

Patrón de actividad de lipoxigenasa en relación con la maduración y senescencia de frutos de chayote (*Sechium edule* Jacq. sw.)

DEL ÁNGEL-CORONEL, Oscar Andrés*†, ROJAS-REYES, José Orlando, VELA-GUTIÉRREZ, Gilber y GARCÍA-GALINDO, Hugo Sergio

*Instituto Tecnológico Superior de Huatusco. Av. 25 Pte. No. 100 Col. Reserva Territorial. C.P. 94100. Huatusco, Veracruz, México. <oscardelangel.coronel@hotmail.com>

†Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos. Instituto Tecnológico de Veracruz. Calz. Miguel Ángel de Quevedo 2779. C.P. 91897. Veracruz, México.

Recibido 3 de Abril, 2015; Aceptado 25 de Junio, 2015

Resumen

El patrón de actividad de la enzima lipoxigenasa (LOX) (Linoleato:oxígeno oxidoreductasa EC 1.13.11.12), fue estudiada en frutos de chayote (*Sechium edule* Jacq. sw.) variedad *virens levis* y por vez primera se evaluó el efecto de esta enzima sobre el periodo completo de maduración y senescencia. La máxima actividad de LOX se registró 24 h después del corte con valores promedio de 377.1 unidades por mg de proteína por minuto. Esta actividad enzimática presentó correlación positiva alta con la mayor concentración de ácidos linoleico y linolénico, lo que sugiere que estos lípidos poliinsaturados pueden ser el principal sustrato de la enzima en el mesocarpio de chayote. Adicionalmente, también se midió la actividad enzimática relativa de LOX en otros órganos de la planta de chayote como la raíz, tallo y hoja, encontrándose una menor actividad comparada con la obtenida en frutos, por lo que es probable que esta mayor concentración de la enzima pueda tener relación con el carácter vivíparo del fruto.

Actividad enzimática, frutos no climatéricos, vida postcosecha, ácidos grasos poliinsaturados.

Abstract

The lipoxigenase activity pattern (LOX) (Linoleate:oxygen oxidoreductase EC 1.13.11.12) was studied in chayote fruit cv. *virens levis*. The enzyme effect in the whole ripening and senescence process was evaluated for first time in *Sechium edule* (Jacq.) Sw. At 24 h postharvest was recorded the maximum of LOX activity with an average of 377.1 units per mg of protein per min⁻¹. A positive correlation between enzymatic activity and the highest percentage of linoleic and linolenic acids may suggest that these polyunsaturated fatty acids may be the principal substrate for LOX in chayote fruit. In addition, relative enzymatic activity for LOX also was measured in other chayote plant tissue, as root, stem and leaves, but these were lower than fruit, it is probably due to the viviparous condition of *Sechium edule*.

Enzymatic activity, non-climacteric fruit, postharvest life, polyunsaturated fatty acids.

Citación: DEL ÁNGEL-CORONEL, Oscar Andrés, ROJAS-REYES, José Orlando, VELA-GUTIÉRREZ, Gilber y GARCÍA-GALINDO, Hugo Sergio. Patrón de actividad de lipoxigenasa en relación con la maduración y senescencia de frutos de chayote (*Sechium edule* Jacq. sw.). Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias 2015, 2-3: 490-499

* Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: oscarangel.coronel@hotmail.com)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

La lipoxigenasa (LOX) (Linoleato:oxígeno oxidoreductasa EC 1.13.11.12), también conocida como “lipoxidasa” y “caroteno oxidasa”, es una enzima de peso molecular cercano a los 100 kDa que ha sido reportada ampliamente en levaduras, algas, hongos, plantas y animales, que cataliza la incorporación de oxígeno molecular en los ácidos grasos poliinsaturados para formar ácidos grasos hidroperoxidados, y constituye una gran familia de isoenzimas que contienen hierro no hémico que le permite ser activada u oxidada por su propio producto lipídico hidroperoxidado (Forster et al., 1999; Feussner & Wasternack, 2002; Whitaker & Lester, 2006; Baysal & Demirdöven, 2007).

Muchas isoformas de LOX han sido identificadas en diferentes compartimentos celulares y su actividad ha sido asociada a membranas de diferente origen, como cloroplasto (Farmaki et al., 2007), mitocondrias (Braidot et al., 2004), cuerpos lipídicos (Hause et al., 2000), tonoplasto (Tranbarger et al., 1991) y membranas plasmáticas aisladas (Feussner & Wasternack, 2002), por lo que la presencia de un gran número de isoformas en diferentes compartimentos subcelulares dificulta la asignación de una función específica para cada una.

Se ha demostrado en frutos de tipo climatérico, como el jitomate, que la actividad de LOX está directamente relacionada con el proceso de maduración y senescencia, y que existen diversas isoformas de la enzima que actúan cada una en diferentes etapas del desarrollo del fruto y que pueden expresarse con cierta especificidad en diferentes partes de la planta.

Así, para jitomate, Griffiths et al. (1999) reportan cinco isoformas de LOX denominadas tomloxA, B, C, D, y E, de las cuales solo tomloxB se expresa únicamente en fruto y es asociada con los síntomas de ablandamiento y senescencia del mismo.

Por otra parte, existen evidencias que sugieren la participación de LOX durante la germinación de algunas especies de la familia Cucurbitácea –a la cual pertenece el chayote-, (Rudolph et al., 2011). Mientras que en otras especies no tan cercanas taxonómicamente a chayote, como algunas semillas de leguminosas (p.ej.: la soya), se ha propuesto que LOX está involucrada en la movilización de lípidos de reserva durante la germinación, y que durante este proceso solo se involucran algunas isoformas específicas que pueden participar ya sea a nivel de tejido parenquimático en cotiledón, o mayoritariamente a nivel de citoplasma y vacuolas de semillas germinadas (Wang et al., 1999). En semillas oleaginosas, como el girasol, Rodríguez et al. (1998) reportan el aumento de la actividad de LOX entre el día 0 y 9 de germinación asociada a híbridos con alto contenido de ácido linoleico, mientras que esta actividad disminuye cuando las concentraciones de oleico son mayores que de linoleico, por lo que dichos autores concluyen que los cuerpos lipídicos ricos en ácido oleico pueden actuar como un inhibidor de la actividad de la enzima en cotiledones de girasol. Por todo lo expuesto anteriormente, es factible que los frutos de chayote estén fuertemente influenciados por la actividad de LOX durante las etapas de maduración, germinación y senescencia, y que en cada una de estas etapas se activen diferentes isoformas de LOX.

Hasta el momento, solo los trabajos de Flick et al. (1977 & 1978) y Brunette & Flick (1977) han estudiado la actividad enzimática de lipoxigenasa, polifenol oxidasa y fosfatasa en etapas tardías de la maduración de frutos de *Sechium edule*, pero sin encontrar resultados concluyentes (ausencia de actividad), por lo que para el presente trabajo se estableció la hipótesis de que la enzima lipoxigenasa (LOX) podría jugar un papel fundamental en el deterioro de los frutos de chayote durante la maduración, y que también puede estar involucrada con el carácter vivíparo de la especie.

Materiales y metodos

Material vegetal

Un total de 40 frutos de chayote cv. *virens levis* en estado de madurez fisiológica (18-21 días post-antesis) fueron cosechados entre 7:00 y 9:00 am en un huerto comercial del municipio de Huatusco, Veracruz, México. Cada fruto fue lavado con agua y detergente líquido previo a la aclimatación en laboratorio a 25°C por un periodo de 29 días. Las evaluaciones de actividad enzimática se iniciaron 24 horas después de la cosecha (día uno) y las mediciones subsecuentes fueron evaluadas cada cuatro días (1, 5, 9, 13, 17, 21, 25 y 29) durante la vida postcosecha hasta que los frutos presentaron una apariencia totalmente inaceptable para el mercado.

Preparación de extracto crudo

La extracción de la enzima se obtuvo homogenizando 10 g de mesocarpio de fruto de chayote con 50 mL de agua destilada desionizada con ayuda de un Braun® Multipractic MR 400 HC de 200 W de potencia y frecuencia de operación de 60 Hz.

Posteriormente la mezcla fue centrifugada a 14,000 rpm a 4°C por 20 minutos en una centrífuga Allegra 64R (Beckman Coulter®) como se describe en Rojas et al. (2014). Finalmente, el sobrenadante que contiene a LOX fue filtrado con una membrana Millipore® de 0.22 µm para ser utilizado de inmediato, o en su defecto congelado a -70°C hasta su uso.

Actividad de lipoxigenasa

La actividad de LOX fue medida de acuerdo al método de Gökmen et al. (2002 & 2007), usando ácido linoleico como sustrato (93% de pureza, Sigma®). La solución sustrato fue preparada mezclando 157.2 µL de ácido linoleico con 157.2 µL de Tween® 20 y 10 mL de solución amortiguadora de fosfato de sodio 0.1 M pH 7.0. La solución fue clarificada por adición de 1 mL de NaOH 1 N y diluida a 200 mL con amortiguador de fosfato de sodio 0.1 M pH 7.0 para una concentración final de 2.5 mM de ácido linoleico (solución stock). La solución stock se almacenó en frasco ámbar y se mantuvo en refrigeración hasta su uso por no más de tres horas.

Posteriormente para los ensayos de actividad enzimática, 1.32 mL de solución stock fueron colocados en una celda de cuarzo (de 3 mL de capacidad) y se le añadieron 680 µL de amortiguador de fosfato de sodio 0.1 M pH 7.0 y 20 µL de extracto crudo enzimático. La preparación de la muestra blanco fue similar pero sin el extracto crudo, en su lugar se utilizó el mismo volumen de agua destilada desionizada estéril. Seguidamente, la actividad de LOX fue medida a 30°C por 10 minutos en intervalos de 30 s a 234 nm con un espectrofotómetro Beckman® DU 7500.

La actividad enzimática fue estimada en base a su velocidad inicial por un factor de dilución de 50 mL, donde una unidad de actividad de LOX fue definida como un incremento en la absorbancia de 0.001 a 234 nm por $\text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ de proteína bajo las condiciones de ensayo. Mientras que la actividad relativa de lipoxigenasa se expresó como porcentaje calculado como:

$$\text{Actividad relativa (\%)} = \frac{\text{Actividad en la muestra}}{\text{Valor de la actividad más alta}} * 100$$

Extracción de aceites totales, ácido linoleico y linolénico

Los aceites totales fueron extraídos por el método de Folch (1956) modificado por Olaeta et al. (1999) para extracción de aceites en productos vegetales, usando una proporción de 1:2:1 de cloroformo:metanol:cloroformo en el mesocarpio del fruto. Después de la extracción, las muestras de aceites fueron derivatizadas de acuerdo a la metodología de Ortega et al. (2004) e inyectadas en un cromatógrafo de gases HP 6890 para la obtención del perfil lipídico expresado como porcentaje del ácido graso. De todo el perfil obtenido se reportan únicamente los datos para ácido linoleico y linolénico como principales lípidos de interés en actividad de lipoxigenasa.

Diseño experimental y análisis de datos

Todos los datos de actividad de lipoxigenasa fueron sometidos a análisis de varianza de una vía y prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$), utilizando el programa estadístico de computo Minitab® v.17, bajo un diseño experimental completamente al azar. Adicionalmente también se realizó un análisis de correlación entre la actividad de la enzima y el contenido de ácidos grasos poliinsaturados (linoleico y linolénico)

Las lecturas de actividad se evaluaron cada cuatro días, iniciando desde las 24 h después del corte (día uno) hasta el día 29, con un total de ocho lecturas. La unidad experimental fue de un fruto y se midieron cinco repeticiones en cada lectura, para un total de 40 frutos. Para observar las tendencias de comportamiento de la enzima, los datos fueron graficados con ayuda del programa Sigma Plot v.10, usando los valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar ($P \leq 0.05$).

Resultados y discusión

Actividad enzimática durante la maduración

La actividad de LOX fue monitoreada en relación a todas las posibles alteraciones asociadas a la maduración de frutos de chayote durante la vida postcosecha, la cual comenzó con la colecta de frutos en una edad cronológica de 18 a 21 días post-antesis, hasta los 29 días de vida de anaquel a 25°C. Los ensayos espectrofotométricos del extracto de proteína cruda del mesocarpio de chayote revelaron un máximo de actividad enzimática a una absorbancia de 234 nm 24 horas después de que el fruto fue removido de la planta. De acuerdo con Yadav & Bhatla (2011), los ensayos espectrofotométricos para LOX son basados en el incremento en la absorbancia a 234 nm debido a la formación de enlaces dobles conjugados en el hidroperóxido formado durante la acción de LOX.

En la Figura 1 se muestra gráficamente el cambio que ocurrió en las unidades de actividad de LOX durante la vida de anaquel de los frutos de chayote. Donde una unidad de actividad enzimática se definió como un incremento en la absorbancia de 0.001 a 234 nm por minuto por miligramo de proteína, a pH 7.0 y 30°C (Gökmen et al., 2002).

Bajo estas condiciones, la mayor actividad de la enzima se registró en los primeros nueve días de evaluación observándose diferencias altamente significativas entre ellos ($P \leq 0.001$). Siendo el primer día de lectura (24 h después del corte) el que registró el valor más elevado con un promedio de 377.1 ± 82.4 unidades, seguido por los días cinco (221.9 ± 55.1 unidades) y nueve (52.47 ± 8.35 unidades), a partir del cual ya no se registraron diferencias estadísticas hasta el final del periodo evaluado.

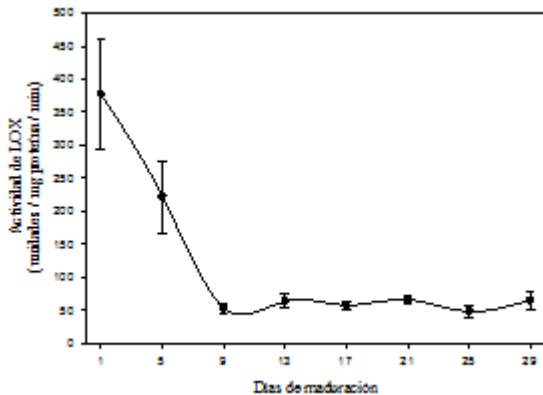


Figura 1 Actividad enzimática de LOX durante la vida de anaquel de frutos de chayote.

Al comparar estos valores de actividad de LOX en chayote con los reportados en otras especies, es posible notar que las unidades de actividad pueden diferir significativamente de un cultivo a otro, e inclusive entre tejidos diferentes en la misma planta. Así, por ejemplo, Gökmen et al. (2002) reportaron más de 1,000 unidades de actividad de LOX en chícharos verdes cuando las pruebas se ensayaban a 30°C . Mientras que Gökmen et al. (2007), registraron para trigo valores de alrededor de cinco unidades de actividad de la enzima bajo las mismas condiciones de temperatura (30°C), y valores máximos de siete unidades cuando la temperatura fue elevada a 40°C .

Otro ejemplo se observa en el trabajo de Seta et al. (2014) quienes reportaron cambios del orden de 0.4 y 1.0 unidades de actividad de LOX en óvulos de *Larix kaempferi* (Lamb) durante la megasporogénesis, específicamente entre la etapa de división celular de la megaspora madre y el desarrollo de la megaspora funcional. Otro trabajo que reporta variaciones interesantes en la actividad de LOX de semillas de pepino es el de Rudolph et al. (2011), sin embargo, sus datos son expresados como actividades relativas de la enzima por lo que no pueden hacerse comparaciones con respecto a las unidades de actividad registradas en chayote.

En cuanto al patrón de actividad de LOX observada en la maduración de frutos de chayote, no se encontraron referencias que mostraran una tendencia similar en otras especies de frutos. El patrón de actividad de la enzima en chayote fue decreciente en los primeros nueve días de maduración y posteriormente se estabilizó, justo antes de la aparición de los primeros brotes germinativos. Este tipo de tendencia, se ha reportado para otras enzimas características de pared celular como celulasa y xiloglucan-endotransglucosilasa (Payasi et al., 2009).

En algunas semillas oleaginosas, como el girasol, se ha reportado que el patrón de actividad de LOX puede estar asociada a la germinación de la semilla. Por ejemplo, Yadav & Bhatla (2011) observaron que no había cambio en la absorbancia a 234 nm cuando las semillas de girasol estaban en un estado de imbibición, indicando que la actividad de LOX era muy baja o completamente nula. Sin embargo, después de la germinación de las semillas la actividad se incrementó en el momento de aparición de plántula, pero después de esto disminuyó nuevamente.

Rudolph et al. (2011), en cotiledones de pepino observó que el primer producto de LOX, el 13-HPO, se genera desde las primeras horas de iniciada la germinación (12 h) y su concentración aumenta gradualmente hasta las 96 h después, a expensas del consumo del ácido linoleico (principal sustrato de LOX).

Correlación entre actividad de lipoxigenasa y contenido de ácidos linoléico y linolénico

La actividad de LOX presentó una ligera correlación negativa con la pérdida de peso y volumen del fruto ($r = -0.7$, en ambas variables), así como también una buena correlación positiva con las concentraciones de ácidos linoleico ($r = 0.85$) y linolénico ($r = 0.87$). Esto puede ser atribuido principalmente a dos factores: 1) la pérdida de agua ocasionada por la transpiración normal del tejido; y 2) la pérdida ocasionada por la desestabilidad estructural de las membranas celulares, debido a la liberación de fosfolípidos por acción de LOX, como se ha señalado en frutos como melón (Nuñez et al., 2008) y jitomate (Griffits et al., 1999b). De acuerdo con Rudolph et al. (2011), en pepino se observó la degradación de cuerpos lipídicos en las membranas de los cotiledones durante la germinación de las semillas y esto coincidió con la liberación de fosfolípidos de la membrana, donde el primer producto de LOX, el 13-HPO, fue medido desde una etapa temprana de la germinación (12-24 h) y su concentración fue aumentando gradualmente, mientras que el contenido de ácido linoleico esterificado (sustrato de LOX) disminuyó de $875 \text{ nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$ después de 18 h hasta $220 \text{ nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$ después de 96 h de haber iniciado el proceso germinativo, lo que representó una pérdida del 75% del ácido graso. Estos autores sugieren que hubo una movilización de éstos lípidos para ser usados como fuente de carbono para el crecimiento del brote vegetativo en la etapa de post-germinación.

Los hidroperóxidos derivados de la actividad de LOX no fueron medidos en el presente trabajo, sin embargo, dado que la máxima acción enzimática mostró correlación positiva con la máxima concentración de ácido linoleico y ácido linolénico en mesocarpio, es posible sugerir una relación directamente proporcional, donde a mayor concentración de estos ácidos grasos corresponde una mayor actividad relativa de LOX (Figura 2). Esto ha sido propuesto por Rodriguez et al. (1998) para semillas híbridas de girasol ricas en ácido linoleico. Por otra parte, cuando las cantidades de ácido linoleico y linolénico disminuyeron entre el día 1 y 13, también la actividad enzimática mostró un decremento altamente significativo ($P \pm 0.001$) pasando desde un 100% de actividad relativa hasta un $18.2 \pm 4.4\%$ en el mismo tiempo (Figura 2).

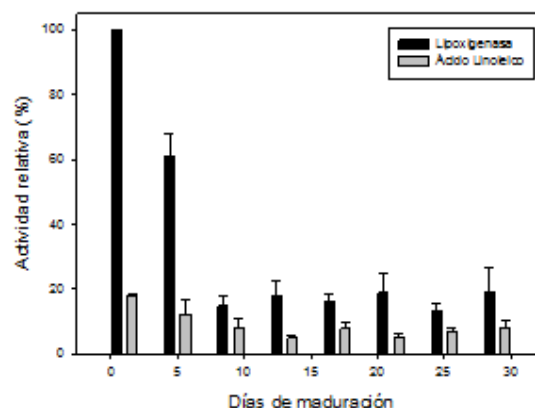


Figura 2 Actividad relativa de LOX en relación al contenido de ácido linoléico en chayote.

Estos resultados sugieren que el ácido linoleico y linolénico pueden ser los principales sustratos de LOX en frutos de chayote. Aunque no existen referencias para *S. edule*, la hipótesis puede ser soportada por los numerosos reportes que señalan que los sustratos de LOX son predominantemente los ácidos linoleico y linolénico, y cuya abundancia en plantas superiores coincide con la ocurrencia de múltiples isoformas específicas de LOX que oxigenan estos ácidos grasos poliinsaturados, justo después de la inducción de fosfolipasas.

Por varios estresores que son disparados después de la disrupción de membranas celulares (Baysal et al., 2007; Gökmen et al., 2007; Boeglin et al., 2008; Dainese et al., 2010; Lemeza et al., 2010). De acuerdo con Maaleku et al. (2006), la actividad de LOX juega un papel clave en el contenido de lípidos y preservación de la integridad de las membranas. Estos autores sugieren que la utilización de los ácidos linoleico y linolénico por actividad de LOX resulta en un daño de las membranas por reducción de su contenido lipídico en chile, por lo que ellos asocian una mayor degradación de los ácidos grasos de la membrana con un aumento en la presencia de otros ácidos grasos libres y una mayor pérdida de agua de fruto.

Por tanto, el papel de la actividad de LOX en relación al contenido de los ácidos grasos libres en chayote, y especialmente los ácidos linoleico y linolénico, así como la pérdida de peso de fruto, pueden sugerir que durante la maduración del fruto, el cambio en estas variables ocurre por la degradación de las membranas, y de manera adicional, es probable que exista una relación con el evento de germinación de frutos de chayote, ya que este evento coincidió con el momento en el cual el ácido linoleico y linolénico disminuyeron hasta alcanzar una concentración mínima constante en el día 13 de evaluación, justo cuando fueron observados los primeros síntomas de aparición de brote en un 12.5% de los frutos evaluados. Aunque este comportamiento se asemeja a lo reportado por Rudolph et al. (2011) para semillas de pepino, se requerirán investigaciones posteriores para determinar si el papel de LOX también está directamente asociado al proceso de germinación en semillas de chayote.

Actividad relativa de lipoxigenasa en planta y fruto

La actividad enzimática de LOX exhibió diferentes respuestas dependiendo de la fuente del tejido evaluado. El análisis de varianza reveló que la máxima actividad relativa fue registrada en mesocarpio de fruto (100% de actividad relativa), la cual fue significativamente diferente de los porcentajes registrados para los tejidos de hoja ($74.6 \pm 9.9\%$), tallo ($54.9 \pm 6.8\%$) y raíz ($39.1 \pm 8.7\%$). La presencia de LOX en diferentes órganos de la planta de chayote puede observarse de manera gráfica en la Figura 3.

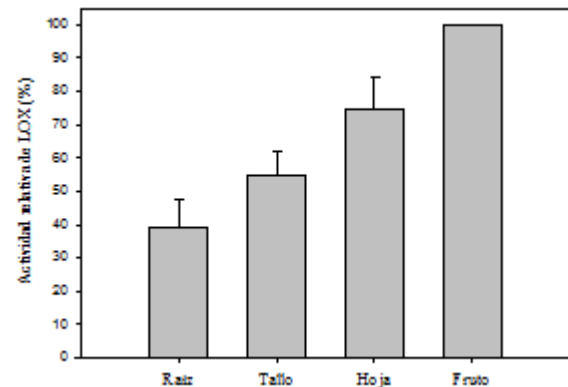


Figura 3 Actividad relativa de LOX en diferentes tejidos de chayote.

La presencia de LOX en diferentes órganos de la planta de chayote está bien justificada debido a que la enzima está implicada en varios procesos fisiológicos, tales como la señalización, respuesta a condiciones de estrés abiótico, mecanismos de defensa contra ataques de patógenos, crecimiento y desarrollo (Seta et al., 2014), mientras que en fruto su presencia se ha asociado a la desregulación del funcionamiento de las membranas, acelerando el proceso de maduración y/o senescencia (Griffiths et al., 1999; Rudolph et al., 2011). En adición a lo anterior, la presencia de LOX también ha sido demostrada en diferentes órganos de plantas superiores, como semillas, cotiledones, plántulas, raíces, hojas.

Frutos, flores, inflorescencias y anteras de diversas especies vegetales (Rudolph et al., 2011; Seta et al., 2014), sin embargo, en todos estos reportes la actividad de la enzima solo muestra para un solo órgano de la planta, sin mostrar ningún comparativo entre las diferentes estructuras de la planta, como el que es presentado aquí para chayote.

Conclusiones

La actividad de la enzima lipoxigenasa fue medida por vez primera en durante un periodo largo de vida de anaquel de frutos de chayote, observándose que los valores más altos de actividad enzimática se obtienen entre el día 1 (377.1 unidades por mg de proteína por minuto) y el día 13, momento a partir del cual empezaron a observarse los primeros síntomas de aparición de brotes en frutos. La alta correlación positiva observada entre la mayor actividad de LOX en los primeros días postcosecha con respecto a los altos niveles de ácidos linoleico y linolénico sugieren también que estos lípidos pueden ser los principales sustratos de la enzima en chayote, jugando un papel fundamental en el metabolismo de hidroxidación de membranas, acelerando la deshidratación y senescencia del fruto, así como la aparición de brotes germinados. Al evaluar la actividad relativa de LOX en hojas, raíces y tallos se observó que éstos órganos contienen menor actividad que la registrada en los frutos, por lo que la función de esta enzima en la planta de chayote puede estar más relacionada con los mecanismo de defensa y respuesta a daños físicos, mientras que en frutos puede ser asociada con la desregulación de membranas y la aceleración del proceso de senescencia y germinación.

Referencias

- Baysal, T.; A. Demirdöven. 2007. Lipoxygenase in fruits and vegetables: a review. *Enzyme and Microbial Technology*, 40: 491-496.
- Braidot, E.; E. Petrusa; S. Micolini; F. Tubaro; A. Vianello; F. Macrì. 2004. Biochemical and immunochemical evidences for the presence of lipoxygenase in plant mitochondria. *Journal of Experimental Botany*, 55(403):1655-1662.
- Boegling, W.E.; A. Itoh; Y. Zheng; G. Coffa; G.A. Howe; A.R. Brash. 2008. Investigation of substrate binding and product stereochemistry issues in two linoleate-9-lipoxygenases. *Lipids*, 43: 979-987.
- Burnette, F.S.; Flick, G.J. 1977. Acid-Phosphatase Activities of Skin, Flesh, and Seed in *Sechium-edule*, Sw, Chayote. *Journal of Food Protection*, 40: 373-374.
- Dainese, E.; C.B. Angelucci; A. Sabaticci; V. De Filippis; G. Mei; M. Maccarrone. 2010. A novel role for iron in modulating the activity and membrane-binding ability of a trimmed soybean lipoxygenase-1. *FASEB Journal*, 24: 1725-1736.
- Farmaki, T.; M. Sanmartín; P. Jiménez; M. Paneque; C. Sanz; G. Vancanneyt; J. León; J.J. Sánchez-Serrano. 2007. Differential distribution of the lipoxygenase pathway within potato chloroplasts. *Journal of Experimental Botany*, 58(3): 555-568.
- Feussner, I.; C. Wasternack. 2002. The lipoxygenase pathway. *Annual Reviews in Plant Biology*, 53: 275-297.

- Flick, G.J.Jr.; F.S. Burnette; L.H. Aung; R.L. Ory; A.J. St. Angelo. 1978. Chemical composition and biochemical properties of mirlitons (*Sechium edule*) and purple, green and white eggplants (*Solanum melongena*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(5):1000-1005.
- Flick, G.J.Jr.; L.H. Aung; R.L. Ory; A.J. St. Angelo. 1977. Nutrient composition and selected enzyme activities in *Sechium edule*, Sw, The Mirliton. *Journal of Food Science*, 42:11-13.
- Folch, J.; M. Lees; G.H. Sloane-Stanley. 1956. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, (-): 497-509.
- Forster, C.; H. North; N. Afzal; C. Domoney; A. Hornostaj; D.S. Robinson; R. Casey. 1999. Molecular analysis of a null mutant for pea (*Pisum sativum* L.) seed lipoxygenase-2. *Plant Molecular Biology*, 39: 1209-1220.
- Gökmen, V.; S. Bahçeci; J. Acar. 2002. Characterization of crude lipoxygenase extract from green pea using a modified spectrophotometric method. *European Food Research and Technology*, 215: 42-45.
- Gökmen, V.; A. Serpen; A. Atli; H. Köksel. 2007. A practical Spectrophotometric approach for the determination of lipoxygenase activity of durum Wheat. *Cereal Chemistry*, 84: 290-293.
- Griffiths, A.; C. Barry; A.G. Alpuche-Solis; D. Grierson. 1999a. Ethylene and developmental signals regulate expression of lipoxygenase genes during tomato fruit ripening. *Journal of Experimental Botany*, 50(335): 793-798.
- Griffiths, A.; S. Prestage; R. Linforth; J. Zhang; A. Taylor; D. Grierson. 1999b. Fruit-specific lipoxygenase suppression in antisense-transgenic tomatoes. *Postharvest Biology and Technology*, 17: 163-173.
- Hause, B.; H. Weichert; M. Hohne; H. Kindl; I. Feussner. 2000. Expression of cucumber lipid-body lipoxygenase in transgenic tobacco: lipid-body lipoxygenase is correctly targeted to seed lipid bodies. *Planta*, 210: 708-714.
- Lemeza, O.V.; Y.O. Zubo; V.V. Kusnetsov. 2010. Regulation of lipoxygenase gene expression in potato mini-tubers by phytohormones. *Russian Journal of Plant Physiology*, 57: 715-719.
- Maalekuu, K., Elkind, Y., Leikin-Frankel, A., Lurie, S., Fallik, E., 2006. The relationship between water loss, lipid content, membrane integrity and LOX activity in ripe pepper fruit after storage. *Postharvest Biology and Technology*, 42: 248-255.
- Nuñez-Palenius, H.G.; M. Gómez-Lim; N. Ochoa-Alejo; R. Grumet; G. Lester; D.J. Cantliffe. 2008. Melon fruits: Genetic diversity, physiology, and biotechnology features. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28:13-55.
- Olaeta, J. A.; Undurraga, P.; Schwartz, M. 1999. Determinación de la evolución y caracterización de los aceites en paltas (*Persea americana* Mill.) cvs. Fuerte y Hass cultivados en Chile. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 5:117-122.
- Ortega, J., A. López Hernández, H. S. García, C. G. Hill Jr. 2004. Lipase-mediated acidolysis of fully hydrogenated soybean oil with conjugated linoleic acid. *Journal of Food Science*, 69(1). Published on web 12/05/2003.

Payasi, A.; N.N. Mishra; A.L. Soares-Chavez; R. Singh. 2009. Biochemistry of fruit softening: an overview. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 15: 103-113.

Rodríguez-Rosales, M.P.; L. Kerkeb; N. Ferrol; J.P. Donaire. 1998. Lipoxygenase activity and lipid composition and oil bodies of two sunflower hybrids. *Plant Physiology and Biochemistry*, 36(4): 285-291.

Rojas-Reyes, J.O.; V. Robles-Olvera; O. Carbajal-Zarrabal; C. Castro-Matines; K.N. Waliszewski; M.G. Aguilar-Uscanga. 2014. Purification and characterization of peroxidase from avocado (*Persea americana* Mill, cv. Hass). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94: 1844-1853.

Rudolph, M.; A. Schlereth; M. Körner; K. Feussner; E. Berndt; M. Melzer; E. Hornung; I. Feussner. 2011. The lipoxygenase-dependent oxygenation of lipid body membranes is promoted by a patatin-type phospholipase in cucumber cotyledons. *Journal of Experimental Botany*, 62(2): 749-760.

Seta-Koselska, A.; E. Szczuka; M. Spaczynski; E. Skorzynska-Polit. 2014. Activity and localization of lipoxygenase in the ovule of *Larix kaempferi* (Lamb.) Carr. During megasporogenesis. *Plant Growth Regulators*. DOI 1007/s10725-014-9987-8.

Tranbarger. T.J.; V.R. Franceschi; D.F. Hildebrand; H.D. Grimes. 1991. The soy-bean 94- kilodalton vegetative storage proteine is a lipoxigenase that is localized in paravenial mesophyll cell vacuoles. *Plant Cell*, 3: 973-987.

Yadav, M.K.; S.C. Bhatla. 2011. Localization of lipoxygenase activity on the oil bodies and in protoplast using a novel fluorescence imaging method. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49: 230-234.

Wang, C.; K.P.C. Croft; U. Järlfors; D.F. Hildebrand. 1999. Subcellular localization studies indicate that lipoxygenases 1 to 6 are not involved in lipid mobilization during soybean germination. *Plant Physiology*, 120: 227-235.

Whitaker, B.D.; G.E. Lester. 2006. Cloning of phospholipase D α and lipoxygenase genes CmPLD α 1 and CmLox1 and their expression in fruit, floral and vegetative tissues of 'Honey Brew' hybrid honeydew melon. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 131(4): 544-550.