

INFLUENCIA DE LA TUBERIZACION, EL ALMACENAMIENTO  
Y EL CLOROPROPHAM (CIPC) SOBRE LA ACTIVIDAD LACTICO DESHIDROGENASA EN  
TUBERCULOS DE PAPA (SOLANUM TUBEROSUM, L.) (\*)

CEFERINA ORDOÑEZ, MARIA C. CAMDESSUS y R. RUIZ (1)

Recibido: 27-10-87

Aceptado: 3- 6-88

RESUMEN

Se estudió la actividad láctico deshidrogenasa (LDH) en tubérculos de papa (*Solanum tuberosum, L.*), cultivares Ballenera y Kennebec.

La LDH se valoró en zumo por técnicas fotocolorimétricas, durante la tuberización (tandas), la cosecha y en material almacenado con tratamiento de 20 ppm de Cloroprotham (CIPC). También se cuantificaron materia seca (MS) y proteína soluble (PS).

Los perfiles LDH del cv Ballenera (ciclo largo) y del cv Kennebec (ciclo medio) fueron distintos en los tres "momentos" analizados.

El tratamiento con CIPC influyó en la actividad LDH. Testigos (Te) y tratadas (Tr) presentaron d.s. en ambos cvs. La máxima actividad LDH posterior a la cosecha se comprobó a los 152 días y 123 días para Ballenera y Kennebec respectivamente, tanto para Te como Tr. Las relaciones LDH-PS y LDH-MS no resultaron convincentes.

El conjunto de factores: pH del zumo, distribución porcentual de las distintas isoenzimas y/o cambios conformacionales de los protómeros constitutivos de éstas, podrían ser causales de la diversidad de actividades LDH observadas.

INFLUENCE OF TUBERIZATION, STORAGE AND CIPC TREATMENT ON THE  
LACTATE DEHYDROGENASE ACTIVITY IN POTATO TUBERS.

SUMMARY

Lactate dehydrogenase activity (LDH) on potato tubers (*Solanum tuberosum, L.*) Ballenera and Kennebec cultivars, was studied.

At different stages (tuberization and harvest) and on stored tubers, untreated and treated with 20 ppm of Cloroprotham (CIPC) LDH activity was quantified in potato juice. Dry matter (MS) and soluble protein (PS) in juice were also determined.

Cvs. Ballenera and Kennebec presented different patterns of LDH activity, at the three stages above mentioned. It was evident the relationship between LDH activity and crop cycle. LDH activity in treated tubers was statistical different from untreated ones in both cultivars.

Ballenera and Kennebec presented after harvest maximum LDH activity at 152 and 123 days, respectively (both treated and untreated tubers).

The relationships LDH-PS and LDH-MS were not consistent.

The juice, the different percentage of isoenzymes in the juice, and the conformational changes in the structure of isoenzymes could account for the observed differences in LDH activity.

(\*) Este trabajo está incluido en los siguientes planes de investigación:

"Curvas de tuberización y composición química de distintos cultivares de papa. Pérdida de peso durante el almacenamiento de papas tratadas con CIPC". Subsidiado por CONICET. PID N° 32.600/85 y "Curvas de tuberización, composición y calidad de papa para la industria. Acción del CIPC y temperatura en metabolismo". Subsidiado por SECYT. Resol. N° 1730-0193/85 y 1874-0235/85.

(1) Cátedra de Bioquímica. Facultad de Agronomía. UBA. Avda. San Martín 4453 (1417) Buenos Aires - Argentina -

## INTRODUCCION

La lácticodeshidrogenasa, oxidorreductasa (1.1.1.27.E.C.) es una enzima importante en el metabolismo de los hidratos de carbono (H de C) (Lehninger, 1978; Meltzer, 1981; Torres et al., 1983).

En los organismos animales, la LDH es una enzima órgano-específica y su cuantificación permite el seguimiento de las funciones normales y/o patológicas (Schmidt, 1966). Si bien en animales ha sido muy estudiada (Pesce et al., 1964; Heffron, 1979; Knoll, 1980; Meltzer, 1981), en los vegetales su naturaleza y sus funciones no son tan precisas (Jervis, 1981). En general se han extrapolado los conocimientos acerca de las isoenzimas LDH (iso E) de los animales a los vegetales (Jervis, 1981; Poerio y Davies, 1980).

El contenido de almidón de los tubérculos de papa en el almacenamiento disminuye por fenómenos respiratorios (Ordóñez et al., 1987 b). La LDH por su intervención en la glucólisis podría ser un marcador biológico útil de seguimiento de la acción de un inhibidor de la brotación (Cloroprotham o CIPC) en el metabolismo intermedio.

Teniendo en cuenta estos aspectos, en el presente trabajo se estudió la actividad LDH de tubérculos de dos cultivares de papa, en la tuberización, en el momento de cosecha y durante el almacenamiento de los mismos. Simultáneamente fueron evaluadas materia seca y proteína solubles del zumo para certificar si las diferencias observadas se debían o no a cambios en la actividad de la enzima.

## MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron tubérculos de papa, (*Solanum tuberosum*, L.) cultivares (cv's) Ballenera y Kennebec, cultivados en el Campo Experimental de la Cátedra de Horticultura de la Facultad de Agronomía (FAUBA). Durante la tuberización

se realizaron extracciones de muestras (tandas). El calendario de plantación y de extracciones o tandas se señala en el Cuadro N° 1 y las prácticas culturales realizadas, en el Cuadro N° 2.

### Almacenamiento

Después de la cosecha los tubérculos fueron almacenados en el depósito Arata, sitio fresco, seco, ventilado y en semipenumbra.

Se registraron diariamente la temperatura y humedad relativa ambiente con termohigrógrafo SIAP (-20°, + 40°C y 0-100% HR) durante todo el período de almacenamiento.

### Material almacenado

Testigo (Te) y tratadas (Tr) con una formulación espolvoreable de CIPC o Cloroprotham (1,2% p.a.) dosis aplicada 20 ppm. Te y Tr fueron dispuestos en bandejas de aluminio de 68 x 45 cm.

### Determinaciones

Materia seca (MS) según AOAC (1970), sobre triplicados; expresión de datos en g%.

Proteína soluble (PS) se valoró en zumo de papa, su obtención y cuantificación ya fue descrita (Ordóñez et al., 1987a). Se hicieron 10 repeticiones y los datos se expresaron en g/100ml de zumo.

Actividad LDH: se aplicó el método de King (Lab. Wiener, 1966) para la determinación fotocolorimétrica de LDH. Esta técnica fue adaptada para este material por la Ing. Agr. M.C. Camdessus. El zumo de papa fue obtenido según técnica anterior (Ordóñez et al., 1987) pero sin inhibición de latirosinasa por bisulfitado, ya que éste perturba a la LDH. Los valores se expresaron en mUI/ml de zumo.

Análisis estadístico: se determinaron valores promedio y desvíos estándar (DS). Se analizaron diferencias entre medias por el test "t" de Student con un nivel de significancia del 5% (Snedecor, 1966).

Cuadro N° 1: Calendario de plantación, extracciones o tandas y cosecha.

Plantación	tandas					20/1
	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	
23/8	20/10	19/11	6/12	20/12	6/1	

Cuadro N° 2: Prácticas culturales

Año	I	II	III	IV	V	VI	VII <sup>''</sup>
1983/84	+	+	+	+	-	+	+
1984/85	+	+	+	+	+	+	+
1985/86	+	+	+	-#	+	+	+

I : tratamiento de papa semilla con Tiabendazol 400 kg/ha

II : fertilización a la plantación (15:15:15) 470 kg/ha

III : carpidas

IV : aporques

V : Herbicidas (pre-emergencia) Metribuzin 1,5 litros/ha

VI : tratamientos sanitarios:  
trifenilacetato de estaño 500 g/ha + metamidofos 40 ml/100 litros

VII : riego

# sólo se realizó un medio aporque, el exceso de lluvias impidió el laboreo del terreno durante un lapso prolongado.

'' según necesidades de cultivo y condiciones climáticas

## RESULTADOS

### Cv Ballenera

En la Figura 1 se indica la actividad LDH de las muestras de Ballenera, campaña 1985/86. Las tandas 2da. y 3ra. presentaron valores que no difirieron estadísticamente; ambos valores son más bajos que los verificados en 4ta. y 5ta. tandas y el de cosecha (aproximadamente un 50% menor). Los valores de 2da. y 3ra. tanda son significativamente distintos de 4ta., 5ta y cosecha, pero éstos no difirieron estadísticamente entre sí.

Desde la cosecha y durante el almacenamiento se verificó una disminución de la actividad LDH, del 20/1 al 26/3; se estabilizó hasta el 12/5 y posteriormente aumentó en forma marcada aunque no se alcanzó el máximo valor comprobado "a la cosecha". Solamente los valores de LDH del período 26/3 al 12/5 no presentaron diferencias estadísticas, todos los demás valores analizados fueron estadísticamente distintos.

Considerándose los valores *Te* y *Tr* sólo los de las fechas 15/4 y 26/6 no difirieron significativamente.

El tratamiento con CIPC influyó en el material almacenado. Hasta los 2,5 meses de almacenadas las papas *Te* tuvieron mayor actividad que las *Tr*, luego éstas las superaron.

Las relaciones entre *PS* y actividad LDH no resultaron convincentes ni en *Te*, ni en *Tr*. Los valores de *MS* fueron relativamente constantes, alrededor del 20%.

### Cv Kennebec

El valor más elevado de LDH lo presentó la 1ra. tanda, descendiendo de esta extracción efectuada el 30/10/85 hasta el 9/4/86, durante el período de almacenamiento, incrementándose marcadamente y con fluctuaciones hasta el 2/6 (finalización del ensayo); los valores de este período no superaron al de cosecha.

Se comprobó que los pares de valores de tandas: 1ra.- 2da, 3ra.- 4ta., como así también 3ra. - cosecha y 4ta. - cosecha no diferían estadísticamente, sí presentaron diferencias significativas el par 2da. - 3ra. tanda.

Al considerarse los datos de *Te* y *Tr* se comprobó que en las fechas 9/4, 21/5 y 16/6 los mismos no difirieron significativamente.

Los valores de *PS* de *Te* superaron a los de *Tr*. Las variaciones de *PS* y las de las actividades LDH no presentaron el mismo perfil.

Los contenidos de *MS* de *Te* y *Tr* fueron relativamente constantes.

Comparándose ambos cultivares se deduce que los valores máximos de actividad LDH durante el almacenamiento demuestran la influencia del ciclo. Este máximo valor se presentó a los 152 días en Ballenera y a los 123 días en Kennebec. Según se muestra en las Figuras 1 y 2, para Ballenera *Te* y *Tr* la LDH fue 84 y 113 mUI/ml y para Kennebec 60 y 54, respectivamente. No se comprobaron relaciones convincentes entre las actividades LDH medidas y las concentraciones de *PS*.

## DISCUSION

La actividad LDH se relaciona preferentemente con el metabolismo anaeróbico de los H de C (Davies, 1972; Poerio y Davies, 1980; Oba et al., 1977; Jervies et al., 1981), pero cataliza otras reacciones; según se indica en el esquema.

En papas existen isoenzimas LDH: dos (Rothe et al., 1978); tres (Oba et al., 1977), cuatro o cinco (Muto et al., 1984) y cinco (Poerio y Davies, 1980; Jervis et al., 1981; Asker y Davies, 1984).

La iso  $E_1$  y la iso  $E_2$  preferentemente catalizan la reacción A. Asker y Davies (1984), demostraron que "in vivo" la iso  $E_1$  y la iso  $E_5$  presentaban baja afinidad por el piruvato y el  $NADH+H^+$  a pH 6,5. Los extractivos cru-

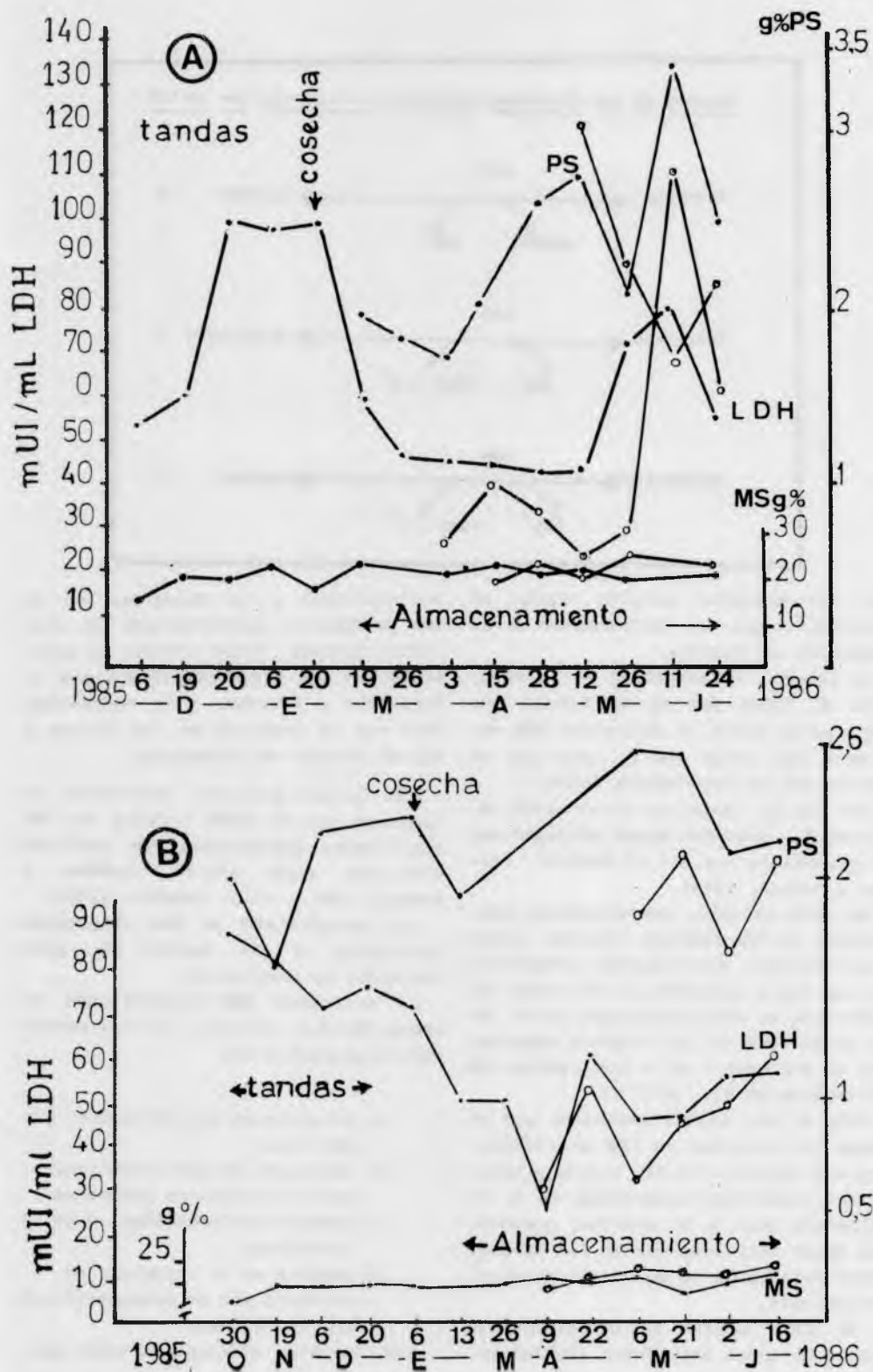
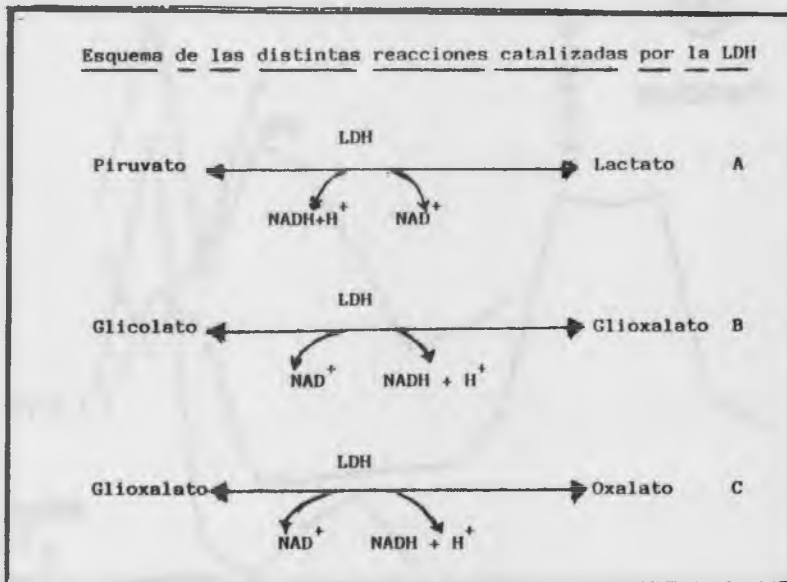


Figura 1: (A) - Ballenera, (B) - Kennebec  
 Te (testigo) ; Tr (tratamiento CIPC)



dos del presente estudio tenían pH 6,0-6,5, luego su contribución a la reducción es pequeña.

La iso  $E_4$  intervendría en la reacción C, tanto por la inhibición que ATP ejerce sobre la actividad LDH debida a las otras iso E, como por el efecto del pH ligeramente ácido.

La iso  $E_5$  cataliza la reacción B. La iso  $E_3$  presenta mayor afinidad por el glioxalato que por el  $\text{NADH+H}^+$  (Asker y Davies, 1984).

En este estudio, los distintos contenidos de PS podrían informar sobre una diferente distribución porcentual de las iso E presentes en el zumo del tubérculo en una determinada fecha. No se estableció si los efectos observados se debieron o no a los cambios de pH (Nowack et al., 1977 b).

Muto et al. (1984) indicaron que en papas los aumentos de LDH se relacionan con hipertrofia del tejido y tamaño del tubérculo, comprobado en el cv Ballenera que, a la cosecha, presentó una mayor actividad que en las tandas. Estas relaciones no se verifican en el cv Kennebec.

El CIPC afectó la actividad LDH global en ambos cvs. Nowak (1977a) indicó que el CIPC influye la biosíntesis proteica "de novo", los fenómenos

proteolíticos y la desagregación de los protómeros constitutivos de distintas enzimas. Estos efectos se manifestarían con diferente intensidad en Ballenera y Kennebec y se relacionarían con la longitud de los ciclos y con el período de dormancia.

En investigaciones anteriores se comprobó que el CIPC influye en las actividades enzimáticas con perfiles distintos según enzima (Ordoñez y Alonso, 1971 y 1973; Ordoñez, 1983).

La versatilidad de las respuestas biológicas a la acción de este inhibidor es manifiesta.

La actividad LDH cuantificada en ambos cvs fue distinta, lo cual podría ser consecuencia de:

- a) variaciones del pH tisular y/o del zumo
- b) variación de las concentraciones de isoenzimas presentes
- c) cambios conformacionales de la isoenzimas
- d) cambios en la velocidad de síntesis y/o de degradación de las isoenzimas.

Los factores mencionados como causales actuarían independientes o al unísono.

## CONCLUSIONES

- La actividad LDH en los tubérculos de papa:
- No se relaciona con los tenores de materia seca.
  - Se relaciona con los ciclos de los cvs Ballenera y Kennebec.
  - Se influye en forma diferente por el tratamiento con 20 ppm de cloropropham o CIPC.
  - No siempre se relaciona con los contenidos de proteína soluble, ni con sus variaciones.
- La diferente actividad LDH observada resultaría ser la consecuencia de las interacciones de diversos factores: pH del zumo, variación de los porcentuales de la isoenzimas iso E<sub>1</sub>, iso E<sub>2</sub>; iso E<sub>3</sub>, iso E<sub>4</sub> e iso E<sub>5</sub><sup>1</sup>; cambios conformacionales de los protómeros y ritmos distintos de proteosíntesis y proteólisis.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) AOCA. (1970). *Association of Agriculture Official Chemistry*, ed 11a. Washington USA.
- 2) ASKER, H., and D.D. DAVIES (1984). The physiological role of the isoenzymes of lactatedehydrogenase in potatoes. *Planta*, 161(3):272-280.
- 3) DAVIES, D.D., and S. DAVIES. (1972). Purification and properties of L(+) Lactatedehydrogenase from potato tubers. *Biochem.J.*, 129:831-839.
- 4) DAVIES, D.D., and H. ASKER (1983). Synthesis of oxalic acid by enzymes from lettuce leaves. *Plant. Physiol.*, 72:134-138.
- 5) HEFFON, J.J.A. (1979). What is the function of LDH isoenzymes? *Trends Biochem. Sci.*, 4, N° 133. *Op cit.* Asker H. and D.D. Davis (1984).
- 6) JERVIS, L. (1981). Characterization of potato (*Solanum tuberosum*) lactate dehydrogenase isoenzymes by affinity chromatography and hybridation. *Biochem. J.*, 197(3):755-758.
- 7) KNILL, H.R. (1980). Role of the muscle LDH subunit. *Trends Biochem. Sci.*, 5(9).
- 8) LABORATORIOS WIENER. Boletín informativo LDH (diciembre 1966).
- 9) LEHNINGER, A.L. (1978) "Bioquímica". ed 2da., Ed. Omega, Barcelona.
- 10) MELTZER, D.E. (1981) "Bioquímica". Las reacciones químicas en las células vivas. Ed. Omega, Barcelona.
- 11) NUTO, M., T. HASEGAWA, and T. SUSUKI. (1984). Localization and properties of lactate dehydrogenase in potato tubers. *J. Agric. Sci.(Japón)* 29(2):81-88.
- 12) HOWAK, J. (1977a). Biochemical changes in stored potato tubers with different rest periods - I- Influence of the storage temperature and isopropylphenylcarbamates (IPC and CIPC) on the protein changes. *Z. Pflanz.*, 81(2):113-124.
- 13) HOWAK, J. (1977b). -II- Influence of the storage temperature and isopropylphenylcarbamates on enzymes activities. *Z. Pflanz.*, 81(2):125-140.
- 14) OBA, K., S. MURAKAMI, and I. URITANI (1977). Partial purification and characterization of L- lactatedehydrogenase isoenzymes from sweet potato roots. *J. Biochem.*, 81(5):1193-1201.
- 15) ORDOÑEZ, Ceferina R., y Sara A. ALONSO (1971). Determinación por respirometría de la actividad glutámicodecarboxilasa en tubérculos de papa tratados con Cloropropham. *Rev. ABA.*, 36(194/195):132-135.



- 16) ORDOÑEZ, Ceferina R., Sara A. ALONSO (1973). Influencia del Cloropropham en la actividad fitásica de semillas de arvejas en germinación. *Rev. ABA.*, 38(209/210):260-265.
- 17) ORDOÑEZ, Ceferina R. (1983). Acción del Cloropropham en la actividad argininadecarboxilasa de semillas de arvejas en germinación. *Rev. Fac. Agron.*, 4(1):59-68.
- 18) ORDOÑEZ, Ceferina R., María C. CAMDESSUIS, Patricia POLITANSKY y R. RUIZ (1987). Cuantificación de proteína soluble en tubérculos de papa (*Solanum tuberosum*, L.) importancia y utilidad. *Rev. ABA*, 51(1/2):7-12.
- 19) ORDOÑEZ, Ceferina R., J.C. LIMONGELLI, A. CHIESA, María E. DAORDEN, María C. CAMDESSUIS, F.A. PAGANO y N. TURSE (1987b). Curvas de tuberización en papas (*Solanum tuberosum*, L.) y sus relaciones con el peso unitario, la materia seca y los hidratos de carbono no estructurales. (HCNE) *Gaceta Agronómica*, 7(39):376-391.
- 20) PESCE, A., R.H. Mc KAY, F. SLOLZENBACH, R.D. CAHN, and N.O. KAPLAN. (1964). The comparative enzymology of lactatedehydrogenase. *Biochem. J.*, 239:1753-1761.
- 21) POERIO, E., and E.D. DAVIES (1980). A comparison of potato and vertebrate lactatedehydrogenase, *Biochem. J.*, 191(2):341-348.
- 22) ROTHE, G.M., A. COPER, and W. BACHER (1978). Affinity chromatographic separation of plant lactatedehydrogenase. *Phytochem.*, 17(10):1701-1704.
- 23) SCHMIDT, E., y F.W. SCHMIDT. (1966). *Manual Enzimático. Diagnóstico Enzimático Práctico.* Departamento Bioquímico C.F. Boehringer y Soehnle GmbH Mannheim, Alemania.
- 24) SNEDECOR, G.W. (1966). "Métodos estadísticos aplicados a la investigación agrícola y biológica". ed. 2da., CECSA, México.
- 25) TORRES, H.N., H. CARMINATTI, y C.E. CARDINI. "Bioquímica General". ed. 1ra., Ed. El Ateneo, Buenos Aires.