

**ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS OXIDATIVAS EN TRIGO (*Triticum aestivum* L.)
CULTIVADO EN CUATRO AMBIENTES DEL SUR DE CHILE**

Zúñiga J.¹, Matus I.², Jobet C.³, Alfaro C.⁴ y Rathgeb P.¹

Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA)

1 Laboratorio Harinas No Convencionales, INIA Carillanca, Vilcún 2 Programa de Trigos, INIA Quilamapu, Chillán 3 Programa de Trigos, INIA Carillanca, Vilcún 4 Programa de Trigos, INIA Rayentué, Rengo

INTRODUCCIÓN: La importancia creciente de los granos enteros en la dieta estimula su incorporación en diversas clases de alimentos. Las enzimas oxidativas presentes en los granos enteros están asociadas a procesos bioquímicos como el pardeamiento, la descoloración y el enranciamiento, siendo factores importantes para la industria por su contribución al deterioro de los alimentos.

Las principales enzimas presentes en granos enteros del trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) son polifenol oxidasa (PPO), lipoxigenasa (LOX) y peroxidasa (POX). Estudios internacionales han mostrado que la actividad de dichas enzimas está influenciada por el genotipo y el ambiente, pero no hay estudios que demuestren su influencia a nivel de genotipos y condiciones de cultivo locales. Disponer de esta información permitiría identificar trigos con mejores aptitudes para desarrollar alimentos a base de granos enteros.

OBJETIVOS: Los objetivos del presente trabajo fueron a) evaluar la variabilidad de las actividades enzimáticas oxidativas PPO, LOX y POX en genotipos locales de trigo cultivados en el sur de Chile y b), estimar la contribución que podrían ejercer sobre ellas el genotipo y el ambiente de cultivo.

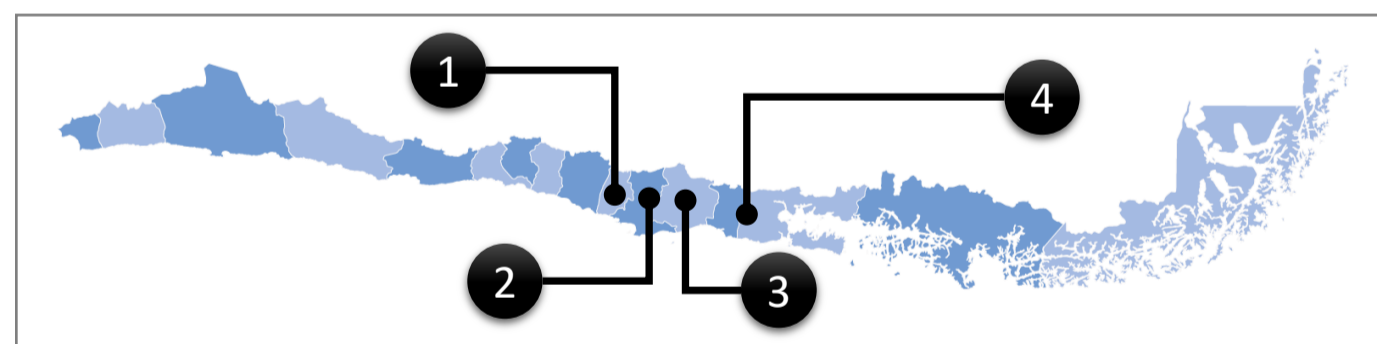
MATERIALES Y METODOS: Se midieron las actividades PPO, LOX y POX en 10 genotipos de trigo primaveral (Tabla 1) cultivados en 4 ambientes del sur de Chile (Tabla 2), utilizando métodos colorimétricos.

Tabla 1. Genotipos de trigo primaveral incluidos en el estudio.

Genotipos	Código
Ciko INIA	V1
QUP-3065-2001	V2
QUP-2510-2004	V3
QUP-2548-2002	V4
QUP-2563-2004	V5
QUP-2557-2002	V6
QUP-2544-2002	V7
QUP-2487-2005	V8
QUP-2461-2005	V9
Huarfil INIA	V10

Tabla 2. Localización geográfica de los sitios empleados para el cultivo de genotipos de trigo del estudio.

Sitio (Comuna, Región)	Código	Ref
Santa Rosa (Chillán, Ñuble)	qui	1
Humán (Los Angeles, Biobío)	hum	2
Carillanca (Vilcún, La Araucanía)	car	3
La Pampa (Purranque, Los Lagos)	rem	4



Las enzimas fueron extraídas en tampón fosfato 50mM pH 5.5 frío durante 2 horas a 4°C, y los extractos fueron clarificados mediante centrifugación a 8.000g por 15 min a 4°C.

Las actividades fueron ensayadas en condiciones de velocidad inicial máxima, en presencia de los sustratos respectivos. Las actividades se expresaron como cambio de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$)

- PPO: Sustrato fue L-DOPA. La actividad se midió en presencia de tampón MOPS 50mM pH 6.5. La temperatura de ensayo fue de 20°C y la absorbancia se midió a 475 nm (Anderson y Morris, 2001).
- LOX: Sustrato fue ácido linoleico. La actividad se midió en tampón fosfato 100mM, pH 6.5, en presencia de Tween 20. La temperatura del ensayo fue de 25°C y la absorbancia se midió a 234 nm (Xu y otros, 2011).
- POX: El sustrato fue peróxido de hidrógeno y el sustrato cromogénico fue ABTS. La actividad se midió en tampón acetato 100mM pH 5.5. La temperatura de ensayo fue de 20°C y la absorbancia se midió a 405nm (Hatcher y Barker, 2005).

Los efectos principales se analizaron mediante análisis de varianza de dos vías, y la relación entre las variables mediante PCA, utilizando el paquete estadístico R (R Core Team, 2021).

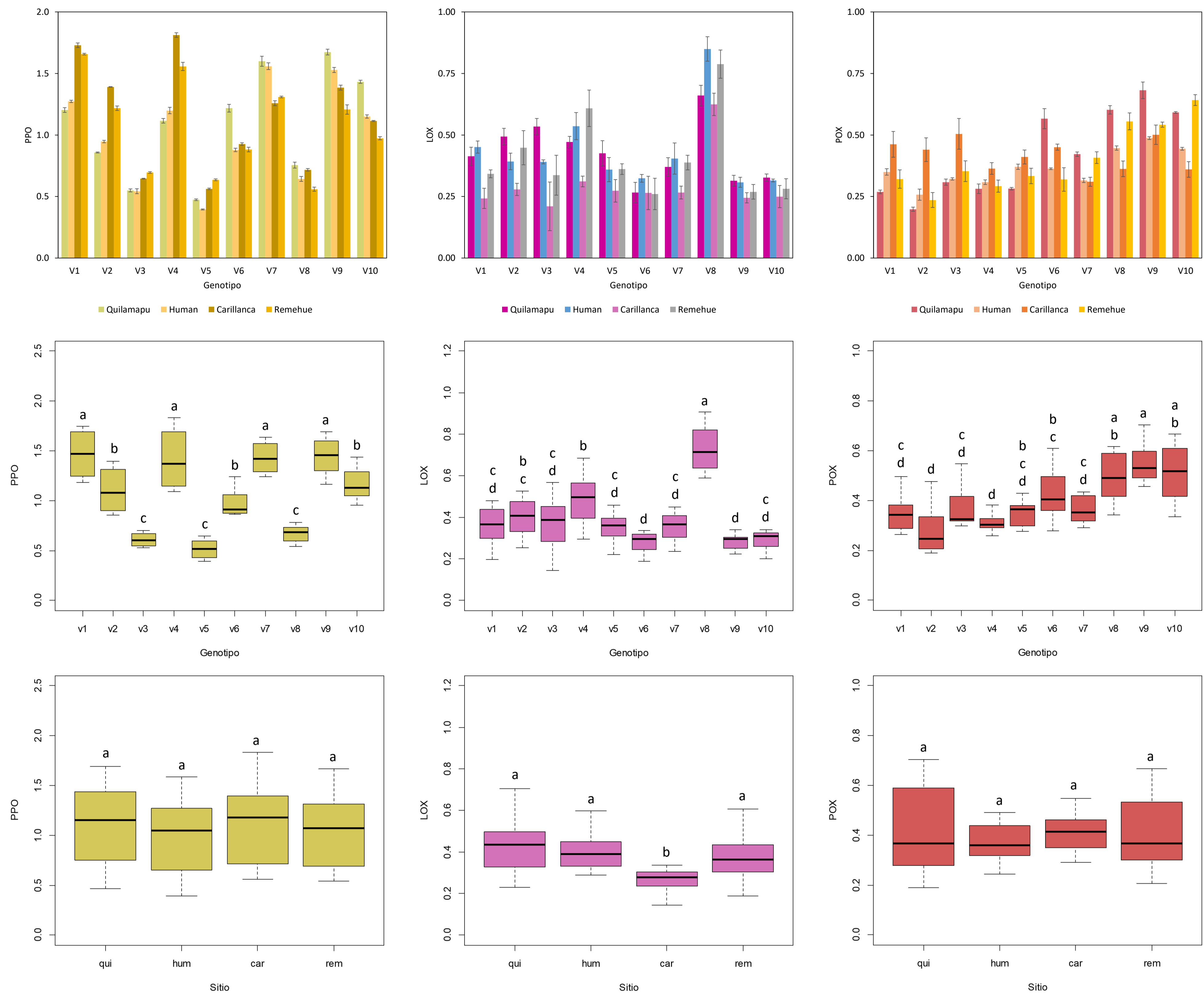


Figura 1. Actividades Polifenoloxidasa (PPO), Lipoxigenasa (LOX) y Peroxidasa (POX) en diez genotipos de trigo cultivados en cuatro ambientes del sur de Chile (Izquierda: PPO; centro: LOX; derecha: POX). A) Medias y desviaciones estándar (n=3) de las mediciones por genotipo y sitio. B) Boxplot actividades por genotipo. C) Boxplot actividades por sitio de cultivo. Letras señalan los grupos homogéneos identificados según test de Tukey HSD ($\alpha < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN: Las actividades máximas y mínimas detectadas para cada enzima se señalan en la Tabla 3. Los resultados indican que existe una alta diversidad en las actividades de las enzimas PPO, LOX y POX en los genotipos y sitios estudiados (Figura 1, Tabla 4). No se encontró evidencia de correlación entre las actividades medidas (Figura 2).

PPO: Medias de genotipos fueron estadísticamente significativas ($p < 0.001$). El test de Tukey HSD ($p < 0.05$) separó el conjunto en genotipos de alta, media y baja actividad. Medias de los sitios no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$). Se concluye que la variación observada se debió fundamentalmente al efecto del genotipo.

LOX: medias de genotipos fueron estadísticamente significativas ($p < 0.001$). El test de Tukey HSD ($p < 0.05$) separó los genotipos en cinco grupos homogéneos. Entre ellos destaca el grupo compuesto por el genotipo V8, que exhibió una actividad notoriamente más alta que el resto. Las medias de los sitios fueron estadísticamente significativas ($p > 0.001$). Carillanca se asoció con menores valores promedio de actividad LOX. La variación observada sería influenciada tanto por el genotipo como por el sitio de cultivo.

POX: Fue la actividad menos variable. Medias de los genotipos fueron estadísticamente significativas ($p < 0.001$). El test de Tukey HSD ($p < 0.05$) separó el conjunto en cinco grupos homogéneos. Las medias de los sitios no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$). Se concluye que la variación observada se debió fundamentalmente al efecto del genotipo.

Tabla 3. Máximos, mínimos y cociente de actividades PPO, LOX y POX medidas en trigos cultivados en el sur de Chile.

	PPO	LOX	POX
Máximo	1.811	0.849	0.681
Mínimo	0.395	0.210	0.199
Max/Min	4.6	4.0	3.4

Tabla 4. Significancia estadística del efecto del genotipo y el sitio sobre las actividades enzimáticas oxidativas PPO, LOX y POX en trigos cultivados en el sur del Chile.

Actividad	Genotipo	Sitio
PPO	$p < 0.001$	N.S
LOX	$p < 0.001$	$p < 0.001$
POX	$p < 0.001$	N.S.

N.S. No significativo ($p > 0.05$)

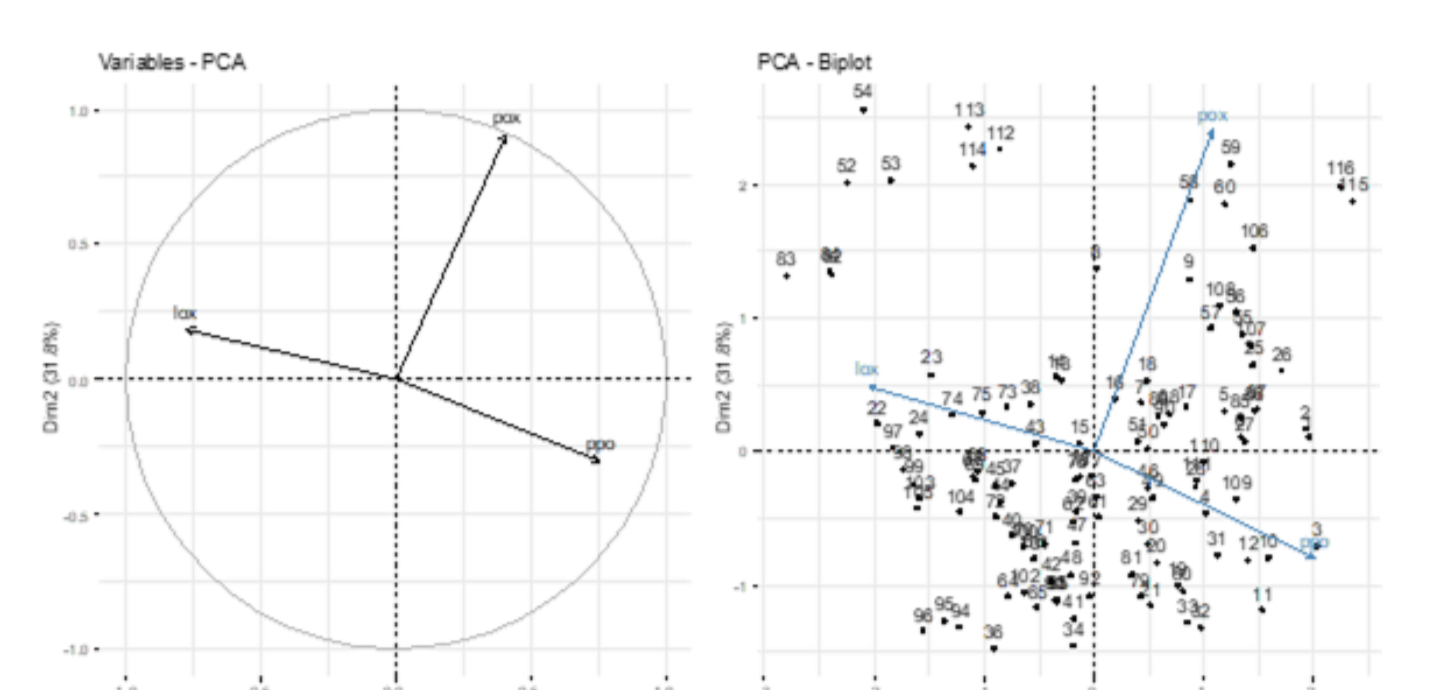


Figura 2. PCAs sobre actividades PPO, LOX y POX.

BIBLIOGRAFIA

Anderson y Morris (2001). Crop Science 41(6):1697–1705
Hatcher y Barker (2005). Cereal Chemistry 82(2): 233-237
R Core Team (2021) <https://www.R-project.org/>
Xu y otros (2011). Crops & Foods. 4(1): 26-32

AGRADECIMIENTOS

Proyecto 501197-70 Subsecretaría de Agricultura

