP, Carr JP. 1999.** Salicylic acid-induced resistance to viruses and other pathogens: a parting of the ways? *Trends Plant Sci.* 4: 155-160.
- Ortega-Ortíz H, Benavides-Mendoza A, Flores-Olivas A, Ledezma-Pérez A. 2003.** Use of the interpolyelectrolyte complexes of poly(acrylic acid)-chitosan as inductors of tolerance against pathogenic fungus in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. Var. Floradade). *Macromolecular Bioscience* 3: 566-570.

- Pastori GM, Foyer CH. 2002.** Common components, networks, and pathways of cross-tolerance to stress. The central role of “redox” and abscisic acid-mediated controls. *Plant Physiol.* 129:460-468.
- Raskin I. 1992.** Role of salicylic acid in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43: 439-463.
- Redinbaugh MG, Wadsworth GJ, Scandalios JG. 1988.** Characterization of catalase transcripts and their differential expressions in maize. *Biochem. Biophys. Acta.* 951: 104-116.
- Rivera, F. 2001.** Participación de enzimas antioxidantes en la tolerancia cruzada al estrés oxidativo de daño por frío en frutos de limón persa. Colegio de postgraduados. Tesis Maestría.
- Robinson DS. 1991.** Peroxidases and Catalases in foods. Robinson, D. S., Eskin , M. N. (Eds). In: *Oxydative enzymes in foods.* Elsevier Science Publishers LTD. England. P. 1-9.
- Ruffer et al 1995 Ruffer, M, Steipe B, and Zank MH (1995).** Evidence against specific binding of salicylic acid to plant catalase. *FEBS Lett.* 377:175-180.
- Sala, J. M. 1998.** Involvement of oxidative stress in chilling injury in cold-stored mandarins fruits. *Postharv. Biol. Technol.* 13:255-261.
- Salvador, L., S. P. Miranda, N. Aragón y V. Lara. 1999.** Recubrimiento de quitosán en aguacate. *Rev. Soc. Quím. Méx.* 43:18-23.
- Shiratsu, K., H. Nakajima, V.K. Rajasekhar, R.A. Dixon, and C. Lamb. 1997.** Salicylic acid potentiates an agonist-dependent gain control that amplifies pathogen signals in the activation of defense mechanisms. *Plant Cell* 9:261-270.
- Simontacchi, M., Galatro, A., Puntarulo, S. 2000.** El estrés oxidativo en las plantas. *Ciencia hoy.* Vol. 10. No. 60.
- Srivastava, M.K. and U.N. Dwivedi. 2000.** Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. *Plant Sci.* 158:87-96.

**Willekens, H, Chamnongpol S, Davey M, Schraudner M, Langebartels C, Van Montagu M, Inzé D, Van Camp W (1997).** Catalase is a sink for  $H_2O_2$  and is indispensable for stress defence in C3 plants. *EMBO J.* 16:4806-4816.

**Wojtaszek, P. 1997.** Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection. *Biochem. J.* 322:681-692.

## **CONCLUSION GENERAL**

Se determino que el quitosano al 0.1porciento y el ácido salicílico en concentración 0.1 mM incrementaron notablemente el nivel de la actividad de las enzimas catalasa y peroxidasa.

En cuanto a la etapa de aplicación en fruto, se encontró que los niveles de mayor actividad enzimática se presentaron en aquellos frutos tratados en la etapa de llenado de fruto con quitosano al 0.1 porciento.

Los resultados obtenidos pueden dar una idea de la importante área de oportunidad que se tiene para desarrollar nueva tecnología para la producción agrícola que prevenga o disminuya los efectos del estrés oxidativo en frutos a partir del conocimiento que existe sobre los inductores de tolerancia y su efecto en el metabolismo de las plantas con lo cual se espera preservar durante mayor tiempo las características de calidad de los productos cosechados.

## LITERATURA CITADA

- Andrews PK, Fahy DA, Foyer CH. 2004.** Relationships between fruit exocarp antioxidants in the tomato (*Lycopersicon esculentum*) high pigment-1 mutant during development. *Physiol. Plant.* 120:519-528.
- Benavides-Mendoza A. 2002.** Ecofisiología y bioquímica del estrés en plantas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coah. 287 p.
- Benavides-Mendoza A., Salazar-Torres AM, Ramírez-Godina F, Robledo-Torres V, Ramírez-Rodríguez H, Maiti RK. 2004.** Tratamiento de semilla de chile con ácido salicílico y sulfosalicílico y respuesta de las plántulas al frío. *Terra Latinoamericana* 22:41-47.
- Bentley M. 1974.** Hydroponics Plus O'Connors Printers, Sioux Falls, South Dakota. USA.
- Brady, J. 1987.** Fruit ripening. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 38: 155-178.
- Buchel AS, Brederode FT, Bol JF, Linthorst HJ. 1999.** Mutation of GT-1 binding sites in the Pr-1A promoter influences the level of inducible gene expression in vivo. *Plant Mol. Biol.* 40: 387-396.
- Cantwell M. 2002.** Tomate. Recomendaciones para mantener la calidad en poscosecha. Department of Vegetable Crops, University of California, Davis, CA 95616.  
<http://www.coolforce.com/facts/espanol/Tomate.html>
- Crokers, P., Grierson, D. 1983.** Ultrastructure of tomato fruit ripening and the role of poligalacturonasa isoenzymes in cell wall degradation. *Plant Physiol.* 72: 1088-1093.
- Ding CK, Wang CY, Gross KC, Smith DL. 2002.** Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and resistance to chilling injury in tomato fruit. *Planta* 214:895-901.
- Douglas JS. 1976.** Advanced guide to hydroponics. Drake Publishers, Inc. New York, USA. 195 p.
- Edreva, A., Salcheva, G., Georgieva, D. 1993.** Stress damage is related to peroxidase induction in wheat plants. In: *Plant peroxidases. Biochemistry and Physiology.* Eds. K. G. Welinder, S. K. Rasmussen, C. Penel, H. Greppin. University of Geneva. 401-404.

- F. A. O. 2004.** Base de datos estadísticos de la FAO. <http://faostat.fao.org>
- Foyer CH, López-Delgado H, Dat JF, Scott I.M. 1997.** Hidrogen peroxidase and glutathione associated mechanisms of acclamatory stress tolerance and signaling, *Physiol. Plant.* 100: 241-254.
- Gadea J, Conejero V, Vera P. 1999.** Developmental regulation of a cytosolic ascorbate peroxidase gene from tomato plants. *Mol Gen Genet* 262(2): 212-9
- Garcia-Magallon, E., Rojas-Duarte, A., Benavides-Mendoza, A., Ramírez-Godina, F., Bañuelos-Herrera, L. 2002.** Aplicación del ácido benzóico en forma foliar al cultivo de Liliun cv. Dreemland. Memoria del XIX Congreso Nacional de Fitogenetica. Saltillo, Coah., México. p. 72. ISBN 968-839-314-2.
- González V., Guerrero C., Ortiz U.** Estructura y compatibilidad de mezclas de poliamidas con quitina y quitosán. Ingenierias UANL Vol. IV. No. 13.
- Inze D, Van Montagu M. 1995.** Oxidative stress in plants. *Curr. Op. Biotech.* 6: 153-158.
- Jiménez A, Creissen G, Kular B, Firmin J, Robinson S, Verhoeyen M, Mullineaux P. 2002.** Changes in oxidative processes and components of the antioxidant system during tomato fruit ripening. *Planta* 214: 751-718.
- Kar M, Mishra D. 1976.** Catalase, peroxidase and polifenoloxidase activities during rice leaf. *Plant Physiol*, 57: 315-319.
- Knoester M, Pieterse CM, Bol JF, Van Loon LC. 1999.** Systemic resistance in Arabidopsis induced by rhizobacteria requires ethylene-dependent signaling at the site of application. *Mol. Plant Microbe Interact.* 12: 720-727.
- Lafuente MT, Sala JM, Zacarias L (2004)** Active oxygen detoxifying enzymes and phenylalanine ammonia-lyase in the ethylene-induced chilling tolerance in citrus fruits. *J. Agric. Food Chem.* 52:3606-3611.
- Lee S, Choi H, Suh S, Doo IS, Oh KY, Choi EJ, Schroeder Taylor AT, Low PS, Lee Y. 1999.** Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing the evolution of reactive oxygen species from guard cells of tomato and commelina communis. *Plant Physiol.* 121(1): 147-152.
- Lopez-Delgado H, Dat J, Foyer C, Scott I (1998)** Induction of thermotolerance in potato microplants by acetylsalicylic acid and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *J. Exp. Bot.* 49: 713-720.



- Masia A (1998)** Superoxide dismutase and catalase activities in apple fruit during ripening and post-harvest and special reference to ethylene. *Physiol Plant.* 104: 668-672.
- Maksimov IV., Cherepanova EA, Khairullin RM (2003)** "Chitin-specific" peroxidases in plants. *Biochemistry* 68: 111-5 .
- Murphy M, Chivasa S, Singh DP, Carr JP (1999)** Salicylic acid-induced resistance to viruses and other pathogens: a parting of the ways? *Trends Plant Sci.* 4: 155-160.
- Noctor, G and Foyer, C. H. 1998.** Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49:249-279.
- Ortega-Ortíz H, Benavides-Mendoza A, Flores-Olivas A, Ledezma-Pérez A. 2003.** Use of the interpolyelectrolyte complexes of poly(acrylic acid)-chitosan as inductors of tolerance against pathogenic fungus in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. Var. Floradade). *Macromolecular Bioscience* 3: 566-570.
- Pastori GM, Foyer CH. 2002.** Common components, networks, and pathways of cross-tolerance to stress. The central role of "redox" and abscisic acid-mediated controls. *Plant Physiol.* 129:460-468.
- Raskin I. 1992.** Role of salicylic acid in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43: 439-463.
- Redinbaugh MG, Wadsworth GJ, Scandalios JG. 1988.** Characterization of catalase transcripts and their differential expressions in maize. *Biochem. Biophys. Acta.* 951: 104-116.
- Rivera, F. 2001.** Participación de enzimas antioxidantes en la tolerancia cruzada al estrés oxidativo de daño por frío en frutos de limón persa. Colegio de postgraduados. Tesis Maestría.
- Robinson DS.1991.** Peroxidases and Catalases in foods. Robinson, D. S., Eskin, M. N. (Eds). In: Oxidative enzymes in foods. Elsevier Science Publishers LTD. England. P.1-9.
- Rüffer, M, Steipe B, and Zank MH (1995)** Evidence against specific binding of salicylic acid to plant catalase. *FEBS Lett.* 377:175-180.
- Sala, J. M. 1998.** Involvement of oxidative stress in chilling injury in cold-stored mandarin fruits. *Postharv. Biol. Technol.* 13:255-261.

**Salvador, L., S.P. Miranda, N. Aragón y V. Lara. 1999.** Recubrimiento de quitosán en aguacate. *Rev. Soc. Quím. Méx.* 43:18-23.

**Shiratsu, K., H. Nakajima, V.K. Rajasekhar, R.A. Dixon, and C. Lamb. 1997.** Salicylic acid potentiates an agonist-dependent gain control that amplifies pathogen signals in the activation of defense mechanisms. *Plant Cell* 9:261-270.

**Simontacchi, M., Galatro, A., Puntarulo, S. 2000.** El estrés oxidativo en las plantas. *Ciencia hoy.* Vol. 10. No. 60.

**Srivastava, M.K. and U.N. Dwivedi. 2000.** Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. *Plant Sci.* 158:87-96.

**U. S. D. A. 2004).** U. S. Department of Agriculture. Economic Research Service. <http://www.ers.usda.gov>

**Willekens, H, Chamnongpol S, Davey M, Schraudner M, Langebartels C, Van Montagu M, Inzé D, Van Camp W (1997)** Catalase is a sink for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and is indispensable for stress defence in C3 plants. *EMBO J.* 16:4806-4816.

**Wilson, L. A., 1976.** Studies on the cuticle of tomato fruit. I. Fine structure of the cuticle. *Zpflanzen Physiol.* 77: 359-371.

**Wojtaszek, P. 1997.** Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection. *Biochem. J.* 322:681-692.