

CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE VARIEDADES DOMESTICADAS DE CHAYOTE *Sechium edule* (Jacq.) Sw. COMPARADAS CON PARIENTES SILVESTRES

Jorge Cadena Iñiguez¹; Marco Soto Hernández¹; Ma. de Lourdes Arévalo Galarza¹; Carlos Hugo Avendaño Arrazate^{2*}; Juan Francisco Aguirre Medina²; Lucero del Mar Ruiz Posadas¹.

¹Colegio de Postgraduados, km 36.5 carretera México-Texcoco, Montecillo Estado de México. C. P. 56230. MÉXICO.

²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Rosario Izapa, km 18 carretera Tapachula a Cacaohatan, Tuxtla Chico, Chiapas. C.P. 30870, MÉXICO.

Correo-e: fitogeneticarlos@hotmail.com (*Autor para correspondencia)

RESUMEN

Dada la amplia variación biológica del complejo infraespecífico de *Sechium edule*, se realizó una caracterización bioquímica de frutos de siete variedades domesticadas y un pariente silvestre; la muestra fue tomada del Banco Nacional de Germoplasma en Huatusco, Veracruz, México, por un periodo de tres años. Las variables evaluadas fueron: contenido de pigmentos (clorofila y carotenoides), compuestos terpénicos, ácido ascórbico, sólidos solubles totales y acidez titulable, así como color de la epidermis; se realizó un análisis por componentes principales y jerárquicos. Dentro de las variedades domesticadas, existen cuatro niveles de variación que permitieron agruparlas por su similitud bioquímica.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: Pigmentos, clorofila, sólidos solubles totales.

BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF DOMESTICATED VARIETIES OF CHAYOTE

Sechium edule (Jacq.) Sw. FRUITS COMPARED TO WILD RELATIVES

ABSTRACT

Given the great biological variation in the infraspecific complex of *Sechium edule*, biochemical characterization of the fruit is needed; therefore, the objective of this study was characterizing one wild and seven domesticated varieties of *S. edule* fruits. The samples were taken from the Banco Nacional de Germoplasma in Huatusco, Veracruz, Mexico, during a period of three years. The assessed variables were: pigment content (chlorophyll and carotenoids), terpenic compounds, ascorbic acid, total soluble solids, titratable acidity, and epidermis color; principal components and hierarchical analysis was conducted for their evaluation. The results showed that there is biochemical variation among varieties having a common ancestor in wild relative chayote. Among the cultivated varieties there are four levels of variation that allow for grouping by higher biochemical similarity.

ADDITIONAL KEY WORDS: Pigments, chlorophyll, total soluble solids.

INTRODUCCIÓN

Sechium edule(Jacq.) Sw. (chayote) es una especie domesticada por las culturas precolombinas de América central, e introducida a diferentes países por los Españoles debido a su adaptatividad (Reinecke, 1898). Cook (1901) reconoció dos variedades de chayote de acuerdo al color del epicarpio: verde y blanco; creciendo en áreas frías y heladas de las islas del Caribe; se ha encontrado que nombró cinco “variedades”, que fueron descritas por sus variaciones morfológicas como Redondo Blanco, Largo Blanco, Puntigudo Verde, Ancho Verde y Verde Ovalado, en México la gente clasifica al chayote por color (negro: verde oscuro, verde: verde brillante, y blanco: amarillo crema), apariencia (liso o espinoso), y sabor (simple, dulce, y amargo) (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2007). Es ampliamente utilizado debido a su valor nutricional, los frutos inmaduros pueden ser consumidos en ensaladas y son una buena fuente de vitamina C. Pueden ser también hervidos, fritos, cocinados al vapor, o rellenos y horneados. Las hojas jóvenes y zarcillos son también consumidos, y las semillas pueden ser salteadas en mantequilla y servidas como aperitivos (Lira-Saade, 1996; Aung and USDA-ARS, 1998). Sin embargo, la caracterización bioquímica del chayote ha sido hecha a partir de un solo tipo, por tanto es importante definir la composición química de variedades menos conocidas y promover su uso alimenticio. Dentro de la variación de *S. edule* están: color, apariencia y sabor del fruto, que han sido atribuidas al proceso de domesticación (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2008). En el presente estudio se evaluó una muestra etnográfica de siete variedades domesticadas y una silvestre de *S. edule*, con el objetivo de caracterizarlas con base en siete parámetros bioquímicos en sus frutos.

MATERIALES y MÉTODOS

Material vegetal

Frutos de siete variedades domesticadas y una silvestre de *S. edule*, fueron utilizadas y nombradas de acuerdo con la clasificación aplicadas por el Banco Nacional de Germoplasma de *Sechium edule* (BANGESE-México). El BANGESE se localiza en el Centro Regional Universitario Oriente (CRUO) de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) en Huatusco, Veracruz, México (19°08'48" N y 97°57'00" E). La vegetación de bosque Mesófilo de Montaña (bosque nubloso) (a 1,340 m de altitud) y temperatura media anual de 19 °C y 85 % de humedad relativa, con 2,250 mm de precipitación anual. Los suelos son luvisoles vítricos, ricos en nutrientes, de fertilidad moderada, textura gruesa y fragmentos de vidrio volcánico, y pH de ligeramente ácidos a ácidos (4.3-6.5), ricos en materia orgánica, bajos en calcio y altos en hierro, manganeso y zinc (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2006). Las principales características de los frutos de chayote fueron sabor, color, espinas y tamaño. Cuatro variedades tuvieron sabor simple, tres de las cuales fueron verde oscuro

INTRODUCTION

Sechium edule(Jacq.) Sw. (chayote) is a species domesticated by pre-Colombian cultures of Middle America, and introduced to different countries by the Spaniards because of its adaptability (Reinecke, 1898). Cook (1901) recognized two varieties of chayote according to epicarp color: green and white; growing in the high and cold cool parts of the Caribbean Islands; it was found what he called five “varieties”, which were described by their morphological variation as Round white, Long white, Pointed green, Broad green, and Oval Green. In Mexico, people classify chayote by color (black: dark green, green: light green, and white: cream yellow), appearance (smooth or prickly), and flavor (simple, sweet, and bitter) (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2007). It is widely used due its nutritional value, the immature fruits can be eaten in salads and provide a good source of vitamin C. They can also be boiled, fried, steamed, or stuffed and baked. Young leaves and tendrils are also eaten, and seeds can be sauteed in butter as a delicacy (Lira-Saade, 1996; Aung and USDA-ARS, 1998). However, the biochemical characterization of chayote has been done for a single type, then it is important to define its chemical composition of less known varieties and promote its use as food. Within morphological variation of *S. edule* are color, appearance, and flavor of the fruit that have been attributed to domestication (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2008). The present study, an ethnographic sample of seven domesticated and one wild *S. edule* varieties were evaluated, with the objective of characterizing them based on several biochemical traits in their fruits.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

Fruits of seven domesticated and one wild *S. edule* varieties were used and named according to the classification applied by the Banco Nacional de Germoplasma de *Sechium edule* (BANGESE-Mexico). El BANGESE is located in the Centro Regional Universitario Oriente (CRUO) of Universidad Autónoma Chapingo (UACH) in Huatusco, Veracruz, Mexico (19°08'48" NL and 97°57'00" WL). The vegetation is of cloud forest mountain (1,340 m of altitude) and annual average temperature of 19 °C and 85 % of relative humidity, with 2,250 mm of annual average precipitation. The soils are vitric luvisol, rich in nutrients, moderate fertility, thick texture and fragments of volcanic glass, with acid to lightly acid pH (4.3-6.5), rich in organic matter, low in calcium and high in iron, manganese and zinc (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2006). The chayote fruits main characteristics were flavor, color, thorns and size. Four varieties had simple flavor, three of which were dark green (*nigrum spinosum*, *nigrum xalapensis*, *nigrum levis*), and one was light green (*virens levis*); three were yellow, considered slightly sweet (*albus minor*, *albus dulcis*, *albus levis*), and one of dark green color was bitter (wild type) (Table 1). Only *N. spinosum* and wild relative

TABLE 1. Main distinctive characteristics in fruits of chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) varieties, collected in the central region of the State of Veracruz, Mexico.

CUADRO 1. Principales características distintivas en los frutos de las variedades del chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.), recolectadas en la región central del Estado de Veracruz, México.

Variety	Characteristics of the fruits					
	Status	Color	Shape	Size*	Prickly	Flavor
<i>virens levis</i>	Domesticated	Light green	Piriform	Big	-	Simple
<i>nigrum xalapensis</i>	Domesticated	Dark green	Long	Big	-	Simple
<i>nigrum spinosum</i>	Domesticated	Dark green	Piriform	Big	+	Simple
<i>nigrum levis</i>	Domesticated	Dark green	Round	Medium	-	Simple
<i>wild relative</i>	Wild	Dark green	Oval	Medium	+	Bitter
<i>albus minor</i>	Domesticated	Yellow	Round	Small	-	Sweet
<i>albus dulcis</i>	Domesticated	Yellow	Round	Medium	-	Sweet
<i>albus levis</i>	Domesticated	Yellow	Round	Medium	-	Sweet

* According with Cadena-Iñiguez *et al.* (2007): big (10.5-15 cm), medium (5.7-8.2 cm), small (> 3 cm).

* De acuerdo con Cadena- Iñiguez *et al.* (2007): grande (10.5-15 cm), mediano (5.7-8.2 cm), pequeño (> 3 cm).

(*Nigrum spinosum*, *Nigrum xalapensis*, *Nigrum levis*), y uno fue verde claro (*Virens levis*); tres fueron amarillos, considerados ligeramente dulces (*Albus minor*, *Albus dulcis*, *Albus levis*), y un verde oscuro que fue amargo (tipo silvestre) (Cuadro 1). Únicamente *N. spinosum* y su pariente silvestre tuvieron espinas (Figura 1). Frutos de todas la variedades fueron cosechados hasta su madurez fisiológica (18 ± 2 d posterior a la Antesis) (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2007), pero el silvestre llegó a al madurez fisiológica, cuando los frutos (aún en la planta) dejaron de crecer, lo que ocurrió 28 ± 4 d después de la antesis. Las características evaluadas fueron: contenido relativo de

had thorns (Figure 1). Fruits of all varieties were harvested at horticultural maturity (18 ± 2 d after anthesis) (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2007), but wild relative arrived at horticultural maturity, when fruits (still adhered to the plant) ceased growing, which occurred at 28 ± 4 d after anthesis. The evaluated traits were: relative pigment content, terpenic compounds, ascorbic acid, total soluble solids, titratable acidity, and epidermis color.

Pigment quantification

The fruits (176 fruits, 22 per each variety) were perforated with a conical pointer of 13 mm diameter, at four equidistant points (subsamples), two in the equatorial region and two in the dorsal area. Thickness of each subsample was standardized to 25 mm with a vernier, and immediately weighed. Chlorophyll a, b, and total carotenoids were determined according to Lichtenthaler and Wellburn, (1983). The subsamples of each fruit were macerated with 6 mL of acetone at 80 % (v/v) and placed in individual vials with screw caps, completely darkened by wrapping them with aluminum foil. The samples were centrifuged at $500 \times g$ (-4°C) during 5 min (Beckman GS-15 R). The absorbance of 2.5 mL of supernatant was measured in a spectrophotometer (PYE, UNICAM SP8-100), at 663, 646, and 470 nm for chlorophyll a, b, and total carotenoids, respectively.

Terpenic extract

Fruits were collected *in situ* during spring-summer cycle from 2002 to 2005. The extraction was made adapting the method proposed by Afifi *et al.* (1999). Sample size was: 992 g for Wild relative, 1,077 g for *V. levis*, 1,512 g for *N. xalapensis*, 1,913 g for *N. spinosum*, 1,878 g for *N. levis*, 1,956 g for *A. dulcis*, 1,804 g for *A. minor*, and 1,984 g for *A. levis*. The processed sample

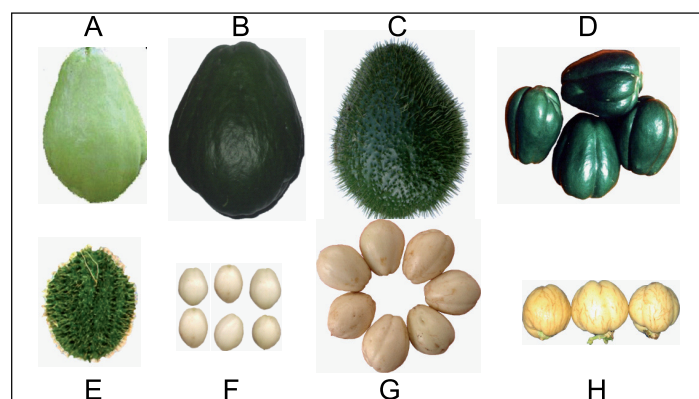


FIGURE 1. Fruits of seven varieties and wild relative of *Sechium edule* (Jacq.) Sw.: A) *Virens levis*; B) *Nigrum xalapensis*; C) *Nigrum spinosum*; D) *Nigrum levis*; E) Wild relative; F) *Albus minor*; G) *Albus dulcis*; H) *Albus levis*.

FIGURA 1. Frutos de siete variedades y un pariente silvestre de *Sechium edule* (Jacq.) Sw.: A) *Virens levis*; B) *Vigrum xalapensis*; C) *Vigrum spinosum*; D) *Vigrum levis*; E) Wild relative; F) *Albus minor*; G) *Albus dulcis*; H) *Albus levis*.

pigmentos, cucurbitacinas totales, ácido ascórbico, sólidos solubles totales, acidez titulable y color de la epidermis.

Cuantificación de pigmentos

Los frutos (176 frutos, 22 por variedad) fueron perforados con un puntal cónico de 13 mm de diámetro, en cuatro puntos equidistantes (submuestras), dos en la región ecuatorial y dos en el área dorsal. El grosor de cada submuestra fue estandarizado a 25 mm con un vernier y pesados inmediatamente. Se determinaron clorofila a, b, y carotenoides totales de acuerdo con Lichtenthaler y Wellburn (1983). Las submuestras de cada fruto fueron maceradas con 6 mL de acetona al 80 % (v/v) y depositados en frascos con tapa de rosca, en obscuridad total envolviéndolos con papel aluminio. Las muestras fueron centrifugadas a 500 x g (- 4 °C) durante 5 min (Beckman GS-15 R). La absorbancia de 2.5 mL del sobrenadante fue evaluada en un espectrofotómetro (PYE, UNICAM SP8-100), a 663, 646 y 470 nm para determinar clorofila a, b y carotenoides totales, respectivamente.

Extracción de terpenos

Se recolectaron frutos *in situ* durante el ciclo primavera-verano de 2002 a 2005. La extracción fue realizada adaptando el método propuesto por Afifi *et al.* (1999). El tamaño de muestra fue: 992 g del pariente silvestre, 1,077 g de *V. levis*, 1,512 g de *N. xalapensis*, 1,913 g de *N. spinosum*, 1,878 g de *N. levis*, 1,956 g de *A. dulcis*, 1,804 g de *A. minor* y 1,984 g de *A. levis*. Las muestras procesadas siempre incluyeron epidermis, espinas y semillas. El tejido segmentado fue homogeneizado con etanol al 96 % y mantenido a temperatura ambiente (22 °C ± 1) durante 72 h; los residuos del tejido fueron decantados y el disolvente eliminado con vacío. El residuo líquido fue particionado con 4 x 250 mL de éter etílico y el extracto analizado mediante cromatografía en capa fina con tolueno-acetato de etilo 3:1 como fase móvil. La placa fue visualizada con una lámpara UV/ VIS y ácido vainillín-fosfórico para desarrollar el color, sugerido por Wagner y Bladt (1996), los colores detectados fueron: rojo, rosa, violeta, café y verde oscuro. Las manchas fueron detectadas por comparación de los valores de retención (rf) en la placa de acuerdo con Dinan *et al.* (1997) y Afifi *et al.* (1999). Los compuestos terpénicos fueron cuantificados con base en la diferencia del peso final del extracto etéreo y el de la muestra original, se obtuvieron dos repeticiones por variedad. Se utilizaron cucurbitacinas B y P (terpenos) como un extracto de referencia previamente obtenido de los frutos de chayote silvestre (*Sechium compositum*).

Color

El color fue determinado con un colorímetro Hunter-Lab/D25-PC2, calibrado con un plato blanco. Las mediciones fueron reportadas en el sistema CIE *L*a*b. Para estos valores se calculó el matiz y ángulo cromático (McGuire, 1992). cada fruto fue medido en ambos lados de su región ecuatorial, en 475, 505, 232, 232, 688,

always included epidermis, thorns, and seed. The chopped tissue was homogenized with 96 % ethanol and left at room temperature (22 °C ± 1) for 72 h; the tissue residue was decanted and the solvent was eliminated *in vacuo*. The aqueous residue was partitioned with 4 x 250 mL ethyl ether and the extract was analyzed by thin layer chromatography with toluene-ethyl acetate 3:1 as mobile phase. The plaque was visualized with UV/VIS lamp and vanillin-phosphoric acid as color developer, suggested by Wagner and Bladt (1996), the detected colors were: red, pink, violet, brown and dark-green. Spots were identified comparing the retention value (rf) in the plate according to Dinan *et al.* (1997) and Afifi *et al.* (1999). Terpenic compounds were quantified based on the difference between the final weight of the ethereal extract and the original sample weight, two replicates per variety being obtained. Cucurbitacins B and P (terpenic) were utilized, as a reference extract obtained previously from the fruit of wild chayote (*Sechium compositum*).

Color

Color was determined with a Hunter-Lab/D25-PC2 colorimeter, calibrated with a white plate. The measures were reported using the CIE *L*a*b system. For these values the hue and chroma angle (McGuire, 1992) was calculated. Each fruit was measured on both sides of the equatorial region, in 475, 505, 232, 232, 688, 976, 548, and 78 fruits of *A. minor*, *A. levis*, *A. dulcis*, *N. spinosum*, *N. xalapensis*, *V. levis*, *N. levis*, and wild relative, respectively.

Ascorbic acid

The determination method of 2,6 indophenol dichlorophenol (AOAC, 1980), was used. Five grams of pulp (epicarp and mesocarp) were examined in 50 fruits for *A. minor*, *A. levis*, *A. dulcis*, *V. spinosum*, *N. xalapensis*, *V. levis*, *N. levis*, and 30 for wild relative. Each fruit was homogenized with 50 mL of oxalic acid (5 g·L⁻¹). Five milliliters of filtered homogenate were stirred and titrated with a solution of 2, 6 indophenol dichlorophenol (20 mg·L⁻¹), until the pink color remained stable for 1 min. The amount of ascorbic acid was calculated by reference standard curve of ascorbic acid.

Soluble solids content

Soluble solids content (SSC) was measured with a digital refractometer (Atago-100, Japan) in 25 fruits per variety. Cuts were made at two parts of the equatorial region to a depth of ± 2.5 cm (epicarp and mesocarp) in each fruit, subsequently squeezed with a cloth.

Titrateable acidity

One hundred milliliters of distilled water were added to 10 g of fruit pulp and blended. Fifty fruits per variety: *A. minor*, *A. levis*, *A. dulcis*, *N. spinosum*, *N. xalapensis*, *V. levis*, *N. levis*, and 30 fruits for wild relative were taken conside-

976, 548, y 78 frutos de *A. minor*, *A. levis*, *A. dulcis*, *N. spinosum*, *N. xalapensis*, *V. levis*, *N. levis*, y el pariente silvestre, respectivamente.

Ácido Ascórbico

Se utilizó el método de determinación mediante 2,6 indofenol diclorofenol. (AOAC, 1980). Se examinaron cinco gramos de pulpa (Epicarpo y Mesocarpo) de 50 frutos de *A. minor*, *A. levis*, *A. dulcis*, *V. spinosum*, *N. xalapensis*, *V. levis*, *N. levis* y 30 de su pariente silvestre. Cada fruto fue homogeneizado con 50 mL de ácido oxálico ($5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$). Cinco mililitros del homogeneizado filtrado fueron removidos y titulados con una solución de 2, 6 diclorofenol indofenol ($20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), hasta que el color rosa se mantuvo estable durante 1 min. La cantidad de ácido ascórbico mediante la curva de referencia de ácido ascórbico.

Contenido de sólidos solubles

El contenido de sólidos solubles (CSS) fue determinado con un refractómetro digital (Atago-100, Japón) en 25 frutos por variedad. Se hicieron cortes en dos áreas de la región ecuatorial de cada fruto a una profundidad de $\pm 2.5 \text{ cm}$ (epicarpo y mesocarpo), y subsecuentemente exprimidos con una tela.

Acidez titulable

Se añadieron 100 mL de agua destilada a 10 g de fruta y fueron licuados. Cincuenta frutos por variedad: *A. minor*, *A. levis*, *A. dulcis*, *N. spinosum*, *N. xalapensis*, *V. levis*, *N. levis* y 30 frutos del pariente silvestre fueron evaluados tomando cada fruto como una repetición. Posteriormente, la mezcla fue teñida y 10 mL de la solución fueron titulados con una solución de hidróxido de sodio 0.01 N, se utilizaron dos gotas de fenoftaleína en una solución en alcohol al 1% como indicador.

Análisis estadístico y tamaño de muestra

El muestreo se realizó por 3 años (2002 – 2005), empleando el método sugerido por Sukhatme (1970), con un intervalo de confianza de 95 %. Para el análisis de las características bioquímicas, se utilizó el análisis de componentes principales (ACP) junto con el procedimiento PRINCOMP del sistema SAS V8 (SAS, 1988). El análisis de conglomerado jerárquico fue generado con el método de ligamiento promedio (UPGMA por sus siglas en inglés) para obtener un dendrograma (Rohlf, 1993). El análisis de varianza se basó en los datos de cada variedad de clorofila, compuestos terpénicos, sólidos solubles y ácido ascórbico; las medias de cada variable fueron comparadas mediante el análisis de Tukey ($P < 0.05$) con el sistema SAS V8 (SAS, 1988).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición de la epidermis de los frutos amarillos contiene pigmentos como clorofila a (Chl_a), b (Chl_b), y

ring each fruit as one replicate. Afterwards, the mixture was strained and 10 mL of the solution were graded with 0.01 N sodium hydroxide, utilizing two drops of phenolphthalein in alcohol solution at 1 % as indicator.

Statistical analysis and sample size

Sampling was conducted for a period of 3 years (2002-2005), employing the method suggested by Sukhatme (1970), with a confidence level of 95 %. For analysis of biochemical characteristics, principal component analysis (PCA) was used with the PRINCOMP procedure of SAS System V8 (SAS, 1988). The conglomerate hierarchical group analysis was done through linkage average method (UPGMA) to obtain a dendrogram (Rohlf, 1993). Analysis of variance was based on the data of each variety in the variables of chlorophyll, carotenoids, terpenic compounds, soluble solids and ascorbic acid; the means of each variable were compared by Tukey test ($P < 0.05$) with SAS System V8 (SAS, 1988).

TABLE 2. Content of chlorophyll a, b, and total carotenoids in fruits of seven varieties and wild relative of *Sechium edule* (Jacq.) Sw.

CUADRO 2. Contenido de clorofila a, b, y carotenoides totales en frutos de siete variedades domesticadas y un pariente silvestre de *Sechium edule* (Jacq.) Sw.

Variety	Fruit color	Chlorophyll a ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	Chlorophyll b ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	Carotenoids ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
<i>virens levis</i>	Light green	0.060 c*	0.0712 c	Nd ²
<i>nigrum xalapensis</i>	Dark green	0.119 b	0.1231 b	Nd
<i>nigrum spinosum</i>	Dark green	0.084 bc	0.0922 bc	Nd
<i>nigrum levis</i>	Dark green	0.198 b	0.0846 bc	Nd
<i>wild relative</i>	Dark green	0.223 a	0.2458 a	Nd
<i>albus minor</i>	Yellow	0.0175 d	0.0035 d	0.0108 a
<i>albus dulcis</i>	Yellow	0.0023 d	0.0042 d	0.0056 b
<i>albus levis</i>	Yellow	0.0036 d	0.0054 d	0.0042 b

* Means with different letter in a column are statistically different ($P \leq 0.05$). (n=22 fruit per variety).
²Nd= Not detected.

*Medias con diferentes letras en una columna son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$). (n=22 fruto por variedad)

²Nd= No detectado.

RESULTS AND DISCUSSION

The composition of yellow fruit epidermis varieties contains pigments like chlorophyll a (Chl_a), b (Chl_b), and total carotenoids (Ct), whereas in varieties with green fruits only Chl_a and Chl_b were detected (Table 2).

The Chl_a and Chl_b concentration in wild relative fruit

carotenoides totales (Ct), mientras que en variedades con frutos verdes únicamente se detectaron Chl_a y Chl_b (Cuadro 2). La concentración de Chl_a y Chl_b en el pariente silvestre fue mayor comparado con las variedades domesticadas. El fruto de las variedades amarillas *A. minor*, *A. levis* y *A. dulcis* tuvieron hasta 100 veces menos contenido respecto al pariente silvestre, y diez veces menos, comparados con las variedades domesticadas de fruto verde; excepto por *N. levis*, todas las variedades mostraron menores concentraciones de Chl_a que de Chl_b (Cuadro 2). Sin embargo, en el presente estudio los diferentes Ct están involucrados en la fotoprotección, dado que la capacidad de disipar el exceso de energía luminosa está correlacionada con la concentración de carotenos y xantofilas en tejidos fotosintéticos (Murchie *et al.*, 1999). Lo anterior puede estar relacionado con el hecho de que la epidermis de frutos de *S. edule* tienen estomas además de pigmentos (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2006), que podrían contribuir a la obtención de CO_2 necesario para su crecimiento mediante el intercambio gaseoso, y fotosíntesis; por tanto, similar a cualquier otro presente en tejido fotosintético, mecanismos de fotoprotección presentes en la epidermis de los frutos (Blanke y Lovat, 1993).

La concentración de clorofila registrada en las variedades domesticadas de frutos verdes mostró que existe variación de acuerdo con la epidermis del fruto. Por ejemplo, *A. levis*, *N. xalapensis*, *N. spinosum* y *V. levis* presentaron 0.2826, 0.2421, 0.1762, y 0.1312 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente.

La variación de color empezando por el pariente silvestre al fruto verde oscuro, a los frutos verde claro como *V. levis*, posiblemente con transición al color amarillo. El color expresado como °Hue fue 222.9 para *N. xalapensis*, 201.1 para *N. spinosum*, 198.4 para el pariente silvestre, 167.2 para *N. levis*, y 126.5 para *V. levis*. El fruto amarillo fue de 68.3 ° de matiz para *A. minor*, 67.3 para *A. dulcis*, y 60.8 para *A. levis*. Los valores >160 fueron equivalentes a verde oscuro y verde muy oscuro, el intervalo entre 120 y 130 corresponden a verde claro, donde los valores ≤ 90 corresponden a amarillo y crema.

La presencia de espinas en la epidermis de los frutos fue registrada únicamente en *N. spinosum* y el pariente silvestre. La variación del color del fruto es atribuido a cambios en el contenido y tipo de pigmentos como clorofila y xantofilas (Hendry, 1993), mientras que la presencia de espinas puede ser atribuible a menor concentración de ácido giberélico (AG). De acuerdo con Cadena-Iñiguez *et al.* (2008), la aplicación de GA_3 (31 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) después de la antesis para analizar los frutos de *V. levis* promueve el desarrollo de espinas, similar a las observadas en *N. spinosum* y el pariente silvestre; una vez que el AG_3 deja de ser aplicado, la ocurrencia de espinas desapareció, esto sugiere algún tipo de ajuste en la ruta metabólica de la síntesis de AG_3 , en la ruta de metabolismo secundario.

El sabor del fruto es uno de los valores etnobotánicos

was higher compared to the domesticated varieties. The fruit of yellow varieties *A. minor*, *A. levis*, and *A. dulcis* had the lowest value, recording up to 100 times less content with respect to wild relative, and 10 times less, compared to the domesticated varieties of green fruit; except for *N. levis*, all varieties showed lower Chl_a than Chl_b concentration (Table 2). Although in the present study, the different Ct are involved in photoprotection, since the capacity of dissipating the excess of luminous energy is correlated with carotene and xanthophyll concentration in photosynthetic tissue (Murchie *et al.*, 1999). The aforesaid may be related to the fact that the epidermis of *S. edule* fruit has stomata besides pigments (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2006), which might contribute to obtaining the CO_2 needed for their growth through gas exchange, and photosynthesis; therefore, similar to any photosynthetic tissue, photoprotection mechanisms present in fruit epidermis (Blanke and Lovat, 1993).

Total chlorophyll concentration registered in the domesticated varieties of green fruits showed that there is variation according to the fruit epidermis. For example, *A. levis*, *N. xalapensis*, *N. spinosum*, and *V. levis* recorded 0.2826, 0.2421, 0.1762, and 0.1312 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, respectively.

The color variation starting from wild relative to dark green fruit, to light green fruit like *V. levis*, with possible transition towards the yellow color. The color expressed as °Hue was 222.9 for *n. xalapensis*, 201.1 for *n. spinosum*, 198.4 for wild relative, 167.2 for *N. levis*, and 126.5 for *v. levis*. The yellow fruit was of 68.3 °Hue for *a. minor*, 67.3 for *a. dulcis*, and 60.8 for *a. levis*. The >160 values were equivalent to dark and very dark green color, the interval between 120 and 130 corresponded to light green, whereas the values ≤ 90 corresponded to yellow and cream.

The presence of thorns on fruit epidermis was registered only in *N. spinosum* and wild relative. Variation in fruit color is attributed to changes in content and type of pigments such as chlorophyll and xanthophylls (Hendry, 1993), while the presence of thorns could be due to lower gibberellic acid (GA) content. According to Cadena-Iñiguez *et al.* (2008), the early application of GA_3 (31 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) to smooth fruit of *V. levis* after anthesis promotes the development of thorns, similar to the ones observed in *N. spinosum* and wild relative; once GA_3 is no longer applied, the occurrence of thorns disappears, that suggest some type of adjustment in the metabolic route of GA_3 biosynthesis, in the route of secondary metabolism.

Fruit flavor is one of the important traits for ethnobotanical identification of chayote varieties. Cucurbitacins are metabolites responsible for this characteristic in bitter fruits. These metabolites are tetracyclic triterpenoids, found in the plant in the form of glycosides, in chayote according to the *rf* values (0.1-0.41) found 59 % was from this type (Dinan *et al.*, 1997). The variety with the highest terpenic compounds was wild relative (1.456 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), followed by *N. levis* (0.660

distintivos de las variedades de chayote. Las cucurbitacinas son los metabolitos responsables por el característico sabor amargo de sus frutos. Estos metabolitos son terpenoides tetracíclicos, presentes en plantas en forma de glucósidos, en el chayote, de acuerdo con los valores r_f (0.1-0.41) se encontró que el 59 % fue de este tipo (Dinan *et al.*, 1997). Las variedades con la mayor cantidad de compuestos terpénicos fue la del pariente silvestre (1.456 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), seguido por *N. levis* (0.660 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), *N. xalapensis* (0.195 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), *N. spinosum* (0.190 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), y *V. levis* (0.116 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$). Las variedades amarillas tuvieron la menor concentración; siendo sus valores menores que los de los domesticados verdes, y mucho menores respecto al de los frutos silvestres, con valores de 0.027 a 0.088 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Respecto de los compuestos terpénicos, clorofila y carotenoides, se considera que las variedades durante su proceso de coevolución con los humanos podrían haber incorporado ciertas modificaciones en la ruta biosintética de estos metabolitos; por ejemplo, los frutos amarillos tuvieron menor contenido de Chl_a y Chl_b comparados con los frutos verdes; sin embargo, fueron los únicos que contuvieron Ct y una menor concentración de terpenos (Balliano *et al.*, 1982). Esto podría ser atribuido a un posible ajuste en la ruta de el ácido mevalónico (AMV), ya que generalmente todos los compuestos terpenoides naturales, como las cucurbitacinas y carotenoides, biosintetizan el AMV (Bramley, 1997). A través de la ruta de la acetil CoA mediante un intermediario común. Estudios realizados en *Cucumis sativum* demostraron que en la ruta metabólica de las cucurbitacinas, unidades de isoprenos son compartidas como precursores de diferentes metabolitos, así que si la planta requiriere elaborar un metabolito en mayor cantidad, esta utilizará las unidades de isoprenoides existentes, reduciendo la síntesis de otros compuestos. En este contexto, la plasticidad química habría permitido a las variedades de *S. edule* ajustar su contenido de cucurbitacinas para así poder sintetizar una mayor cantidad de carotenoides en frutos amarillos.

Más del 90% del CSS en frutos de *S. edule* está constituido por fructosa y glucosa en el mesocarpio, además de raffinosa y sacarosa en los cotiledones, que pueden dar al fruto un ligero sabor dulce (Aung *et al.*, 1992). El contenido de sólidos solubles (10.9 °Brix) y compuestos terpénicos (1.456 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) en el Chayote silvestre fue la más alta dentro de todo el grupo. En otras variedades silvestres del género *Sechium*, tal como *Sechium compositum* y *S. chinantlense*, valores de 10.6 y 10.3 °Brix han sido reportados en frutos frescos (datos no mostrados). Sin embargo, tienen un fuerte sabor amargo, que podría ser un rasgo distintivo de las variedades silvestres de *Sechium*, una clasificación informal describe a *A. minor*, *A. dulcis*, y *A. levis*, como ligeramente dulces, con valores de 7.66, 7.21 y 8.08 °Brix, pero al mismo tiempo tuvieron el menor rendimiento en compuestos terpénicos (0.027, 0.039 and 0.088 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$). El contenido de CSS en las variedades verdes de fruto verde, *V. levis*, *N. xalapensis*,

$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), *N. xalapensis* (0.195 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), *N. spinosum* (0.190 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), and *V. levis* (0.116 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$). The yellow varieties had the lowest concentration; their values being lower than those of the domesticated green ones, and much lower with respect to the wild fruit, with values ranging from 0.027 to 0.088 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Regarding terpenic compounds, chlorophyll and carotenoids, it is considered that the varieties in their co-evolution process with humans may have incorporated certain modifications in the biosynthesis route of these metabolites; for example, the yellow fruit had less Chl_a and Chl_b content compared to the green fruit; they were, however, the only ones having Ct content and lower terpenic concentration (Balliano *et al.*, 1982). This might be attributed to a possible adjustment in the route of mevalonic acid (MVA), since generally all natural terpenoid compounds, like cucurbitacins and carotenoids, biosynthesize the MVA (Bramley, 1997) by the route of acetyl CoA through a common intermediary. Studies carried out in *Cucumis sativum* show that in the metabolic cucurbitacin route, isoprene units are shared as precursors of different metabolites, so that if the plant requires elaborating a metabolite in larger quantity, it will utilize the existing isoprene units, reducing the synthesis of other compounds. In this context, the chemical plasticity would have allowed for *S. edule* varieties adjusting cucurbitacin contents in order to synthesize a larger quantity of carotenoids in yellow fruit.

More than 90 % of SSC in *S. edule* fruit are constituted by fructose and glucose in the mesocarp, besides raffinose and sucrose in the cotyledons, which may give the fruit a slightly sweet flavor (Aung *et al.*, 1992). The content of soluble solids (10.9 °Brix) and terpenic compounds (1.456 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) in wild chayote was the highest within the whole group. In other wild varieties of *Sechium* genus, such as *Sechium compositum* and *S. chinantlense*, values up to 10.6 and 10.3 °Brix have been recorded in fresh fruit (data not shown). However, they have a strongly bitter flavor, which could be a typical characteristic of the wild relatives of *Sechium*. Informal classification describes *A. minor*, *A. dulcis*, and *A. levis*, as slightly sweet, with values of 7.66, 7.21, and 8.08 °Brix, but at the same time, they had the lowest yield in terpenic compounds (0.027, 0.039 and 0.088 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$). The content of SSC in domesticated green-fruit varieties, *V. levis*, *N. xalapensis*, and *N. spinosum* was 5.14, 9.93, and 6.93 %, located as an intermediate group between the wild and the yellow varieties. Titratable acidity was low, fluctuating between 0.028 and 0.059, and green varieties showed up to twice the acidity percentage of that of the yellow varieties. With regard to ascorbic acid (Asc) in fruits, the group of yellow chayote had the highest contents (0.0742-0.0782 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), whereas the domesticated green ones showed values from 0.0495 to 0.0676 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, and for the wild fruit, 0.0399 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$.

Chayote flavor is a notable characteristic of its ethnobotanical classification with a wide variability among

y *N. spinosum* fue de 5.14, 9.93 y 6.93 %, localizado como un grupo intermedio entre el silvestre y la amarilla. La acidez titulable fue baja, fluctuó entre 0.028 y 0.059, y las variedades verdes mostraron hasta el doble del porcentaje de acidez de las variedades amarillas. Respecto del ácido ascórbico (Asc) en frutos, el grupo de chayote amarillo tuvo las mayores concentraciones (0.0742 - 0.0782 mg·g⁻¹), mientras que los verdes domesticados mostraron valores desde 0.0495 hasta 0.0676 mg·g⁻¹, y los frutos silvestres 0.0399 mg·g⁻¹.

El sabor del chayote es una característica de la clasificaron etnobotánica con una gran variabilidad entre variedades. El sabor amargo del pariente silvestre podría estar basado en un mayor contenido de compuestos triterpénicos (como cucurbitasinas), mientras que el ligero sabor dulce de los frutos amarillos podría estar relacionado a una mayor cantidad de CSS, menor contenido triterpénico, y menor acidez. La variación de color y sabor evaluadas en los frutos de variedades de *S. edule* podrían ser también producto de ajustes en el MVA, dado el hecho de que las semillas del silvestre no son vivíparas, no así las de variedad verde y amarilla domesticada (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2008). Esto podría ser atribuible de nuevo, al ajuste en el contenido de cucurbitacina y AG, dado que las cucurbitacinas han sido identificadas como antagonistas de la acción de la AG, hormona relacionada al proceso de germinación (Zehhar *et al.*, 2002), y particularmente en *S. edule*. Aung y USDA-ARS (1998) determinaron que la germinación se estimula con la aplicación de giberilinas, y podría sugerir que, a mayor concentración de cucurbitacinas en los frutos, menor el contenido de AG,

varieties. The bitter flavor of wild relative may be based on a higher content of triterpenic compounds (like cucurbitacins), while the slightly sweet flavor in yellow fruit may be related to a higher amount of SSC, lower triterpenic content, and lower acidity. The variation of color and flavor evaluated in the fruits of *S. edule* varieties may also be the product of adjustments in the MVA, due to the fact that the seed of wild relative is not viviparous, unlike that of the domesticated green and yellow varieties (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2008). This may be attributed again to a certain adjustment in the content of cucurbitacin and GA; since cucurbitacins have been recognized as antagonists of GA action, hormone related to the germination process (Zehhar *et al.*, 2002), and particularly in *S. edule*. Aung and USDA-ARS (1998) determined that germination is stimulated with application of gibberellins, which might suggest that, the higher the cucurbitacin content in the fruits, the lower the GA content, and consequently, the lower precociousness in germination. Regarding this, it stands out that wild relative, the only wild variety, registered the highest cucurbitacin content and does not present viviparity.

The previous analysis suggests a relationship between varieties, assuming that wild relative is the point of reference of biochemical adjustments in the domesticated varieties. PCA results showed that 92.5 % of the variation is explained by the three first principal components (PC). The characters contributing to the variation of PC1 were related to ascorbic acid, terpenic content and Chl_a and Chl_b; in PC2, there were soluble solids and Chl_a, and finally in PC3, Ct and titratable acidity (Table 3). The dispersion of varieties PC1 vs PC2, and PC1 vs PC3, shows the variation of the

TABLE 3. Content of terpenic compounds, soluble solids content (SSC), titratable acidity and ascorbic acid in fruits of seven varieties and wild relative of *Sechium edule* (Jacq.) Sw.

CUADRO 3. Contenido de compuestos terpénicos, contenido de sólidos solubles (CSS), acidez titulable y ácido ascórbico en frutos de siete variedades y un pariente silvestre de *Sechium edule* (Jacq.) Sw.

Variedad	Compuestos Terpénicos (g·100 g ⁻¹)	CSS* (°Brix)	Acidez Titulable (%)	Ácido Ascórbico (mg·100 g ⁻¹)
<i>Virens levis</i>	0.0116	5.14 ± 0.2	0.040 ± 0.19	6.76 ± 0.16
<i>Nigrum xalapensis</i>	0.0195	4.93 ± 0.2	0.032 ± 0.10	6.53 ± 0.53
<i>Nigrum spinosum</i>	0.0190	6.43 ± 0.3	0.038 ± 0.10	4.95 ± 0.49
<i>Nigrum levis</i>	0.0660	5.47 ± 0.2	0.045 ± 0.57	6.65 ± 0.18
<i>Wild relative</i>	0.1456	10.92 ± 0.3	0.059 ± 0.42	3.99 ± 0.16
<i>Albus minor</i>	0.0039	7.66 ± 0.7	0.035 ± 0.80	7.82 ± 0.42
<i>Albus dulcis</i>	0.0027	7.21 ± 0.9	0.029 ± 0.11	7.42 ± 1.27
<i>Albus levis</i>	0.0088	8.08 ± 0.6	0.028 ± 0.50	7.75 ± 0.22

* Mean value ± standard deviation

Valor medio ± Desviación estándar.

Caracterización bioquímica...

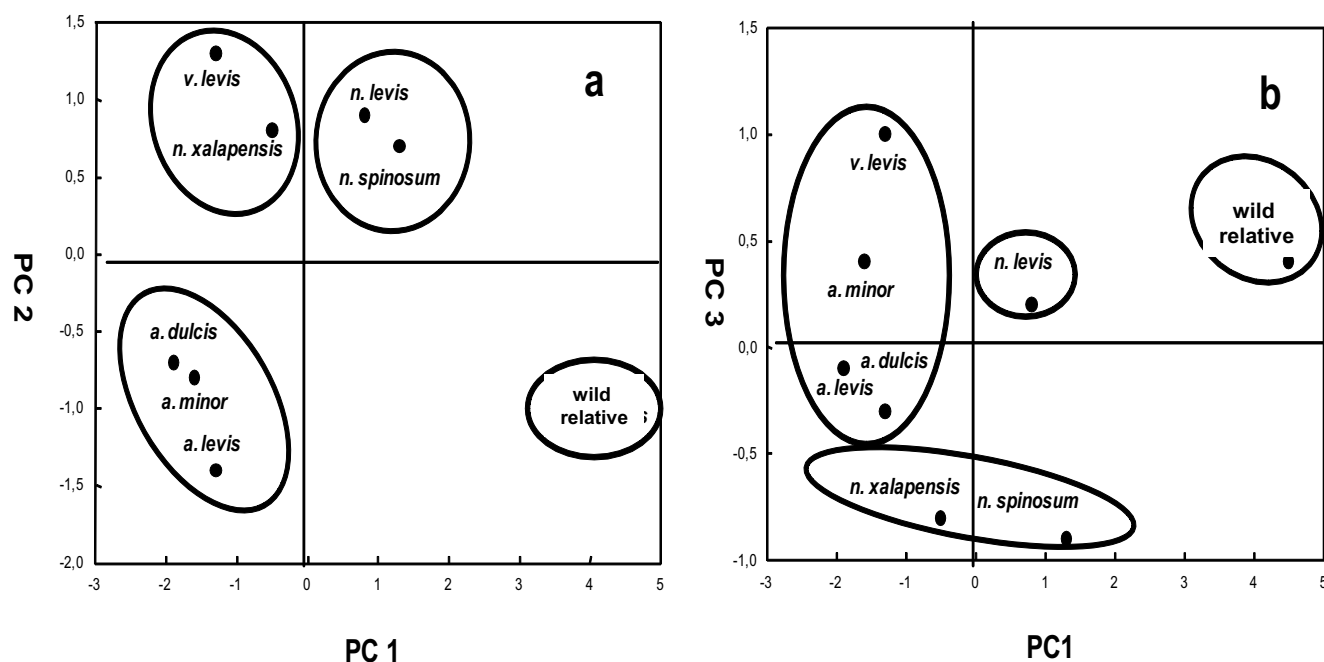


FIGURE 2. Dispersion graph based on biochemical traits for seven cultivated varieties and a wild relative of *Sechium edule* fruit, a) PC1 vs PC2; b) PC1 vs PC3.

FIGURA 2. Gráfica de dispersión basada en caracteres bioquímicos para siete variedades cultivadas y un pariente silvestre del fruto de *Sechium edule*, a) PC1 vs PC2; b) PC1 vs PC3.

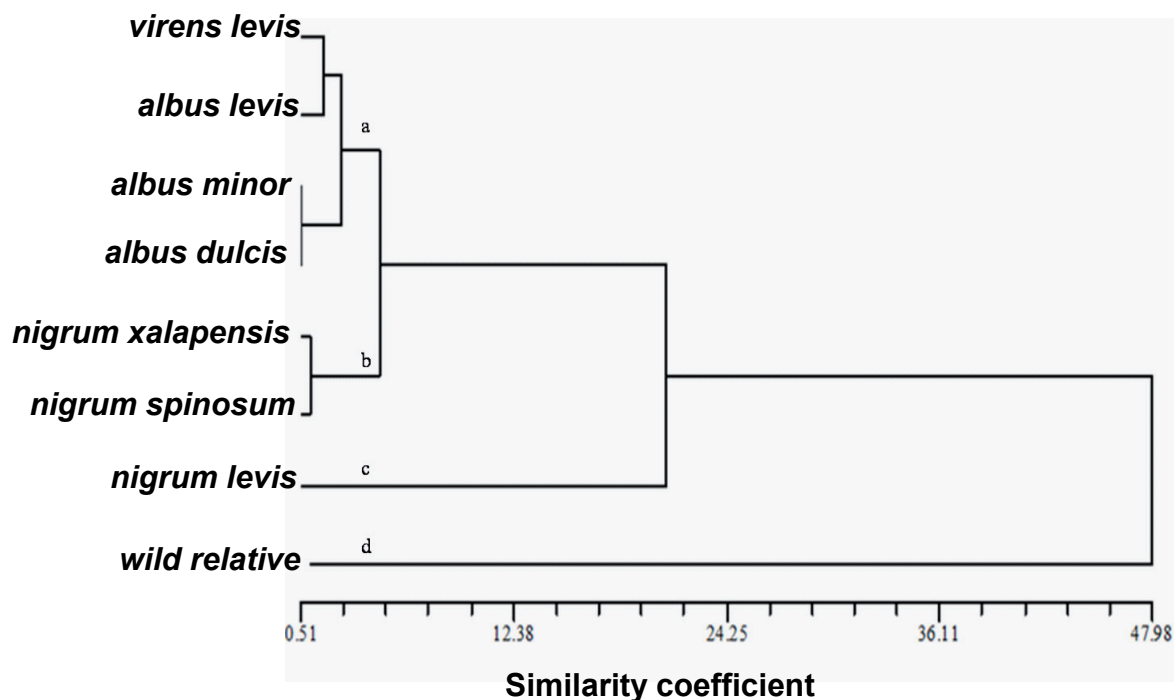


FIGURE 3. Dendrogram based on biochemical traits for seven cultivated varieties and a wild relative of *Sechium edule* (Jacq.) Sw., fruit. The groups are classified by letters a, b, c, and d.

FIGURA 3. Dendrograma basado en los caracteres bioquímicos de siete variedades cultivadas y una silvestre de frutos de *Sechium edule* (Jacq.) Sw. Los grupos se encuentran clasificados por letras a, b, c, y d.

y en consecuencia menor precocidad en la germinación. A este respecto, es relevante que el pariente silvestre, la única variedad silvestre, registró la mayor concentración de cucurbitacinas y no presenta viviparidad.

El análisis previo sugiere una relación entre las variedades, asumiendo que el silvestre es el punto de referencia del ajuste bioquímico de las variedades domesticadas. Los resultados el ACP mostraron que 92.5 % de la variación es explicada por los tres primeros componentes principales (CP). Las características que contribuyeron a la variación de el PC1 fueron relacionadas con el contenido de ácido ascórbico, Chla y Chlb; en el CP2, hubo sólidos solubles y Chla, finalmente en el CP3, Ct y acidez titulable (Tabla3). La dispersión de variedades PC1 vs PC2, y PC1 vs PC3 muestra la variación de el pariente silvestre y el agrupamiento de frutos amarillos junto con los verdes claro (Figura 2). El dendrograma de agrupamiento demuestra que las variedades de *S. edule* se encuentran bioquímicamente relacionadas, siendo el silvestre el ancestro de las domesticadas (Figura 3). Se podría considerar que las variedades de fruto amarillo, basados en la posición en la que cada variedad mantiene en la relación, muestra un mayor grado de cambio bioquímico; ellos son, sin embargo, los que han sido sujetos a menor presión de selección por cultivo extensivo. Por ello, los cambios junto con la domesticación podrían ser el resultado de un proceso de especiación adaptativa en vista de cambios ambientales, cuyos efectos secundarios podrían verse reflejados en modificaciones de color, sabor, apariencia (espinas), y compuestos secundarios (cucurbitacinas, clorofila, carotenoides y ácido ascórbico) (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2008).

CONCLUSIONES

Existe evidencia bioquímica para explicar parcialmente la variación de color, sabor, y apariencia en los frutos del chayote. Las variedades cultivadas mantienen una estrecha relación bioquímica con su pariente silvestre, y registran diferencias en metabolitos secundarios, esto reafirma las características usadas para distinguir los diferentes tipos de chayote por el consumidor.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos (SNICS-SINAREFI-SAGARPA) por el apoyo económico para este proyecto y al M.C. Marcos V. Vázquez Hernández por su asistencia técnica.

LITERATURA CITADA

- AFIFI, M. S.; ROSS, S. A.; SOHLY, M. A.; NAEEM, Z. E.; HALAWEISH, F. T. 1999. Cucurbitacins of *Cucumis prophetarum*. J. Chem. Ecol. 25: 847-859.
- AOAC. 1980. Association of Official Analytical Chemist. In: Official

wild relative and the grouping of yellow with light green fruits (Figure 2). The dendrogram grouping demonstrates that all *S. edule* varieties are biochemically related, wild chayote being the ancestor of the domesticated ones (Figure 3). It may be considered that the yellow fruit varieties, based on the position which each variety holds in the relationship, show a higher degree of biochemical changes; they are, however, the ones that have been subjected to less selection pressure by extensive cultivation. Therefore, the changes along with domestication may be the result of an adaptive specialization process in view of environmental changes, whose secondary effects might have become reflected in the modification of color, flavor, appearance (thorns), and secondary compounds (cucurbitacins, chlorophyll, carotenoids and ascorbic acid) (Cadena-Iñiguez *et al.* 2008).

CONCLUSIONS

There are biochemical evidences to explain partially the variation in color, flavor, and appearance on fruits of chayote. The cultivated varieties keep a close biochemical relation with wild relative, and registered differences in secondary metabolites, this reinforce that the traits are used to distinguish different types of chayote by the consumer.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank to Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos (SNICS-SINAREFI-SAGARPA) for the economical support to this project and M.C. Marcos V. Vázquez Hernández for technical assistance.

End of English Version

- Methods of Analysis. HORWITZ, W. (ed). 12th edition. Washington, D. C. 1094 p.
- AUNG, L. H.; RIJ, R. E.; FOUSE, D. C.; LINDEGREN, J. E. 1992. Postharvest fruit respiration and soluble sugars changes of *Sechium edule* Swartz. Phyton 53: 125-134.
- AUNG, L. H.; USDA-ARS. 1998. Bioregulators on postharvest sprout growth of *Sechium edule* Sw. Am. Soc. Plant Biol. (abstract no. 598).
- BALLIANO, G.; CAPUTO, O.; VIOLA, F.; DELPRINO, L.; CATTEL, L. 1982. The transformation of 10a-cucurbita-5,24-dien-3 β -ol into cucurbitacin C by seedlings of *Cucumis sativus*. Phytochemistry 22: 909-913.
- BLANKE, M. M.; LOVAT, C. J. 1993. Anatomy and transpiration of the avocado Inflorescence. Ann. Bot. 71 (6): 543-547.
- BRAMLEY, M. P. 1997. Isoprenoid metabolism. In: Plant Bioche postharvest management and pharmacological characteristics of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. Fresh Produce, Global Sci. Books 1: 41-52.

- CADENA-IÑIGUEZ, J.; AVENDAÑO-ARRAZATE, C. H.; SOTO-HERNÁNDEZ, M.; RUIZ-POSADAS, L. M.; AGUIRRE-MEDINA, J. F.; ARÉVALO-GALARZA, M. L. 2008. Intraspecific variation of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. in the state of Veracruz, Mexico. *Genet. Resour. Crop Evol.* 55: 835-847.
- COOK, O. F. 1901. The chayote: A tropical vegetable. pp. 7-31. Bull. No. 28. Division of Botany, U.S. Department of Agriculture, USA.
- DINAN, L. P.; WHITING, J. P.; GIRAULT, R.; LAFONT, T. S.; DHADIALLA, D. E.; CRESS, B.; MUGAT, C.; ANTONIEWSKI, J. A. 1997. Cucurbitacins are insect steroid hormone antagonists acting at the ecdysteroid receptor. *Biochem. J.* 327: 643-650.
- HENDRY, A. F. G. 1993. Plant pigments. pp. 181-196. *In: Plant Biochemistry and Molecular Biology.* John Wiley & Sons Ltd. U. K.
- LICHTENTHALER, H.; WELLBURN, A. R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.* 11: 591-592.
- LIRA-SAADE, R. 1996. Chayote. *Sechium edule* (Jacq.) Sw. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 8. IPGR, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 57 p.
- McGUIRE, R. G. 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience* 27: 1254-1255.
- MURCHIE, E. H.; CHEN, Y. Z.; HUBBART, S.; PENG, S. B.; HORTON, P. 1999. Interactions between senescence and leaf orientation determine *in situ* patterns of photosynthesis and photoinhibition in field grow rice. *Plant Physiol.* 119: 553-563.
- REINECKE, F. 1898. Die Flora der Samanoa-Inseln. *Englers Botany J.* 23:237-368.
- ROHLF, F. J. 1993. NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Exeter Software v. 2.0. Applied Biostatistics Inc., New York.
- SAS. 1988. SAS/STAT User guide: Statistics, Ver. 6, 4th vol 1 and 2. SAS Institute, Inc. Cary, New York, USA. 1028 p.
- SUKHATME, V. P. 1970. Teoría de encuestas por muestreo con aplicaciones. Fondo de Cultura Económica, México. 495 p.
- WAGNER, H.; BLADT, S. 1996. Plant drugs analyses, a thin layer chromatography atlas. Second Edition. Springer. Alemania. pp. 94-96.
- ZEHHAR, N.; INGOUFF, M.; BOUYA, D.; FER, A. 2002. Possible involvement of gibberellins and ethylene in *Orobanchenantha* germination. *Eur. Soc. Weed Res.* 42: 464-469.