

SOLUBILIZACIÓN Y DESPOLIMERIZACIÓN DE PECTINAS DURANTE EL ABLANDAMIENTO DE FRUTOS DE PAPAYA

PECTIN SOLUBILIZATION AND DEPOLYMERIZATION DURING PAPAYA FRUIT SOFTENING

J. Adriana Sañudo Barajas¹, Jorge Siller Cepeda^{1*}, Tomás Osuna Enciso¹, Dolores Muy Rangel¹, Guadalupe López Álvarez², Juan Alberto Osuna Castro³, Carl Greve⁴ y John Labavitch⁴

¹ Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Culiacán. Apdo. postal 32-A. 80129, Culiacán, Sinaloa. México. ² Instituto Tecnológico de Culiacán. Sinaloa, México. ³ Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima. Tecomán, Colima, México. ⁴ Plant Reproductive Biology, University of California. Davis Ca, U.S.A.

*Autor para correspondencia (jsiller@ciad.edu.mx)

RESUMEN

En este estudio se determinaron los principales cambios en la composición de la pared celular y la degradación de pectinas solubles en agua relacionados con el ablandamiento postcosecha de frutos de papaya (*Carica papaya* L. cv. 'Maradol'). Se estudiaron frutos en estado de madurez 1/2 (50-75 % de coloración amarillo-naranja en la cáscara), los cuales se retrasaron en la maduración con 300 nL L⁻¹ de 1-metilciclopropeno (1-MCP) o se adelantaron con 2.5 g L⁻¹ de ácido 2-cloroethyl fosfónico (etefón). Posterior a los tratamientos, los frutos se almacenaron en condiciones de simulación de mercadeo (20 ± 2 °C y HR 85 %) durante 6 d. Se evaluaron los cambios en firmeza, composición de la pared celular y despolimerización de las pectinas solubles en agua. La aplicación de 1-MCP inhibió totalmente el ablandamiento de los frutos. Los frutos testigo perdieron 69 % de la firmeza a los 3 d de almacenamiento y los frutos con etefón perdieron 84 % en el mismo periodo. El ablandamiento en los frutos testigo y etefón se acompañó de la solubilización de ácidos urónicos y azúcares totales de las fracciones CDTA, Na₂CO₃, KOH 4% y KOH 24 %. La despolimerización extensiva de pectinas solubles en agua y la acumulación de oligómeros derivados de pectinas sólo fue detectada en los tratamientos testigo y etefón, lo que muestra una relación con el ablandamiento de los frutos y sugiere la posible acción de la poligalacturonasa.

Palabras clave: *Carica papaya*, 1-MCP, etileno, maduración, ablandamiento, pared celular.

SUMMARY

The main changes in cell wall composition as well as the degradation of water soluble pectins that correlate with postharvest softening of papaya fruit (*Carica papaya* L. cv. 'Maradol') were studied. Fruits in the maturity stage of 1/2 (50-75 % of yellow-orange peel color) were submitted to treatments for delaying or advancing ripening with 300 nL L⁻¹ of 1-methylcyclopropene (1-MCP) or 2.5 g L⁻¹ of 2-chloroethyl phosphonic acid (ethephon), respectively. Treated fruits were stored under simulated marketing conditions (20 ± 2 °C and 85 % RH) during 6 d. Firmness, changes in cell wall composition and solubility and depolymerization of water soluble pectins were monitored. Application of 1-MCP inhibited totally softening and maintained fruit firmness. After 3 d in storage, control fruits presented a loss of 69 % on firmness while ethephon-treated fruits had a loss of 84 % in firmness during the same period. Fruit softening of the con-

trol- and ethephon-treated fruits were accompanied of uronic acids and total sugars solubilization from the CDTA, Na₂CO₃, KOH 4% and KOH 24 % fractions. An extensive depolymerization in the water soluble pectins and an accumulation of pectin-derived oligomers were only detected in control and ethephon-treated fruits, which suggests a relationship with fruit softening and a possible link to polygalacturonase action.

Index words: *Carica papaya*, 1-MCP, ethylene, ripening, softening, cell wall.

INTRODUCCIÓN

El ablandamiento postcosecha en frutos de papaya (*Carica papaya* L.) es el evento de la maduración que más impacta la vida de anaquel de los frutos, debido a que reduce la aceptabilidad del consumidor, restringe el desplazamiento del producto y aumenta la susceptibilidad a enfermedades (Paull *et al.*, 1997; Manrique y Lajolo, 2004). El ablandamiento extensivo de papaya se relaciona con la degradación progresiva de polisacáridos de la pared celular, los cuales son solubilizados y despolimerizados por acción enzimática, como se ha mostrado en frutos de los cultivares 'Solo', 'Sunset' y 'Eksotika' (Lazan *et al.*, 1989; Ali *et al.*, 1998; Paull *et al.*, 1999; Manrique y Lajolo, 2004). Algunas enzimas relacionadas con la degradación de pectinas y hemicelulosas son: poligalacturonasa (PG), pectinmetilesterasa (PME), β-galactosidasa (β-Gal), xiloglucanasa y xilanasa (Paull y Chen, 1983; Thumdee *et al.*, 2007). Estas enzimas incrementan su actividad durante la maduración y se les considera responsables de la acumulación de pectinas solubles en agua y la disminución de pectinas unidas iónicamente y covalentemente a la fase fibrilar (Lazan *et al.*, 1995).

El etileno estimula la iniciación y progresión del ablandamiento de frutos (Hiwasa *et al.*, 2003). Algunos

procesos bioquímicos regulados por el etileno se identificaron con el uso del gas 1-MCP, el cual inhibe la unión de etileno a sus receptores específicos de membrana y evita así la percepción y transducción de señales que siguen al estímulo hormonal (Blankenship y Dole, 2003; Nishiyama *et al.*, 2007). En papaya ‘Sunset’ la aplicación de 100 nL L⁻¹ de 1-MCP redujo el ablandamiento de frutos y las actividades de β-Gal, PME y glucanasa; sin embargo, no se afectó la actividad de PG medida como la liberación de extremos reductores (Thumdee *et al.*, 2007). Estos resultados contrastan lo reportado por Devitt *et al.* (2006), quienes observaron que el etileno promovió la expresión de PG y β-Gal, entre otras hidrolasas de la pared celular.

En este estudio se aplicaron 1-MCP y etefón como inhibidor y promotor del ablandamiento de frutos de papaya ‘Maradol’, respectivamente, y se estudiaron los cambios en solubilización y despolimerización de pectinas, así como la presencia *in vivo* de oligogalacturónidos indicadores de la acción de PG.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aplicación de tratamientos

Se cosecharon frutos de papaya ‘Maradol’ con 50-75 % de desarrollo de color amarillo-naranja en la cáscara, definido como estado de madurez 1/2. Los frutos se obtuvieron en junio del 2006 de un huerto comercial de Tepic, Nayarit, México. Se seleccionaron frutos sanos y de tamaño uniforme, se desinfectaron por inmersión en una solución de Captán a 0.25 % y se dejaron secar a temperatura ambiente. Se dividieron en tres lotes de 30 frutos cada uno, a los que se aplicaron los tratamientos: 1) 300 nL L⁻¹ de 1-MCP; 2) 2.5 g L⁻¹ de etefón; y 3) testigo, frutos sin tratar.

La aplicación de 1-MCP se hizo en contenedores de acero inoxidable con sello hermético (0.238 m³) y periodo de exposición de 12 h a 20 °C. El etefón se aplicó por inmersión de los frutos durante 3 min a 20 °C. Los frutos testigo no recibieron tratamiento alguno. Después de tratados, los frutos se secaron a temperatura ambiente y se almacenaron durante 6 d en condiciones de simulación de mercadeo (20 ± 2 °C y HR 85 %).

Firmeza

La firmeza se determinó al inicio del estudio y a los 3 y 6 d de almacenamiento, en tres frutos por tratamiento. Se registró la fuerza de oposición a la punción en cuatro puntos de la zona ecuatorial de cada fruto. La firmeza se midió con un penetrómetro digital Chatillon DFGS-100 adaptado a una base automática TCD 200 y provisto con un

punzón de 8 mm, el cual se insertó a una velocidad de 5.3 mm s⁻¹ (Bourne, 1980). Los resultados se reportan en newtons.

Preparación de la fracción insoluble en alcohol (FIA)

De las mismas zonas en las que se registró la firmeza de tres frutos, se obtuvieron cortes longitudinales, se eliminó la piel, la pulpa se cortó en cubos de 2 mm³ y se mezcló en una sola muestra. Una porción representativa de 100 g se agregó a 250 mL de etanol y se calentó a ebullición durante 40 min para inactivar las hidrolasas de la pared celular (Rose *et al.*, 1998). La muestra se enfrió y se homogeneizó en un Ultra-Turrax (modelo T25) a 13 500 rpm; los sólidos se recuperaron por filtración en GF/A (fibra de vidrio Whatman); el residuo se lavó secuencialmente con 250 mL de etanol (80 %), 200 mL de metanol-cloroformo (1:1) y 200 mL de acetona, hasta obtener un polvo de color blanco. El residuo se secó a 30 °C y posteriormente se redujo el tamaño de partícula a malla 40 con un molino Thomas Scientific (modelo 3383-L10).

Composición de la fracción insoluble en alcohol (FIA)

Se determinó por triplicado el contenido de ácidos urónicos (AU) con el método simplificado de Ahmed y Labavitch (1977). Se hidrolizaron 2 mg de la fracción insoluble en alcohol (FIA) con 2 mL de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄) y se añadieron 8 mL de H₂O destilada. A 200 μL del hidrolizado se adicionaron 1.2 mL de borato de sodio (12.5 mM) en H₂SO₄ concentrado y la mezcla se mantuvo por 5 min en baño de agua a 100 °C. La coloración se produjo al añadir 20 μL de m-fenil fenol (0.15 %) en NaOH (0.5 %), y la absorbancia se registró a 520 nm con un espectrofotómetro Cary UV-Vis 1-E (Varian Inc). Se utilizó ácido galacturónico (Sigma®) como patrón de calibración. Los azúcares totales (AT) se determinaron por triplicado por el método de antrona (Yemm y Willis, 1954). Se hidrolizaron 3 mg de la FIA con 3 mL de H₂SO₄ (67 %), manteniendo la mezcla en agitación y baño de hielo durante 4 h. A 100 μL del hidrolizado se añadieron 400 μL de H₂O destilada y 1 mL de antrona (0.2 %) en H₂SO₄ concentrado; se calentó por 10 min en baño de agua a 100 °C y posterior a su enfriamiento se midió la absorbancia a 620 nm con un espectrofotómetro Cary UV-Vis 1-E (Varian Inc). La concentración se calculó a partir de una curva de calibración con glucosa.

La composición de azúcares neutros se determinó por el método de acetatos de alditol (Albersheim *et al.*, 1967; Blakeney *et al.*, 1983). Dos miligramos de la FIA se hidrolizaron con ácido trifluoroacético 2 N (1 h a 121 °C), se hizo una reducción con NaBH₄ a 2 % (1 h a 25 °C) y

posteriormente una acetilación con anhídrido acético en presencia de 1-metil imidazol (10 min a 25 °C). El producto derivatizado se injectó en un cromatógrafo de gases (Varian CP-3800) provisto con detector FID (250 °C), una columna capilar DB-23 de 30 m x 0.25 mm (210 °C) y helio a flujo constante (3 mL min⁻¹) como gas acarreador. Se usó mio-inositol como estándar interno y la concentración de azúcares neutros se calculó a partir de curvas de calibración de ramnosa, fucosa, arabinosa, xilosa, manosa, galactosa y glucosa (Sigma®). El residuo de la hidrólisis con ácido trifluoroacético se consideró como celulosa y se determinó en base glucosa por el método de Yemm y Willis (1954).

Solubilidad de la pared celular

Se extrajeron por duplicado las fracciones solubles en H₂O, CDTA, Na₂CO₃, KOH 4 % y KOH 24 %, según el método de Rose *et al.* (1998). A 200 mg de la FIA se agregaron 25 mL de H₂O destilada y la mezcla se agitó por 12 h; se separó la fracción acuosa por centrifugación 6 000 g. Se hizo una segunda extracción con 20 mL de H₂O, el sobrenadante se mezcló con el primero y se filtró con GF/A. Con el mismo procedimiento, el sedimento insoluble se extrajo secuencialmente con solución CDTA (50 mM) en acetato de sodio (50 mM, pH 6.5), Na₂CO₃ (50 mM) en NaBH₄ (20 mM), KOH (4 %) en NaBH₄ (0.1 %) y KOH (24 %) en NaBH₄ (0.1 %). Se cuantificó por triplicado el contenido de AU (Ahmed y Labavitch, 1977) y de AT (Yemm y Willis, 1954).

Despolimerización de las pectinas solubles en agua

Se determinó por cromatografía de exclusión molecular con la metodología de Rose *et al.* (1998) con algunas modificaciones. Se injectó 1 mL de la fracción acuosa en una columna Sepharose CL-6B (1.5 x 90 cm, Amersham-Biosciences), calibrada con dextrans de peso molecular conocido (2 000, 500, 150, 70 y 10 kDa). La muestra se eluyó con acetato de amonio (50 mM, pH 5.2), a flujo de 30 mL h⁻¹. Se obtuvieron fracciones de 1.4 mL con un colector Bio-Rad (modelo 2110), y a partir de los 38 mL (volumen muerto) y hasta los 110 mL (volumen total de elución) se cuantificaron los AU y se reportó la absorbancia a 520 nm medida con un espectrofotómetro Cary UV-Vis 1-E (Varian Inc.).

Extracción y análisis de oligómeros derivados de pectinas (ODPs)

A 80 mg de la FIA se agregaron 10 mL de H₂O destilada y se agitó durante 6 h, se filtró en GF/A y se hizo una segunda extracción con 5 mL de H₂O, de la que se obtuvo la fracción soluble en H₂O. Los oligómeros disueltos se

concentraron mediante liofilización y se resuspendieron en 2 mL del amortiguador de corrida. Se aplicó 1 mL a una columna Bio-Gel P-4 (1 x 20 cm, Bio-Rad), se eluyó con acetato de amonio (0.2 M, pH 5.2) a un flujo de 28 mL h⁻¹ y se obtuvieron fracciones de 1.1 mL. El volumen colectado de la fracción 20 a la 40 se mezcló, liofilizó y resuspendió en 500 μL de H₂O grado HPLC del cual 100 μL se injectaron en un HPLC (Dionex) provisto con una columna Carbopac PA-1 (4 x 250 mm, etilvinilbenceno/divinilbenceno y amina cuaternaria) y de un detector de pulso amperométrico. Se utilizó NaOH 100 mM y acetato de sodio (gradiente de 400 – 900 mM) como eluyente con un flujo de 0.8 mL min⁻¹ y tiempo de corrida de 45 min (Melotto *et al.*, 1994). Los picos se integraron con un integrador Chrom-Jet (Spectra Physics). Se utilizó pectina cítrica (Sigma®) parcialmente hidrolizada como referencia del grado de polimerización de los ODPs.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar con tres tratamientos (testigo, 1-MCP y etefón). El análisis de varianza se hizo con el paquete estadístico Minitab versión 13.1, y en caso de valores $P \leq 0.05$ se hizo comparación de medias por la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Firmeza y composición de la pared celular

Los frutos de los tratamientos testigo y etefón se ablandaron rápidamente en los primeros 3 d de almacenamiento (Figura 1). La firmeza inicial fue de 118 N y con la aplicación de 1-MCP se registró un efecto de endurecimiento a través del tiempo (140 y 150 N). Del día 0 al 3, los frutos tratados con etefón perdieron la firmeza a una velocidad de 30 N d⁻¹ contra 23 N d⁻¹ de los frutos testigo, comportamiento que coincidió con la reducción de azúcares totales (AT) y ácidos urónicos (AU) de la fracción insoluble en alcohol (FIA) (Cuadro 1). El contenido de AT en los frutos testigo y etefón a los 6 d de almacenamiento, fue significativamente menor con respecto al valor inicial, y en los frutos con 1-MCP no se redujo. La aplicación de etefón aumentó ($P \leq 0.05$) la pérdida de AU del día 0 al 6 (de 37.5 a 31.1 %) con respecto a los otros tratamientos; sin embargo, no se detectaron cambios significativos en el contenido de celulosa.

Los azúcares neutros de la FIA en los frutos testigo y etefón mostraron una reducción de galactosa y ramnosa, y en menor grado de arabinosa, xilosa y manosa; la reducción mayor fue de galactosa (de 3.37 a 2.03 %) y ramnosa (de 1.53 a 0.93 %) en los frutos tratados con etefón (Cuadro 2). En los frutos tratados con 1-MCP se observó un

ligero incremento en todos los azúcares neutros de la FIA, con la excepción de manosa.

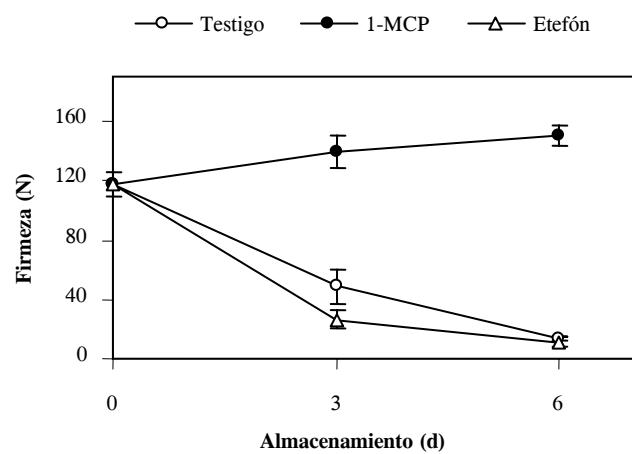


Figura 1. Cambios en la firmeza de frutos de papaya 'Maradol' durante el almacenamiento a 20 °C. Cada punto representa la media ± error estándar ($n=3$).

Cuadro 1. Cambios en el contenido de azúcares totales (AT), ácidos urónicos (AU) y celulosa de la fracción alcohol insoluble en frutos de papaya 'Maradol' almacenados a 20 °C. Los resultados se expresan en por ciento de peso seco.

Tratamiento	AT (%)	AU (%)	Celulosa (%)
Testigo	40.42 b	37.47 a	32.16 a
Testigo	35.47 c	34.89 b	32.07 a
1-MCP	43.87 a	36.56 ab	29.04 a
Etefón	35.04 c	31.05 c	29.61 a

Medias con letras diferentes en una columna muestran diferencia estadística (Tukey, 0.05).

Cambios en la solubilidad de la pared celular

La extracción y solubilización de AU fue más alta en la fracción acuosa (Figura 2A). Después de 6 d de almacenamiento, los niveles de AU solubles en H₂O incrementaron en todos los frutos desde 26.4 % al inicio hasta 29.9, 28.7 y 30.2 % en los frutos testigo y tratados con 1-MCP

y etefón, respectivamente. Esta fracción constituyó más de 35 % de la FIA, y los AU en esta fracción superaron por cinco veces a los AT (Figura 2B). El resto de las fracciones también redujeron significativamente su contenido de AU. La fracción CDTA en los frutos con etefón disminuyó en 50 % (de 4 a 2.1 %), mientras que en los frutos tratados con 1-MCP no hubo cambios (4.2 %). Las fracciones Na₂CO₃, KOH 4 % y KOH 24 % presentaron baja cantidad de AU y mostraron una reducción durante el almacenamiento. Los niveles de AT fueron bajos en todas las fracciones, pero más detectables en las fracciones H₂O y KOH 24 %, cuyas proporciones fueron 6.1-7.2 y 3-3.4 %, respectivamente. Los frutos testigo y etefón redujeron significativamente el contenido de AT en las fracciones CDTA y Na₂CO₃.

Despolimerización y oligómeros derivados de pectinas (ODPs)

El perfil cromatográfico de los poliurónidos extraídos en la fracción H₂O, se muestra en la Figura 3. Al día 0 la mayor proporción de poliurónidos eluyó de los 36 a los 70 mL (2000 a 500 kDa); sin embargo, con la maduración y ablandamiento de los frutos los tratamientos testigo y etefón tuvieron un cambio en masa molecular al día 6, indicado por la acumulación de AU en la región de 60 a 95 mL (500 a 7 kDa). Los frutos tratados con 1-MCP redujeron ligeramente al día seis los poliurónidos contenidos en el volumen de elución inicial; sin embargo, la despolimerización fue menos extensiva. La despolimerización de pectinas correlacionó con la presencia y acumulación de ODPs. Al día inicial sólo se observó la presencia de oligómeros acídicos en la región de bajo grado de polimerización y hacia el día seis los frutos testigo y etefón presentaron ODPs con grado de polimerización entre 3 y 7 (Figura 4). En los frutos con 1-MCP hubo baja presencia de oligómeros y picos de baja resolución que no fueron separados con el método empleado, lo que sugiere la presencia de fragmentos complejos que contienen azúcares neutros derivados del metabolismo parcial de pectinas.

Cuadro 2. Cambios en la composición de azúcares neutros de la fracción insoluble en alcohol en frutos de papaya 'Maradol' almacenados a 20 °C. Los resultados se expresan en por ciento de peso seco.

Media ± desviación estándar ($n = 2$).

Tratamiento	Ramnosa	Fucosa	Arabinosa	Xilosa	Manosa	Galactosa
Testigo, 0 d	1.53 ± 0.05	0.24 ± 0.01	0.81 ± 0.01	2.90 ± 0.03	0.85 ± 0.03	3.37 ± 0.04
Testigo, 6 d	1.29 ± 0.31	0.23 ± 0.05	0.72 ± 0.14	2.65 ± 0.54	0.76 ± 0.20	2.85 ± 0.83
1-MCP, 6 d	1.80 ± 0.09	0.25 ± 0.02	0.90 ± 0.05	3.24 ± 0.02	0.82 ± 0.01	3.72 ± 0.15
Etefón, 6 d	0.93 ± 0.31	0.21 ± 0.01	0.71 ± 0.05	2.34 ± 0.44	0.68 ± 0.02	2.03 ± 0.52

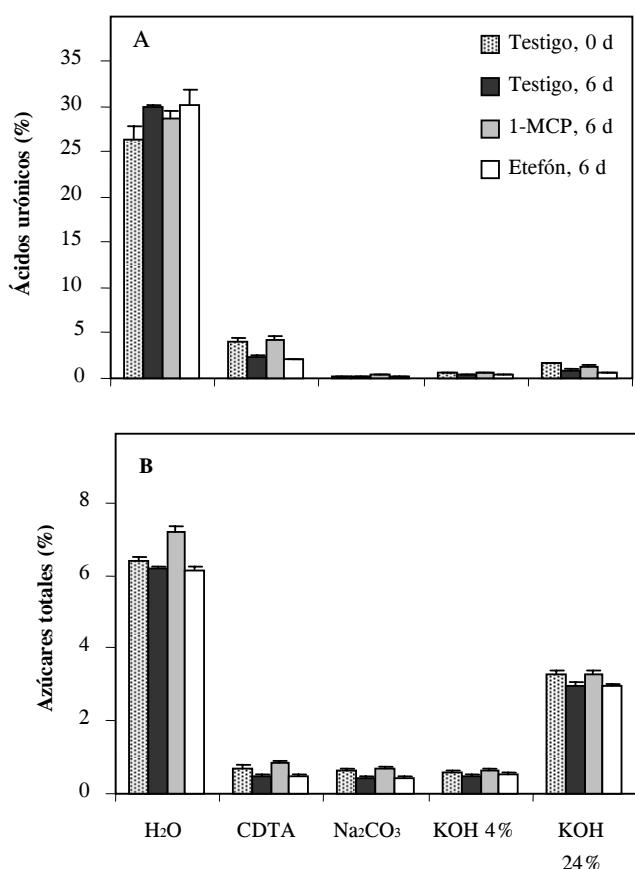


Figura 2. Cambios en solubilidad de las fracciones H₂O, CDTA, Na₂CO₃, KOH 4% y KOH 24% de frutos de papaya ‘Maradol’ almacenados a 20 °C. A) Ácidos urónicos. B) Azúcares totales. Los resultados se expresan como por ciento en peso de la fracción insoluble en alcohol. Las líneas verticales sobre las barras señalan la desviación estándar ($n = 2$).

El ablandamiento de frutos climatéricos involucra cambios en la estructura de la pared celular. Este proceso, al igual que otros cambios que ocurren en la maduración (color, sabor, olor), se ha definido como un evento regulado por etileno. En los últimos años se ha cuestionado si la regulación del etileno sobre las rutas metabólicas que conducen al ablandamiento de frutos, es total o parcial (Lelièvre, 1997; Nishiyama *et al.*, 2007). En este trabajo, la aplicación de 1-MCP en los frutos de papaya ‘Maradol’ inhibió totalmente el ablandamiento (Figura 1), diferente a lo reportado en las papayas ‘Gold’ y ‘Rainbow’, donde 100 nL L⁻¹ de 1-MCP causaron un retraso de apenas 30 % en el ablandamiento de frutos con estado de madurez mayor a 25 % (Manenoi *et al.*, 2007). Las diferencias pueden ser debidas a que ellos utilizaron variedades hawaianas con diferente metabolismo y una dosis de 1-MCP menor a la utilizada en el presente estudio. El tratamiento con etefón indujo un ablandamiento acelerado a los frutos al tercer día, mayor al comportamiento normal que presentaron los frutos testigo (Figura 1). También Fabi *et al.* (2007) reportaron que los frutos de papaya aceleran el ablandamiento con la aplicación de etileno exógeno.

Asociados con el ablandamiento de los frutos se observaron dos eventos predominantes: solubilización de la pared celular y despolimerización de la fracción péctica hidrosoluble (Figuras 2 y 3). El tratamiento con 1-MCP inhibió la solubilización y redujo la despolimerización de pectinas, procesos que fueron inducidos con la aplicación de etefón. La reducción de AU y AT en las fracciones CDTA y Na₂CO₃ de los frutos testigo y etefón, sugiere la posibilidad de que la despolimerización de pectinas también ocurre a este nivel, como ha sido reportado en las papayas ‘Sunset’ y ‘Eksotika’ (Paull *et al.*, 1999; Ali *et al.*, 1998).

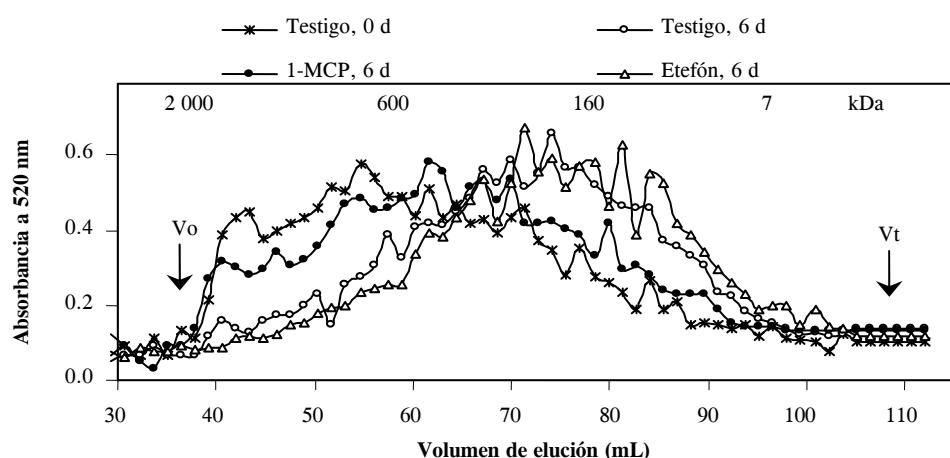


Figura 3. Cambios en la masa molecular de las pectinas solubles en agua de frutos de papaya ‘Maradol’ almacenados a 20 °C. Exclusión molecular en agarosa CL-6B, las fracciones se analizaron para contenido de ácidos urónicos y se reporta el valor de absorbancia a 520 nm. Vo = volumen muerto; Vt = volumen total.

La fracción CDTA está relacionada con la adhesión intercelular y se conforma por pectinas de la región homogalacturonana de la lámina media que se unen iónicamente con la pared celular primaria. La fracción Na₂CO₃ está compuesta por polisacáridos con mayor grado de ramificación que entrecruzan la lámina media y la fase microfibilar por medio de enlaces covalentes (Jarvis *et al.*, 2003). El ablandamiento de los frutos también se relacionó con la solubilización de AU y AT de las fracciones KOH 4% y 24%, lo que indica que ocurre solubilización de hemicelulosas y protopectinas. Este proceso también fue observado en frutos de papaya ‘Sunset’ y se ha atribuido a la acción de la enzima xilanasa (Paull *et al.*, 1999; Chen y Paull, 2003).

La disminución del tamaño molecular de las pectinas de la fracción acuosa de los frutos testigo y etefón (Figura 3) y la acumulación simultánea de ODPs con bajo grado de polimerización (Figura 4), indican la degradación extensiva de homogalacturonanos. El proceso de despolimerización coincidió con el periodo de mayor ablandamiento de los frutos de papaya, ya que la acumulación de ODPs fue detectada al tercer día de almacenamiento (datos no mostrados). La liberación de oligómeros acídicos puede ser catalizada por la enzima poligalacturonasa (PG), pero es necesario definir la estructura química de los ODPs para descartar la participación de la enzima pectato liasa (Campbell y Labavitch, 1991). Aunque la acción de PG no es un factor determinante en el ablandamiento de frutos como el tomate (*Lycopersicon esculentum* M.) (Sitrit y Bennett, 1998), contribuye de manera importante en la despolimerización de poliurónidos y en el ablandamiento de frutos de papaya (Paull y Chen, 1983; Paull *et al.*, 1999).

En frutos de melón (*Cucumis melo* L.), la aplicación de 1-MCP inhibió la producción de endo-PG y retrasó el ablandamiento de los frutos (Nishiyama *et al.*, 2007), tal como pudo ocurrir en el presente estudio. Sin embargo, en papaya ‘Sunset’ la actividad de PG no correlacionó con el ablandamiento de los frutos y la aplicación de 1-MCP no redujo la actividad de la enzima (Thumdee *et al.*, 2007). Esta variación en los resultados puede estar determinada por la diferencia entre variedades, además de que la actividad de PG fue reportada con base en la liberación de extremos reductores, la cual no discrimina entre actividad exo- y endo-, y es esta última la de mayor impacto en la despolimerización de pectinas.

La reducción de AT en todas las fracciones, que incluye la fracción H₂O, simultáneamente con la pérdida de residuos de azúcares neutros en la FIA, parece indicar que el ablandamiento de frutos de papaya también involucra la acción de enzimas con capacidad de metabolizar polímeros

que contienen rhamnosa, arabinosa, manosa y principalmente galactosa (Cuadro 2). La pérdida de galactosa ha sido propuesta como un factor de movilización de pectinas enlazadas con las pectinas solubles en agua durante la maduración de frutos (Ranwala *et al.*, 1992; Mwaniki *et al.*, 2005). Rose *et al.* (1998) reportaron que el contenido de galactosa en las fracciones de pectinas y hemicelulosas extraídas del fruto de melón, disminuyó durante la etapa tardía de la maduración.

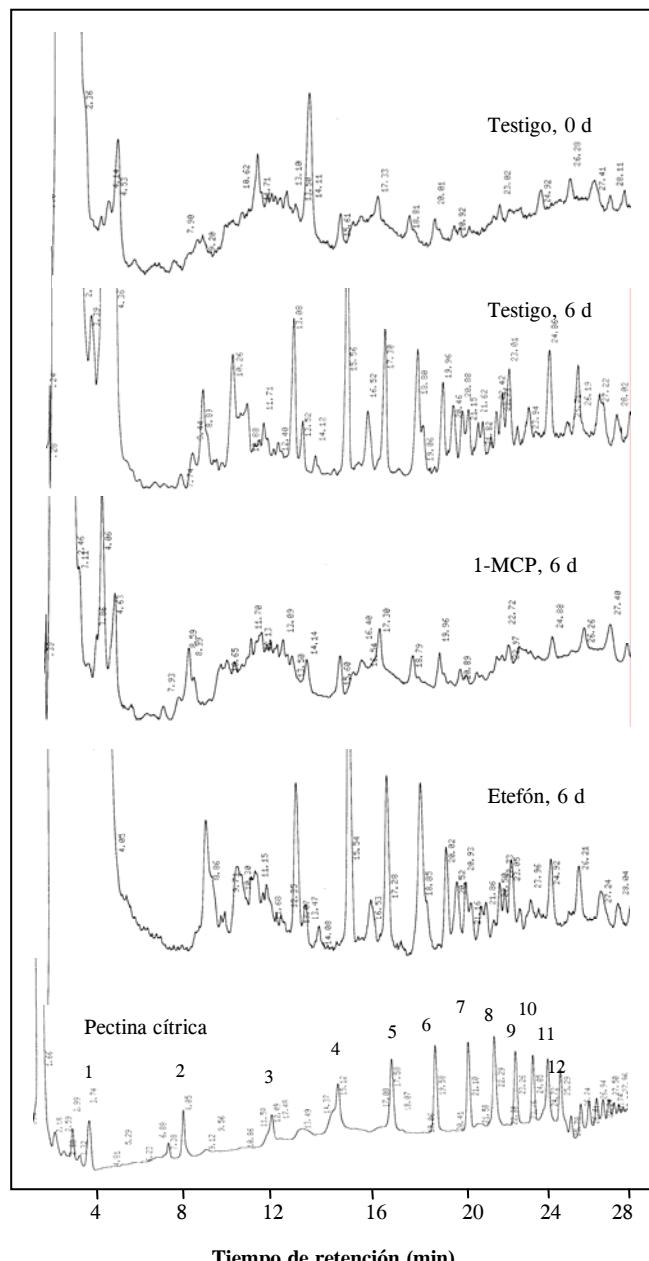


Figura 4. Presencia “*in vivo*” de oligómeros derivados de pectinas extraídos de frutos de papaya ‘Maradol’ almacenados a 20 °C. La pectina cítrica parcialmente hidrolizada se utilizó como indicador del grado de polimerización de los oligómeros.

En frutos de papaya 'Eksotika', Ali *et al.* (1998) reportaron la participación de α - y β -Gal durante la maduración e identificaron al menos tres isoformas de β -Gal con actividad galactanasa (β -Gal I, II y III). La actividad de β -Gal de papaya 'Sunset' se redujo con la aplicación de 1-MCP y se asoció con el retraso del ablandamiento (Thumdee *et al.*, 2007). En este estudio la reducción en los residuos de ramnosa y galactosa de la FIA, la pérdida de urónicos y AT de las diferentes fracciones de la pared celular, así como la despolimerización extensiva de poliurónidos solubles en agua a ODPs, sugieren que las enzimas PG y β -Gal, pueden ser en gran parte responsables de las modificaciones de la pared celular y del ablandamiento de los frutos de papaya 'Maradol'.

CONCLUSIONES

El ablandamiento postcosecha de frutos de papaya 'Maradol' se asocia con dos eventos predominantes: solubilización de la pared celular y despolimerización de la fracción pectica hidrosoluble. La presencia de oligómeros acídicos potencialmente derivados de la acción de la poligalacturonasa, sugiere su participación en el ablandamiento de los frutos.

AGRADECIMIENTOS

A UC Mexus-Conacyt por el financiamiento, y a la colaboración técnica de Rosabel Vélez de la Rocha, Laura Contreras Angulo, Rosalba Contreras Martínez y Manuel Báez Sañudo.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed A E R, J M Labavitch (1977)** A simplified method for accurate determination of cell wall uronide content. *J. Food Biochem.* 1:361-365.
- Albersheim P, D J Nevins, P D English, A Karr (1967)** A method for the analysis of sugars in plant cell-wall polysaccharides by gas-liquid chromatography. *Carbohydr. Res.* 5:340-345.
- Ali Z M, S Y Ng, R Othman, L Y Goh, H Lazan (1998)** Isolation, characterization and significance of papaya β -galactanases to cell wall modification and fruit softening during ripening. *Physiol. Plant.* 104:105-115.
- Blakeney A B, P J Harris, R J Henry, B A Stone (1983)** A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. *Carbohydrate Res.* 113:291-299.
- Blankenship S M, J M Dole (2003)** 1-Methylcyclopropene: a review. *Postharv. Biol. Technol.* 28:1-25.
- Bourne MC (1980)** Texture evaluation of horticultural crops. *HortScience* 51:51-56.
- Campbell A, J M Labavitch (1991)** Induction and regulation of ethylene biosynthesis and ripening by pectic oligomers in tomato pericarp discs. *Plant Physiol.* 97:706-713.
- Chen N J, R E Paull (2003)** Endoxylanase expressed during papaya fruit ripening: purification, cloning and characterization. *Funct. Plant Biol.* 30:433-441.
- Devitt L C, T Sawbridge, T A Holton, K Mitchelson, R G Dietzgen (2006)** Discovery of genes associated with fruit ripening in *Carica papaya* using expressed sequence tags. *Plant Sci.* 170:356-363.
- Fabi J P, B R Cordenunsi, G P de Mattos Barreto, A Z Mercadante, F M Lajolo, J R Oliveira de Nascimento (2007)** Papaya fruit ripening: Response to ethylene and 1-methylcyclopropene (1-MCP). *J. Agric. Food Chem.* 55:6118-6123.
- Hiwasa K, Y Kinugasa, S Amano, A Hashimoto, R Nakano, A Inaba Y Kubo (2003)** Ethylene is required for both the initiation and progression of softening in pear (*Pyrus communis* L.) fruit. *J. Exp. Bot.* 53:771-779.
- Jarvis M C, S P H Briggs, J P Knox (2003)** Intercellular adhesion and cell separation in plants. *Plant Cell Environ.* 26:977-989.
- Lazan H, M K Selamat, Z M Ali (1995)** β -Galactosidase, polygalacturonase and pectinesterase in differential softening and cell wall modification during papaya fruit ripening. *Physiol. Plant.* 95:106-112.
- Lazan H, Z M Ali, K S Liang, K L Yee (1989)** Polygalacturonase activity and variation in ripening of papaya fruit with tissue depth and heat treatment. *Physiol. Plant.* 77:93-98.
- Lelièvre J M, A Latché, B Jones, M Bouzayen, J Pech (1997)** Ethylene and fruit ripening. *Physiol. Plant.* 101:727-739.
- Manenoi A, E R Bayogan, S Thumdee, R E Paull (2007)** Utility of 1-methylcyclopropene as a papaya postharvest treatment. *Postharv. Biol. Technol.* 44:55-62.
- Manrique G D, F M Lajolo (2004)** Cell-wall polysaccharide modifications during postharvest ripening of papaya fruit (*Carica papaya*). *Postharv. Biol. Technol.* 33:11-26.
- Melotto E, L C Greve, J M Labavitch (1994)** Cell wall metabolism in ripening fruit. *Plant Physiol.* 106:575-581.
- Mwaniki M W, F M Mathooko, M Matsuzaki, K Hiwasa, A Tateishi, K Ushijima, R Nakano, A Inaba, Y Kubo (2005)** Expression characteristics of seven members of the β -galactosidase gene family in 'La France' pear (*Pyrus communis* L.) fruit during growth and their regulation by 1-methylcyclopropene during postharvest ripening. *Postharv. Biol. Technol.* 36:253-263.
- Nishiyama K, Guis M, J K C Rose, Y Kubo, K A Bennett, L Wang-jin, K Kato, K Ushijima, R Nakano, A Inaba, M Bouzayen, A Latché, J-C Pech, A B Bennett (2007)** Ethylene regulation of fruit softening and cell wall disassembly in charentais melon. *J. Exp. Bot.* 58:1281-1290.
- Paull R, N Chen (1983)** Postharvest variation in cell wall-degrading enzymes of papaya (*Carica papaya* L.) during fruit ripening. *Plant Physiol.* 72:382-385.
- Paull R E, K Gross, Y Quiu (1999)** Changes in papaya cell walls during fruit ripening. *Postharv. Biol. Technol.* 16:79-89.
- Paull R E, W Nishijima, M Reyes, C Cavaletto (1997)** Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L.). *Postharv. Biol. Technol.* 11:165-179.
- Ranwala A P, C Suematsu, H Masuda (1992)** The role of β -galactosidases in the modification of cell wall components during muskmelon fruit ripening. *Plant Physiol.* 100:1318-1325.
- Rose J K C, K A Hadfield, J M Labavitch, A B Bennett (1998)** Temporal sequence of cell wall disassembly in rapidly ripening melon fruit. *Plant Physiol.* 117:345-361.
- Sitrit Y, A B Bennett (1998)** Regulation of tomato fruit polygalacturonase mRNA accumulation by ethylene: a re-examination. *Plant Physiol.* 116:1145-1150.
- Thumdee S, A Manenoi, R E Paull (2007)** Activity of papaya fruit hydrolases during natural softening and modified softening. *Acta Hort.* 740:317-322.
- Yemm E W, A J Willis (1954)** The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochem. J.* 57:508-514.