

# CAMBIOS RELACIONADOS CON EL «DAÑO POR FRÍO» EN ÁCIDOS GRASOS DE FOSFOLÍPIDOS DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA Y ANTIOXIDANTES NATURALES DE JÍCAMA (*Pachyrhizus erosus*)

## CHILLING INJURY AND CHANGES IN FATTY ACIDS OF PHOSPHOLIPIDS AND NATURAL ANTIOXIDANTS OF PLASMA MEMBRANE OF JICAMA (*Pachyrhizus erosus*)

Rafael García y Edmundo Mercado-Silva

### RESUMEN

El objetivo del estudio, fue evaluar la susceptibilidad a la refrigeración, de dos variedades de Jícama (*Pachyrhizus erosus*), denominadas 'San Miguelito', y 'Vega de San Juan', almacenadas a 10°C, y 13°C. De estas variedades se extrajo la membrana plasmática y analizadas en los contenidos de fosfolípidos, ácidos grasos y a-Tocoferol. En tejido, se analizó el contenido de ácido ascórbico. Se encontró en la variedad 'San Miguelito', una disminución notable de a-Tocoferol (71%) y de ácido ascórbico (46%), y en 'Vega de San Juan', (79% y 29%), respectivamente. En las dos variedades, la fosfatidilcolina (FC), disminuyó en 32% y 71%, respectivamente. Los resultados indican, que el almacenamiento en temperaturas de «daño por frío», inducen a la pérdida de la membrana y estrés oxidativo, por la incapacidad de la jícama a regenerar a-Tocoferol y ácido ascórbico.

**PALABRAS CLAVE:** *Pachyrhizus erosus*; «Daño por Frío»; Fosfolípidos; a-tocoferol ; Ácido ascórbico; Glutación.

### ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate chilling susceptibility of Jicama (*Pachyrhizus erosus*), cultivars, 'San Miguelito', and 'Vega de San Juan', stored at 10°C, and 13°C. The plasma membrane from those cultivars, were extracted and analyzed for phospholipids, fatty acids and a-Tocopherol. The ascorbic acid, was analyzed at tissue level. a-Tocopherol and ascorbic acid content decreased 71-79% and 46-29% in 'San Miguelito', and 'Vega de San Juan', cultivars respectively. Phosphatidylcholine (PC), also decreased 32 and 71% in both cultivars. This results indicated that during cold storage, there were loss of membrane and oxidative stress because of incapability of tissue to regenerate a-Tocopherol and ascorbic acid.

**KEY WORDS:** *Pachyrhizus erosus*; «Chilling Injury»; Phospholipids; a-Tocopherol; Ascorbic acid; Glutation.

### INTRODUCCIÓN

La jícama (*Pachyrhizus erosus*) es una raíz leguminosa que se consume como vegetal crudo y es apetecido por su crujencia y color blanco de la pulpa. Aunque es originaria de México y Centro América, también se produce en otros países de Sur América y en el Sudeste Asiático. Este recurso natural tiene amplias posibilidades para su consumo masivo y como producto para la exportación porque, presenta un buen balance entre su contenido de carbohidratos y proteínas (Sjrensen, 1996). Estudios previos han mostrado, que la jícama es

sensible al «daño por frío» cuando se almacena por una a dos semanas a 10°C (Cantwell et al., 1992; Mercado-Silva y Cantwell, 1998; Mercado-Silva et al., 1998). Este daño, se manifiesta en un oscurecimiento de la pulpa, pérdida de su textura crujiente y mayor susceptibilidad al ataque de hongos. Los cambios en la estructura y el ordenamiento molecular de los lípidos de las membranas ha sido propuesto como una de las principales causas del 'daño por frío' (Raison y Orr, 1990) y la peroxidación de los lípidos ha sido observado en las plantas

durante el desarrollo de desórdenes metabólicos causados por diferentes estrés, como los enfriamientos y calentamientos excesivos, entre otros (Shewfelt y Purvis, 1995). En condiciones normales, las plantas poseen antioxidantes naturales y sistemas enzimáticos que les ayudan para protegerse del ataque oxidativo. Entre ellos; el  $\alpha$ -Tocoferol (Vitamina E), que se localiza en las membranas de los tejidos de las plantas y una de sus funciones es interrumpir la propagación de la peroxidación de los lípidos (Buettner, 1993; Allen, 1996). El Ácido ascórbico (Vitamina C), que se encuentra en los tejidos de las plantas, actúa como un donador de electrones terminal, secuestrando radicales libres (Foyer, 1993) y también puede actuar, como sinergista en el proceso de conversión del tocoferol oxidado a tocoferol reducido, regenerándose nuevamente por la acción del glutatión reducido o por el NADH+ (Allen, 1996). El Glutatión (GSH), es el más importante tiol no proteico en los sistemas vivos y se ha encontrado principalmente en forma reducida (GSH) (66%-98%) en los cloroplastos y el citosol (Hausladen y Alscher, 1993). Cumple funciones esenciales en el sistema de transporte de los grupos sulfuro, en la destoxicación de herbicidas, en la regulación de la expresión genética en respuesta a condiciones desfavorables de estrés ambiental y al ataque de patógenos (Edwards et al., 1994). Además, puede mantener en forma reducida al ácido ascórbico por la acción de la enzima dehidroascorbato reductasa en el ciclo del glutatión-ascorbato y ayuda a recuperar el  $\alpha$ -tocoferol (Meister, 1992, Hausladen y Alscher, 1993).

Bajo todos estos puntos de vista, la jícama es importante como modelo para estudiar las posibles causas y mecanismos del 'daño por frío', porque es un tubérculo resistente a los daños mecánicos y su comportamiento fisiológico es menos complejo que un fruto. Pudiéndose evaluar con mayor claridad aspectos, como los niveles de oxidación y su influencia en la incidencia de 'daños por frío'.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron dos variedades de jícama de la especie *Pachyrhizus erosus*, denominadas 'San Miguelito' y 'Vegeta de San Juan', que fueron

sembradas y cosechadas en el Campo Experimental del Bajío (INIFAP) de Celaya, Guanajuato-México. De cada variedad se seleccionó un lote de jícamas, libre de daños y peso aproximado entre 500 y 700 gramos. Después, fueron trasladadas en el laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Frutas y Hortalizas de la Universidad Autónoma de Querétaro. Dos lotes de quince jícamas cada uno, se almacenaron a 10°C y 13°C (lote testigo), por una semana. Después, cinco jícamas se transfirieron a temperatura de 20°C, durante una semana adicional; al inicio y final de este periodo se determinó en la membrana plasmática, el contenido de fosfatidilcolina (FC), fosfatidiletanolamina (FE), fosfatidilglicerol (FG), monogalactosildiacilglicerido (MGDG) y el  $\alpha$ -tocoferol. En el tejido de jícama, se determinó el contenido de ácido ascórbico y de glutatión reducido (GSH). Las mediciones se realizaron por triplicado y se utilizó la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 95% con el programa Statistica. Versión 4.0.

La membrana plasmática se obtuvo por el sistema de partición de dos fases de polímeros; Dextrán T500 (Pharmacia, Uppsala, Sweden) al 20% y Polietilenglicol (Sigma) al 40%, de acuerdo al método descrito por (González de la Vara y Medina, 1988; Baizabal-Aguirre y González de la Vara, 1994). La extracción de los lípidos se llevó a cabo mediante el método descrito por Brown y Dupont (1989), utilizando isopropanol y cloroformo como solventes.

Los fosfolípidos de la membrana plasmática de dos variedades de jícamas, fueron separados por cromatografía de capa fina en placas de sílica gel 60 (20 x 20, 25 mm de MERCK), activadas durante una hora a 110°C. En cada placa se aplicó 5  $\mu$ l de cada uno de los estándares de fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, monogalactosil diacilglicérido y fosfatidilglicerol. Así mismo, se aplicó 50  $\mu$ l de los lípidos extraídos de cada muestra de membrana plasmática de las jícamas. La fase móvil consistió en una mezcla de solventes; cloroformo: metanol: ácido acético: agua (170:25:25:6). Inmediatamente, se cerró la cámara y se dejó correr la mezcla de solventes. Después se sacó la placa y se dejó secar durante tres horas, bajo corriente de nitrógeno. Al término de este tiempo, se aplicó 2,7, fluoroscéina (0,1%

en metanol). Las placas se secaron y con luz UV se identificó cada uno de los fosfolípidos. Una vez que se determinó el valor de los  $R_f$  de los estándares y de las muestras, se recogió en su totalidad, cada una de las manchas, identificadas, en tubos de ensayo. La derivatización de los ácidos grasos de los fosfolípidos se realizó de acuerdo al método de Christie (1982), utilizando 2.5 ml de éter de petróleo y 2 ml de una solución de ácido sulfúrico : metanol (1:99). La determinación de los ácidos grasos de los fosfolípidos se realizó de acuerdo al método de Christie, (1982), utilizando un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890-Series II, equipado con una columna capilar HP-INNOVAX (Crosslinked Polyethylene Glycol) de 30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro externo y 0.25  $\mu$ m de espesor de película. Para el registro de la señal se utilizó un detector de ionización de llama y se utilizó helio como gas transportador a un flujo de 1 ml/minuto. La temperatura inicial del horno fue de 120°C y en gradiente de 10°C/minuto fué llevada hasta 280°C. Las temperaturas de operación para el inyector fue 250°C y 275°C para el detector. El cromatógrafo se acopló a un integrador Hewlett-Packard Serie II. La cuantificación de los ácidos grasos se realizó con base en el área que se obtuvo de cada ácido graso en cada cromatograma y el área del ácido heptadecanoico (C17:0), utilizado como estándar interno.

El contenido de a-tocoferol en la membrana plasmática, se determinó por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC), siguiendo el método descrito por Carpenter, (1979), en un Cromatógrafo Waters 510, equipado con un detector de arreglo de diodos a una longitud de onda de 295 nm. Se utilizó una columna empacada Porasil (10- $\mu$ , 3.9 x 300 mm). La fase móvil consistió en una mezcla de isopropanol, 0.5% y hexano 99.5% grado HPLC. La velocidad de flujo fue de 1.3 ml/minuto en modo isocrático. La cuantificación del a-tocoferol, se llevó a cabo, mediante una curva de calibración utilizando soluciones estándar de a-tocoferol y los resultados son reportados en nmol de a-tocoferol/ mg de proteína. El contenido de proteína en la membrana de jícama, se realizó mediante el método de Bradford (1976), modificado por Stoscheck (1990) y la medición se realizó en un espectrofotómetro

Lambda 2S Perkin-Elmer a una longitud de onda de 590 nm.

La determinación del ácido ascórbico se realizó de acuerdo al método descrito por Augustin et al., (1981), en un Cromatógrafo de Líquidos de Alta Eficiencia (HPLC); Waters 510, equipado con un detector de arreglo de diodos a una longitud de onda de 254 nm. Se utilizó una columna  $\mu$ -Bondapak C18 (3.9 x 150 mm). La fase móvil, se preparó con 220 mg de tridecilamina disueltos en 600 ml de metanol y 400 ml de agua. La solución fue llevada a un pH de 3.5 con ácido fórmico. La velocidad de flujo fue de 0.5 ml/minuto en modo isocrático. La cuantificación se llevó a cabo a través de una curva de calibración, que se realizó con estándares de ácido ascórbico. Los resultados se reportaron en mg de ácido ascórbico/100 gramos de tejido fresco.

El glutatión reducido (GSH), se determinó de acuerdo al método descrito por DelRaso (1992), en un espectrofluorómetro Sequoia-Turner 450, con ganancia de 10 y a una longitud de onda de excitación de 360 nm y máxima emisión de 430 nm. La cuantificación, se realizó mediante una curva de calibración, utilizando estándares de GSH, en solución de fosfato de sodio-ácido etilendiamino tetraacético (FS-EDTA) a pH de 8.0 y orto-ftalaldehído. Los resultados son reportados en nmol de GSH/gramo de tejido fresco (Hariyadi y Parkin, 1993).

## RESULTADOS

En la Tabla 1, se presentan los contenidos de ácidos grasos en forma individual, que se encontraron en los fosfolípidos de la membrana plasmática de la variedad de jícama 'San Miguelito', en los diferentes tratamientos.

Durante el almacenamiento a 10°C, disminuyeron drásticamente los niveles de ácido palmítico (C16:0), ácido oleico (C18:1) y ácido linoleico (C18:2), de la fosfatidilcolina en las dos variedades de jícamas, respecto de las jícamas antes del almacenamiento. El contenido de ácido linolénico (C18:3) no presentó cambios estadísticamente significativos. En forma particular, la fosfatidilcolina en la variedad 'San Miguelito' a 10°C, presentó una pérdida de

57.89, 55.26 y 33.34% de sus ácidos grasos C16:0, C18:1 y C18:2, respectivamente (Tabla 1). En tanto que, la variedad 'Vega de San Juan', presentó una disminución de 60, 57.9 y 71.43%, respectivamente para los mismos ácidos grasos (Tabla 2).

En la Figura 1 se presenta el contenido de  $\alpha$ -tocoferol en la membrana plasmática de jícamas de las variedades 'San Miguelito' y 'Vega de San Juan' almacenadas a 10°C y 13°C. Antes de almacenamiento, las variedades 'San Miguelito' y 'Vega de San Juan' presentaron valores de 0.539 y 0.300

nmol  $\alpha$ -tocoferol/mg de proteína, respectivamente. 'Vega de San Juan' mostró un contenido menor (44.4 %) que 'San Miguelito'. Cuando las dos variedades fueron almacenadas a 10°C, durante una semana y transferidas a 20°C, una semana adicional, la disminución de  $\alpha$ -tocoferol fue bastante drástica. La variedad 'San Miguelito' presentó valores de 0.156 nmol  $\alpha$ -tocoferol/mg de proteína, correspondiente a un 71.09 % de pérdida. En tanto que, 'Vega de San Juan', mostró valores de 0.63 nmol  $\alpha$ -tocoferol/mg de proteína, equivalente a una pérdida del 79%. A 13°C, 'San Miguelito' y 'Vega de San Juan' presentaron valores de 0.469 y 0.217

Tabla 1. Contenido de ácidos grasos en cuatro fosfolípidos de la membrana plasmática de jícamas, de la variedad 'San Miguelito'

Fosfolípidos	Ácidos grasos	Tratamiento					
		Antes de almacenamiento		1Semana 13°C + 1Semana 20°C		1Semana 10°C + 1Semana 20°C	
		(µg Ac.graso / g de muestra <sup>a</sup> )					
Fosfatidilcolina	C16:0	0.019	a	0.021	a	0.011	b
	C18:0	0.003	b	0.004	a	0.004	ab
	C18:1	0.038	a	0.036	a	0.017	b
	C18:2	0.031	a	0.035	a	0.021	b
	C18:3	0.024	a	0.019	a	0.016	a
Fosfatidiletanolamina	C16:0	0.011	a	0.015	a	0.010	a
	C18:0	0.004	a	0.004	a	0.002	a
	C18:1	0.014	a	0.015	a	0.010	a
	C18:2	0.024	a	0.020	a	0.019	a
	C18:3	0.013	a	0.016	a	0.011	a
Fosfatidilglicerol	C16:0	0.007	b	0.016	a	0.009	b
	C18:0	0.002	a	0.004	a	0.003	a
	C18:1	0.008	a	0.014	a	0.010	a
	C18:2	0.012	a	0.021	a	0.019	a
	C18:3	0.06	b	0.014	a	0.010	ab
Monogalactosildiacilglicérido	C16:0	0.009	a	0.017	a	0.011	a
	C18:0	0.0008	a	0.005	a	0.003	a
	C18:1	0.013	a	0.016	a	0.012	a
	C18:2	0.012	a	0.025	a	0.023	a
	C18:3	0.009	a	0.024	a	0.013	a

\* Valores dentro de las columnas a las temperaturas y tiempos dados con letras diferentes, son estadísticamente diferentes. Prueba de Tukey, ( $\alpha = 0.05$ ).

Tabla 2. Contenido de ácidos grasos en cuatro fosfolípidos de la membrana plasmática de jícamas, de la variedad 'San Miguelito'

Ácidos grasos	Tratamiento						
	Antes de almacenamiento		1Semana 13°C + 1Semana 20°C		1Semana 10°C + 1Semana 20°C		
Fosfatidilcolina	C16:0	0.010	a	0.012	a	0.004	b
	C18:0	0.001	a	0.004	a	0.001	a
	C18:1	0.019	a	0.024	a	0.008	b
	C18:2	0.014	a	0.018	a	0.004	b
	C18:3	0.009	a	0.025	a	0.002	a
Fosfatidiletanolamina	C16:0	0.003	a	0.004	a	0.003	a
	C18:0	0.001	a	0.002	a	0.002	a
	C18:1	0.007	a	0.011	a	0.007	a
	C18:2	0.008	a	0.009	a	0.012	a
	C18:3	0.004	a	0.006	a	0.007	a
Fosfatidilglicerol	C16:0	0.006	b	0.010	a	0.008	b
	C18:0	0.002	a	0.005	a	0.003	a
	C18:1	0.006	a	0.011	a	0.008	ab
	C18:2	0.010	a	0.014	a	0.014	a
	C18:3	0.006	a	0.008	a	0.008	a
Monogalactosildiacilglicérido	C16:0	0.009	a	0.006	b	0.006	b
	C18:0	0.003	a	0.002	a	0.002	a
	C18:1	0.011	a	0.009	b	0.004	a
	C18:2	0.019	a	0.011	b	0.010	b
	C18:3	0.018	a	0.006	b	0.006	b

\*Valores dentro de las columnas a las temperaturas y tiempos dados con letras diferentes, son estadísticamente diferentes. Prueba de Tukey, ( $\alpha = 0.05$ )

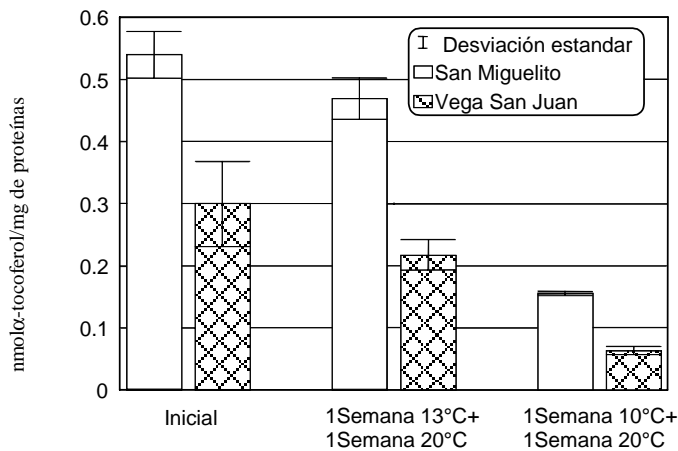


Figura 1. Cambios en los niveles de  $\alpha$ -tocopherol en membrana plasmática de jícamas de las variedades «San Miguelito» y «Vega de San Juan», almacenadas a 10°C y 13°C.



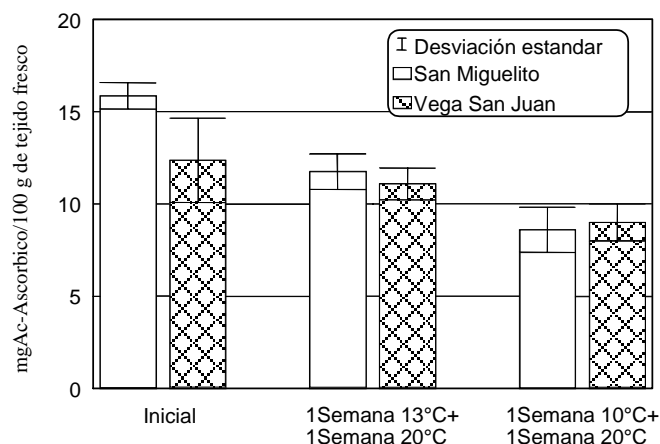


Figura 2. Cambios en los niveles de ácido ascórbico en tejido de jícamas de las variedades «San Miguelito» y «Vega de San Juan», almacenadas a 10°C y 13°C.

nanomoles de  $\alpha$ -tocoferol/mg de proteína, respectivamente, pero no hubo cambio estadísticamente significativo en relación al control.

En la Figura 2, se presenta el contenido de ácido ascórbico en el tejido de jícamas, almacenadas a 10°C y 13°C durante una semana y una adicional a 20°C. Antes de almacenamiento, las variedades 'San Miguelito' y 'Vega de San Juan' presentaron valores de 15.86 y 12.6 mg de ácido ascórbico/100 g de muestra fresca. A 10°C, presentaron una disminución significativa en el contenido de ácido ascórbico; la variedad 'San Miguelito', con 8.60 mg de ácido ascórbico/100 g de muestra (45.78% de pérdida). Para 'Vega de San Juan' con 11.08 mg de ácido ascórbico/g de muestra (28.9% de pérdida). El patrón de pérdida de este antioxidante en el tejido fue similar al del  $\alpha$ -tocoferol de la membrana plasmática. A 13°C, las variedades 'San Miguelito' y 'Vega de San Juan' presentaron valores de 11.73 y 11.08 mg de ácido ascórbico/100 g de muestra, respectivamente.

Antes de almacenamiento, las variedades 'San Miguelito' y 'Vega de San Juan', presentaron valores iguales en el contenido de glutatión reducido. En tanto que a 10°C, no mostraron diferencias estadísticamente significativas en los valores de GSH (datos no mostrados).

## DISCUSIÓN

Los resultados encontrados para las dos variedades de jícama almacenadas a 10°C, permite inferir que durante el 'daño por frío' se está presentando un estrés de tipo oxidativo al observarse, la pérdida dramática del ácido graso linoléico (C18:2), en la fosfatidilcolina y una disminución notable en el contenido de  $\alpha$ -tocoferol y de ácido ascórbico. De esta forma, el sistema de reparación de la membrana contra radicales libres está disminuido y se pierde membrana, posiblemente por oxidación y catabolismo de los fosfolípidos. La pérdida de fosfolípidos de la membrana durante el estrés por frío ha sido reportada por otros autores en otros materiales (Picchioni et al., 1994; Whitaker, 1993). Algunas explicaciones que se han dado a la pérdida de membrana, incluyen aspectos funcionales (Paliyath y Droillard, 1992; Yoshida, 1994), y aspectos fisicoquímicos, en función de la asociación de los fosfolípidos de la misma. Platt-Aloia y Thomson, (1987), citados por Parkin et al., (1989), informaron de una separación lateral de los fosfolípidos de la membrana de células de aguacate que formaron 'dominios' de lípidos con ácidos grasos de alto punto de fusión, los cuales provocaron la formación de una estructura en arreglo hexagonal II. Estos 'dominios' de lípidos, sufren transiciones continuas de un estado líquido crista-

lino a una fase gel, provocando la pérdida de semipermeabilidad y agregación de proteínas a los lados de esta estructura. Estas zonas podrían ser parte de la estructura dañada de la membrana, que en algún momento se podrían eliminar por un mecanismo aún no conocido.

Es posible, que por la exposición de las jícamas a 10°C, se produzca el estrés por frío y como consecuencia se lleve a cabo una separación a fase gel de algunos lípidos como el fosfatidilglicerol y fosfatidilcolina. De esta forma, se aumenta la posibilidad de que los lípidos y componentes de esta fase gel, sea degradada por la acción de enzimas, entre otras, la fosfolipasa D y se implante un proceso de peroxidación. Palma et al., (1995), trabajando con membranas microsomales de tomates almacenados a 2°C por dos semanas y después transferidos a 20°C por otras dos semanas adicionales, encontraron una disminución (76.28 y 49.85%) en el contenido de los ácidos grasos C18:3 y C18:2, respectivamente, señalando que estos cambios son indicativos de la peroxidación. La evidencia disponible acerca de los efectos de las bajas temperaturas sobre los sistemas de defensa contra el ataque oxidativo es escasa pero significativa. Wang, (1996), trabajando con calabacitas almacenadas a 5°C durante doce días, encontró una disminución drástica (82.40%) del ácido ascórbico y las actividades de algunas enzimas claves en la detoxificación de las especies reactivas de oxígeno se vieron alteradas. Hariyadi y Parkin, (1993), trabajando con plántulas de pepinos almacenados a 4°C, en oscuridad, encontraron poco cambio en los niveles de a-tocoferol de membranas tilacoides después de cuatro días de almacenamiento. Los autores señalan, que en el tejido de la piel, se produce el estrés oxidativo como respuesta inicial a la baja temperatura y que la peroxidación de los lípidos, contribuye al desarrollo del 'daño por frío'. En tanto que en las plántulas, el metabolismo es más activo y en consecuencia los tejidos de éstas, tienen la capacidad de restaurar la pérdida de los antioxidantes. Walker y McKersie, (1993), compararon los contenidos de antioxidantes en hojas de tomate sensibles y resistentes al frío que fueron almacenadas durante setenta y dos horas a 2°C. La variedad sensible, mostró una reducción de 69.6% en a-tocoferol, 44.40% en ácido ascórbico y 24.83% en

glutación reducido. En tanto que, en la variedad resistente no mostró cambios significativos en los niveles de antioxidantes ni tampoco actividad de la enzima dehidroascorbato reductasa. Los autores señalan, que la reducción drástica del a-tocoferol y los cambios en los sustratos en el ciclo glutación-ascorbato en la variedad sensible, es indicativo del estrés oxidativo. La variedad de tomate resistente al frío, es capaz de adaptarse a la baja temperatura, restaurando el ácido ascórbico y sintetizando carotenoides y glutación reducido. De esta forma, evita el daño asociado al estrés por frío. Anderson et al., (1995), observaron pérdidas del 27.76% de ácido ascórbico y 16% de dehidroascorbato en plántulas de maíz almacenadas durante cuatro días a 4°C. Según estos investigadores, el ácido ascórbico y el glutación reducido, podrían estar participando en el ciclo ascorbato-glutación y que la disminución del dehidroascorbato, podría deberse a un proceso combinado de reducción a ácido ascórbico y de oxidación a ácido tartárico y ácido oxálico. Dado que el contenido de glutación reducido en el tejido de las dos variedades de jícamas, no presentaron pérdidas estadísticamente significativas a 10°C y 13°C, sugiere que el mecanismo de regeneración del a-tocoferol, solo puede ser posible a través del ácido ascórbico y éste a su vez regenerado con el glutación reducido a través de la enzima dehidroascorbato reductasa. Además, la pérdida de ácidos grasos y a-tocoferol en membrana plasmática y ácido ascórbico en tejido de jícama en el almacenamiento a 10°C, indica que el sistema de reparación de la membrana contra radicales libres está disminuido y se pierde membrana, posiblemente por oxidación y catabolismo de los fosfolípidos.

## CONCLUSIONES

El hecho que se haya presentado una pérdida drástica de a-tocoferol y de ácidos grasos de los fosfolípidos de la membrana plasmática y de ácido ascórbico en el tejido de jícamas almacenadas a 10°C, es evidencia clara, que el proceso oxidativo fue muy drástico y por lo tanto se hace difícil la reparación de la membrana e implantación de algún mecanismo de adaptación a las bajas temperaturas, produciendo el daño severo en los tejidos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Allen, J. St. A. 1996. Lipid oxidation in foods. *Critical Reviews In: Food Science and Nutrition*. 36(3):175-224.
- Anderson, D.M; K. T. Prasad y R. C. Steward. 1995. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiol*. 109:1247-1257.
- Augustin, J., C. Beck, y I. Marousek, . 1981. Quantitative determination of ascorbic acid in potatoes and potato products by high performance liquid chromatography. *J. Food Science*. 46: 312-316.
- Baizabal-Aguirre, A. M. V. y L. González de la Vara. 1994. Characterization of the protein kinase activity in beet root plasma membranes. *Physiol. Plantarum* 91: 147-154.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.
- Brown, J. D. y M. F. DuPont. 1989. Lipid composition of plasma membranes and endomembranes prepared from roots of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Physiol*. 90: 955-961.
- Buettner, G.R. 1993. The pecking order of free radicals and antioxidants: Lipid peroxidation,  $\alpha$ -tocopherol, and ascorbate. *Arch. Biochem. Biophys*. 300 (2): 535-543.
- Cantwell, M., W. Orozco y V. Rubatzky. 1992. Postharvest handling and storage of jicama roots. *Acta Horticulturae* 318: 333-343.
- Carpenter, P.A. 1979. Determination of tocopherols in vegetable oils. *J. Am. Oil Chem. Soc*. 56: 668-671.
- Christie, W.W. 1982. Isolation, Separation, Identification and Structural Analysis of lipids. En: *Lipid analysis*. 2nd Edition. Ed. Z. Pergamon Press. Oxford.
- DelRaso, J.N. 1992. In Vitro methods for assessing chemical or drug toxicity and metabolism in primary hepatocytes. En: *In Vitro methods of toxicology*. Ed. Watson, R.R. CRC Press. Boca Raton, Fl. pp. 175-201.
- Edwards, A.E; C. Enard., G. P. Creissen G.P. y P. M. Mullineaux. 1994. Synthesis and properties of glutathione reductase in stressed peas. *Planta* 192: 137-143.
- Foyer, H.C. 1993. Ascorbic acid. En: *Antioxidants in higher plants*. Ed. Alscher, G.R. and Hess, L.J. CRC Press. Boca Raton, Fl. pp. 31-57.
- González de la Vara, L.E. y G. Medina. 1988. Effects of inorganic phosphate on the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase from red beet (*Beta Vulgaris* L.). *Planta Physiol*. 88: 1073-1076.
- Hariyadi, P. y L. K. Parkin. 1993. Chilling induced oxidative stress in cucumber (*Cucumis sativus* L. cv. Calypso) seedlings. *Plant Physiol*. 141: 733-738.
- Hausladen, A. y G. R. Alscher. 1993. Glutathione. En: *Antioxidants in higher plants*. Ed. Alscher, G.R. and Hess, L.J. CRC. Press. Boca Raton, Fl. pp.1-29 .
- Meister, A. 1992. Commentary on the antioxidant effects of ascorbic acid and glutathione. *Biochemical Pharmacology* 44. (10): 1905-1915.
- Mercado-Silva, E., R. Garcia., A. Heredia-Zepeda y M. Cantwell. 1998. Development of chilling injury in five jicama cultivars. *Postharvest Biology and Technology* 13: 37-43.
- Mercado-Silva, E. y M. Cantwell. 1998. Quality changes in jicama roots stored at chilling and non-chilling temperatures. *J. Food. Quality*. 21: 211-221.
- Palma, T., G. A. Marangoni y W. D. Stanley. 1995. Environmental stresses affect tomato microsomal membrane function differently than natural ripening and senescence. *Postharvest Biology and Technology*. 6: 257-273
- Paliyath, G. y J. M. Droillard. 1992. The mechanisms of membrane deterioration and disassembly during senescence. *Plant Physiol. Biochem*. 30 (6): 789-712.
- Picchioni, A.G., E. A. Watada, S. Roy, D. B. Whitaker y P. W. Wergin. 1994. Membrane lipid metabolism, cell permeability, and ultrastructural changes in lightly processed carrots. *J. Food Science*. 59 (3): 597-601.
- Platt-Aloia, K. A. y W. W. Thomson. 1987. Freeze-fracture evidence for lateral phase separations in the plasmalemma of chilling injured avocado fruit. *Protoplasma*. 136: 71-80.
- Raison, K J. y R. G. Orr. 1990. Proposals for a better understanding of the molecular basi of chilling injury. pp.145-164. En: *Chilling injury of horticultural crops*. Wang, Y.C. (De). CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
- Shewfelt, L.R. y C. A. Purvis. 1995. Toward a comprehensive model for lipid peroxidation in plant tissue disorders. *HortScience*. 30(2): 213-218.



Sjrensén, M. 1996. Yam bean (*Pachyrhizus* DC). Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 2. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben / International Plant Genetic Resources Institute, Rome.

Stoscheck, M. C. 1990. Increased uniformity in the response of the Coomassie blue G protein assay to different proteins. *Analytical Biochemistry*. 184: 111-116.

Walker, A.M. y D. B. McKersie. 1993. Role of the ascorbate-glutathione antioxidant system in chilling injury resistance of tomato. *J. Plant Physiol*. 141: 234-239

Wang, Y.C. 1996. Temperature preconditioning affects ascorbate antioxidant system in chilled zucchini squash. *Postharvest Biology and Technology* 8: 29-36.

Whitaker, D. B. 1993. Lipid changes in microsomes and crude plastid fractions during storage of tomato fruits at chilling and nonchilling temperatures. *Biochemistry*. 32 (2): 265-271.

Yoshida, S. 1994. Low temperature induced cytoplasmic acidosis in cultured Mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek ) cells. *Plant Physiol*. (104): 1131-1138.

**FECHA DE RECEPCIÓN: 09/10/02**

**FECHA DE ACEPTACIÓN: 05/12/02**

**DIRECCIÓN DE LOS AUTORES:**

Instituto de Investigaciones Tropicales (INTROPIC)- Universidad del Magdalena-Colombia. E-mail: rafaél.garcía@unimag.edu.co (RG). Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Frutas y Hortalizas de la Universidad Autónoma de Querétaro. (QRO)-México. E-mail: mercado@sunserver.uaq.mx (EMS).