



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA.

**MONITOREO DE INHIBIDORES DE TRIPSINA Y
HEMAGLUTININAS DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE
14 VARIEDADES COMERCIALES DE PAPA.**

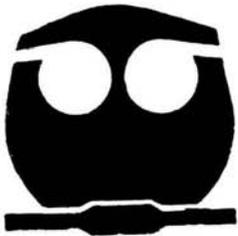
T E S I S.

PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA DE ALIMENTOS

P R E S E N T A:

Sonia Maria Guadalupe Téllez Luna



Mexico D.F. a



del 2004.

EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO.

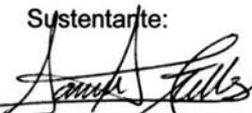
Presidente: Prof. Angela Sotelo López.
Vocal: Prof. Bernardo Lucas Florentino.
Secretario: Prof. Francisca Iturbe Chinas.
Primer Suplente: Prof. Lucía Cornejo Barrera.
Segundo Suplente: Prof. Leticia Gil Vieira.

Sitio en donde se desarrolló el tema:

Lab. 111, del Departamento de Farmacia. Conjunto E, Facultad de Química.

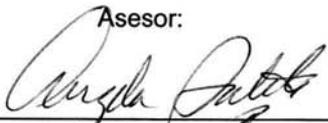
Universidad Nacional Autónoma de México.

Sustentante:



Sonia María Guadalupe Téllez Luna.

Asesor:



M. en C. Angela Sotelo López.

Dedicatorias

A mis padres Sergio Téllez y Margarita Luna, que por sobre todas las cosas me enseñaron juntos los valores que ahora orgullosa mantengo, de todo corazón les digo que esta es su obra, que siempre me brindaron toda su confianza y apoyo para seguir, por ser tan fuertes y por haber estado siempre conmigo, los quiero mucho.

A mis hermanos Omar, Sergio por ser ejemplos vivos de constancia y disciplina, por empujarme al logro de este objetivo, como siempre y toda la vida, estoy orgullosa de ustedes. **A mi hermano Rodrigo** para que continúe la escuela de la familia. Gracias a los tres por su apoyo incondicional.

A mis tíos Ramón y Gonzalo Téllez por apoyarnos en cada momento, por enseñarme a que siempre hay que esforzarse para el logro de metas personales y profesionales.

Especial dedicatoria a **la maestra Angela y al profesor Guillermo** por su incondicional atención y tiempo dedicado tanto al trabajo como a mi como persona.

A mis abuelitos, en especial a mi abue Jose Luna ^(*), así como a mi tía Conchita ^(*), gracias por todo el amor que siempre me brindaron.

Agradecimientos.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por darme la oportunidad de recibir educación y de pertenecer a esta gran Institución, en especial a la Facultad de Química.

A todos aquellos profesores que me apoyaron durante mi camino profesional y personal. A la M. en C. Angela Sotelo López, por la oportunidad que me brindó para titularme, al M. en C. Guillermo Molina, por su tiempo y disposición para asesorarme, al M. en C. Bernardo Lucas y a la M. en C. Francisca Iturbe Chinas por su apoyo y confianza otorgada para el logro de éste objetivo.

Al Dr. Antonio Rivera Peña por proporcionarme sus mas recientes publicaciones para actualizar y mejorar la calidad de información.

A mis amigos Manuel Villa, Vane Gonzalez, Lety Cruz, Karla Vega, Jose Nuñez e Israel Bautista por compartir conmigo "pequeños pero grandes momentos", admiro mucho su valor para todo lo que hacen, los quiero mucho.

Al Ing. Eric Huesca, por fin Ingeniero, aquí esta, gracias por tu apoyo como siempre, por conducirme en este trabajo, pero sobre todo por tu amistad.

A la familia Ruiz Martinez, en especial a ti Luis, por haberme esperado tanto tiempo, porque desde que nos conocimos has estado conmigo y me has brindado toda tu alegría y tu apoyo, por enseñarme a vivir, por enseñarme a amar, por reir conmigo, por ser ante todo mi mejor amigo.

INDICE

| | |
|---|-------|
| Resumen | 1 |
| 1. Introducción | 2-3 |
| Justificación | 4 |
| 2. Objetivos | 5-6 |
| 3. Antecedentes | 7-48 |
| 3.1 Generalidades de la papa | |
| 3.1.1 Importancia del cultivo de papa | 8 |
| 3.1.2 Situación del cultivo de papa a nivel mundial | 8-10 |
| 3.1.3 Historia del cultivo | 10 |
| 3.1.4 Morfología y anatomía de la papa | 11-14 |
| 3.1.5 Requerimientos agrícolas y ecológicos | 15-16 |
| 3.1.6 Composición química y valor nutritivo | 16-21 |
| 3.1.7 Principales pérdidas postcosecha | 21-24 |
| 3.1.8 Importancia del mejoramiento genético | 24-25 |
| 3.1.9 Propiedades sensoriales y especificaciones químicas | 25 |
| 3.1.10 Variedades de papa que se cultivan en México | 25-29 |
| 3.2 Almacenaje de la papa | |
| 3.2.1 Importancia del almacenaje. | 29-30 |
| 3.2.2 Consideraciones fisiológicas durante el almacenaje | 30-32 |
| 3.2.3 Metabolismo durante el almacenaje | 32 |

| | | |
|---------|-------------------------------------|-------|
| 3.3 | Factores tóxicos | 33-35 |
| 3.3.1 | Lectinas | 35 |
| 3.3.1.1 | Historia y definición de lectinas | 36 |
| 3.3.1.2 | Propiedades generales | 37-38 |
| 3.3.1.3 | Localización y clasificación | 38 |
| 3.3.1.4 | Lectina de papa y su actividad | 39 |
| 3.3.1.5 | Posibles acciones | 39-40 |
| 3.3.1.6 | Efectos biológicos | 40 |
| 3.3.1.7 | Métodos de eliminación o prevención | 41 |
| 3.3.2 | Inhibidores de proteasas | 41 |
| 3.3.2.1 | Clasificación de inhibidores | 42-45 |
| 3.3.2.2 | Inhibidores de la papa | 46 |
| 3.3.2.3 | Localización | 47 |
| 3.3.2.4 | Efectos biológicos | 47 |
| 3.3.2.5 | Métodos de eliminación o prevención | 47-48 |
| 4. | Parte experimental | |
| 4.1 | Preparación de muestra | 49 |
| 4.2 | Determinación de Inhibidores | 50-51 |
| 4.3 | Determinación de hemaglutininas | 52 |

| | |
|--|-------|
| 5. Resultados y análisis de resultados | |
| 5.1 Inhibidores de tripsina | 53-64 |
| 5.2 Hemaglutininas | 65-73 |
| 6. Conclusiones | 74-75 |
| 7. Bibliografía | 76-79 |

RESUMEN.

Este trabajo es una contribución más al estudio de las 14 variedades de papa comerciales *Solanum tuberosum* que se cultivan en México y que fueron proporcionadas por el INIFAP (Instituto Nacional de Investigación Forestal Agrícola y Pecuaria). De los cultivos en México el de la papa ocupa el sexto lugar en importancia como alimento de consumo del pueblo, después del maíz, el frijol y el chile, sin embargo la papa contiene un gran valor agregado ya que tiene el mayor valor nutricional por unidad de superficie cosechada que muchos otros cultivos, posee proteína de buena calidad con alto contenido de lisina.

Al analizar el contenido de lectinas e inhibidores de tripsina de 14 variedades de papa durante periodos prolongados de almacenamiento, se determinó la existencia de diferencias significativas tanto para tiempos como para variedades en ambos análisis. En el caso de inhibidores de tripsina los valores mas altos se presentaron en las papas recién cosechadas, disminuyendo a medida que transcurría el tiempo de almacenamiento. De manera contraria para el caso de lectinas en donde se observó como tendencia general un incremento al aumentar los días de almacenaje, marcando la diferencia a partir de los 60 días de almacenaje.

Las variedades mexicanas Rosita y Tolloca fueron las mas parecidas en los contenidos y comportamiento de la variedad importada Alpha, tanto en el incremento del contenido de lectinas conforme transcurrió el tiempo de almacenaje, así como en la disminución de unidades de tripsina inhibida. Por lo que se sugiere que sean estas tres las variedades que valdría seguir estudiando, ya que además son las variedades que mas se cosechan a la fecha.

1. INTRODUCCION.

El constante crecimiento de la población mundial y la preocupante disminución de la superficie cultivable constituyen el mayor reto al que se enfrenta la agricultura en la actualidad, además del mal manejo poscosecha de cultivos hortofrutícolas debido a los problemas de almacenamiento, por lo que se considera que las variedades mejoradas genéticamente serán la forma más confiable y ambientalmente más aceptable para garantizar las futuras cosechas del mundo¹.

La papa *Solanum tuberosum* L., pertenece a la familia *Solanacea*, este tubérculo se caracteriza por su elevado contenido de carbohidratos y aproximadamente un 2% de proteína de buena calidad, ocupa el sexto lugar en importancia como alimento del pueblo mexicano. Más de mil millones de personas en el mundo consumen papa (de este total, más de la mitad son habitantes de países en desarrollo) lo anterior, aunado a la creciente demanda de alimentos y a la falta de métodos para conservar adecuadamente grandes volúmenes de papa, ha incrementado el interés por buscar nuevos métodos de conservación para evitar la mayor cantidad de pérdidas tanto físicas como biológicas¹.

Las perspectivas que se tienen tanto de producción de papa, así como los incrementos de consumo a nivel mundial son muy halagadoras, por lo que la investigación se vuelve cada vez mas importante. Existe evidencia científica de que se encuentran presentes lectinas e inhibidores de tripsina, dos importantes factores antinutricionales en la papa, pero no se conoce si ocurren cambios durante su almacenamiento, por lo que en este trabajo se da a conocer el comportamiento de estos factores antinutricionales, analizándose 14 variedades a 4

diferentes tiempos de almacenaje simulando el tiempo que se tardaría para llegar al consumidor final.

En relación a las variedades de papa sembradas en México se debe hacer notar que el 64% de la superficie se siembra con variedades extranjeras entre las que destacan: Alpha (40% de la superficie nacional), Atlantic (7%), Mondial (5%) y Gigant (5%). Las variedades mexicanas que se siembran en el 36% de la superficie sobresalen: Rosita (15%), Marciana (6%), Tollocan (6%) y San José (5%). Las variedades mexicanas antes mencionadas aunque no se encuentran inscritas en programas de certificación se siembran en el centro del país, por su resistencia al tizón tardío. México esta obligado a mejorar la productividad que actualmente es de 20 ton/ha y poder competir con los Estados Unidos que es de 36 ton/ha y Canadá de 27 ton/ha^{3,4}.

Por lo tanto, resulta relevante evaluar los cambios ocurridos durante el almacenamiento prolongado en el contenido de lectinas e inhibidores de tripsina de 14 variedades mejoradas de papa generadas y proporcionadas por el INIFAP, 13 de ellas mexicanas y una variedad de papa importada (Alpha). Tomando criterios de comparación basados en características conocidas de las 14 variedades para hacer mas específico el estudio.

Otro parámetro de importancia sobre el contenido de factores antinutricionales como las lectinas e inhibidores de tripsina, es que posiblemente tienen como funciones inhibir la actividad de patógenos, aumentando así los rendimientos, dando una resistencia a la enfermedad conocida como tizón tardío, provocada por el hongo *Phytophthora infestans*.

JUSTIFICACIÓN.

Actualmente y desde un punto de vista socio-económico la papa es un cultivo muy importante en México, ya que genera fuentes de empleo tanto en la actividad productiva (4 millones de jornales para las labores del campo), como en el sector industrial (15% de la producción nacional). Debido a que existe evidencia científica sobre un comportamiento distinto que presentan las diferentes variedades de papa en estudio y ante la falta de información sobre las variedades comerciales utilizadas en México, se analizaron las 14 variedades de papa en cuanto a contenidos de inhibidores de tripsina y hemaglutininas en relación con algunas características generales, generando criterios de comparación específicos y que se consideran de importancia para encontrar diferencias o igualdades entre las principales variedades mexicanas y la variedad Alpha.

Se consideró de importancia estudiar lo que sucede con los factores antinutricionales de las 14 variedades mejoradas simulando el tiempo que tardarían en llegar al consumidor final, teniendo claro que la meta de esta técnica siempre será obtener variedades con cualidades superiores de los productos sembrados hasta ese momento, mejorar la calidad, rendimiento, resistencia, etc, de las 13 variedades mexicanas con respecto a la papa Alpha, variedad importada.

2. OBJETIVOS.

Objetivo General.

2.1 Mediante monitoreo mensual, analizar los cambios ocurridos en los comportamientos de hemaglutininas e inhibidores de tripsina de las 14 variedades de papa *Solanum tuberosum* durante 90 días de almacenamiento, para complementar un estudio académico de estas variedades.

Objetivos Particulares:

- 2.1.1. Conocer los contenidos tanto de inhibidores de tripsina como de lectinas de cada una de las 14 variedades.
- 2.1.2. Determinar el efecto del tiempo de almacenamiento de las 14 variedades en estudio, en cuanto a los dos factores antinutricionales, y definir el lapso de tiempo óptimo para mantener sin diferencias significativas los contenidos de ambos factores.
- 2.1.3. Establecer si estos factores antinutricionales pudieran estar ausentes en algunas variedades o muy incrementadas en otras.
- 2.1.4. Determinar si existe diferencia significativa en relación a estos dos factores antinutricionales entre la variedad Alpha y algunas de las variedades nacionales que el INIFAP mantiene en estudio, a los diferentes tiempos.

- 2.1.5. Determinar cuales de las 13 variedades nacionales se parecen más a los contenidos de lectinas e inhibidores de tripsina de la variedad Alpha, relacionando criterios de comparación de importancia agrícola – económica, para hacer mas específicas las comparaciones.

3. ANTECEDENTES.

3.1 Generalidades de la papa.

De acuerdo a los datos proporcionados por la Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural (SAGAR), la superficie nacional sembrada con papa en 1998 fue de 62,635 hectáreas con un rendimiento nacional medio de 20.6 toneladas por hectárea, por lo que se estima que el consumo per cápita de papa en México en 1998 fue de 12.8 kilogramos. Los principales estados productores de papa por superficie sembrada son: Sinaloa, Edo. de México, Chihuahua, Puebla, Michoacán, Veracruz, Guanajuato, Sonora, Nuevo León, Tlaxcala y Coahuila. La región centro de México (Puebla, Tlaxcala, Edo. de México, Hidalgo y Veracruz) tiene un rendimiento promedio de 13.8 ton/ha y es el más bajo de las regiones productoras del país. En estos estados se siembra el 35.3% de la superficie nacional, sin embargo, solo aportan el 23.7% de la producción total, entre los factores que influyen para obtener bajos rendimientos en esta región se pueden mencionar la falta de semilla de buena calidad, el clima propicio para el desarrollo de enfermedades (principalmente al tizón tardío) y el bajo nivel económico y tecnológico de los productores. Pero aun así se ha incrementado la producción y rendimiento de papa lo cual puede ser atribuido al aumento en la disponibilidad de semillas certificadas, al mejoramiento de las técnicas agrícolas, a la aceptación del consumidor, así como un mayor aprovechamiento de agua y principalmente debido al empleo de nuevas variedades mejoradas. Los países que utilizan la papa como alimento básico son Inglaterra, Holanda, Alemania y Suecia^{1,2}.

3.1.1 Importancia del cultivo de papa.

La papa bajo condiciones apropiadas de medio ambiente, abono y suelo, presenta un mayor contenido de nutrientes que los cereales. Esta sigue en importancia a la soya, la cual ocupa el primer lugar en rendimiento de proteínas por hectárea, sin embargo, en cuanto a kilos de producción por hectárea, la papa proporciona mayor rendimiento que la soya.

La papa crece en 71% de los países en el mundo, en donde los tubérculos representan cerca del 47% del total de las cosechas producidas. Es la cuarta cosecha más importante después del trigo, maíz y arroz en toneladas globales producidas, el primer lugar en rendimiento y el sexto en superficie. Con base a la calidad proteica para consumo humano, la papa puede alimentar a mas gente por unidad de área que cualquier otro cultivo alimenticio^{2,3}.

3.1.2. Situación del cultivo de papa.

La papa es un cultivo ampliamente distribuido en todo el mundo, sin embargo la mayor parte de la producción está concentrada en las regiones templadas de los países industrializados (Europa, Ex Unión Soviética, Estados Unidos). La producción de papa en el mundo es de 275.4 millones ton/año en una superficie de 18.1 millones ha, de las cuales en México se siembran 62,272 ha y se producen 1.2 millones ton/año, por lo que el rendimiento promedio mundial es de 15 ton /ha y en México es de 17-20 ton/ha. A continuación se presentan los principales estados productores en México con sus rendimientos de papa promedio.

Tabla No.1 Principales estados mexicanos productores de papa con rendimientos promedio.

| Estado | Producción Total (ton) | Superficie Total (ha) | Rendimiento promedio (ton/ha) |
|-------------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------------------|
| Sinaloa | 242,074 | 9,101 | 27 |
| Edo. de México | 151,819 | 8,400 | 18 |
| Michoacán | 124,461 | 5,058 | 25 |
| Guanajuato | 104,535 | 4,413 | 24 |
| Chihuahua | 103,792 | 6,868 | 15 |
| Nuevo León | 94,833 | 2,734 | 35 |
| Sonora | 90,733 | 3,775 | 24 |
| Jalisco | 69,312 | 2,335 | 30 |
| Coahuila | 66,883 | 2,012 | 33 |
| Puebla | 62,586 | 5,838 | 11 |
| Veracruz | 40,848 | 4,102 | 10 |
| Tlaxcala | 34,934 | 2,648 | 13 |
| Zacatecas | 29,404 | 826 | 36 |
| Chiapas | 15,739 | 1,369 | 11 |
| Hidalgo | 14,126 | 1,000 | 14 |
| Aguascalientes | 8,369 | 337 | 25 |
| Otros | 26,437 | 1,458 | 18 |
| Total / Promedio | 1'280,885 | 62,272 | 20.6 |

Fuente: SAGAR, 1998³.

Como se puede observar el rendimiento promedio solamente del estado de Zacatecas es igual al de algunos de los países a nivel mundial con mayor rendimiento como el de Estados Unidos (36 ton/ha), Francia (35 ton/ha), Alemania (33 ton/ha), o bien el rendimiento de Holanda(42 ton/ha), Bélgica (42 ton/ha), que puede compararse con los rendimientos de los estados de Nuevo León (35 ton/ha) y de Coahuila (33 ton/ha).

En Reino Unido, India y Estados Unidos consumen de un 65-90% de la producción como alimento, y una cantidad pequeña es usada con fines industriales, es decir, como productos elaborados por la industria: Almidón, glucosa y dextrinas por ejemplo. La producción mundial de almidón de papa es de aproximadamente dos millones de toneladas.⁵

La papa es un cultivo que se siembra en regiones con diferentes condiciones climáticas, sin embargo los mayores rendimientos se obtienen en zonas con climas templados. Las condiciones climáticas que se tienen durante la temporada primavera-verano (temperaturas media durante la época de desarrollo menores de 25 °C) en regiones ubicadas entre los 30 y 55° de latitud, son las condiciones adecuadas para la producción de la especie *S. tuberosum*, especie comercial mas extensamente sembrada en el mundo.

3.1.3 Historia del cultivo.

La papa es originaria de las partes frías de las montañas de América del Sur (Andes), de donde se extendió en el siglo XVI hacia Europa y posteriormente (en el siglo XVIII) hacia las colonias europeas en Norte América, África del sur y Australia. En años mas recientes el cultivo de la papa se ha extendido y ha llegado a ser importante en regiones con climas menos fríos de América Central, Chile, Argentina, Uruguay, África del norte, India, etc. Se desconoce la fecha exacta del descubrimiento de la papa, pero se sabe gracias a las "*Crónicas Españolas del Perú*" de Pedro Cieca de León, publicadas en 1560, de la existencia de tubérculos de papa utilizados en la alimentación del pueblo peruano, el cual ya la cultivaba muchos años atrás alrededor de 200 años D.C., en las regiones de Puno y del Lago Titicaca.

La parte central de México se considera como un lugar de origen de especies de papa silvestre que se caracterizan por su resistencia al tizón tardío. Se sabe que la primera región en México donde se introdujo, fue la de Bimbaletes y Jesús María del estado de Aguascalientes, de donde paso al municipio de León Guanajuato, en el año de 1884.^{1,2}

3.1.4 Morfología y anatomía de la papa:

La planta de la papa *Solanum tuberosum* es una planta anual, herbácea, de la familia Solanaceae, dicotiledónea por su parte aérea. Se le podría considerar como una planta potencialmente perenne, por su habilidad para producirse vegetativamente por medio de tubérculos, es frondosa y de 0.3 - 1 m de altura. Los tubérculos se encuentran como pedúnculos subterráneos, produciéndose nuevos setos a partir de ellos. Posee un tallo principal y a veces varios tallos, son de sección angular^{3,5}. Como se puede ver en la Fig.No.1, en que se muestran las principales partes de la planta de papa.

Tallo. Este es herbáceo y erecto, consta de periodos de crecimiento rápido, posteriormente viene un periodo de semi o total abatimiento. Morfológicamente, la planta tiene una altura de 0.6 a 1.5 m. El tallo aéreo que puede ser ramificado es generalmente hueco y triangular en sección transversal, son de color verde o púrpura; tiene alas rectas u onduladas, la parte basal es redonda y sólida. El tallo se considera principal si crece directamente del tubérculo y a las ramas laterales de éste se les denomina tallo secundario. Cuando un tallo secundario sale del tallo principal, muy cerca del tubérculo, la formación del estolón y del tubérculo son similares a la del tallo principal.

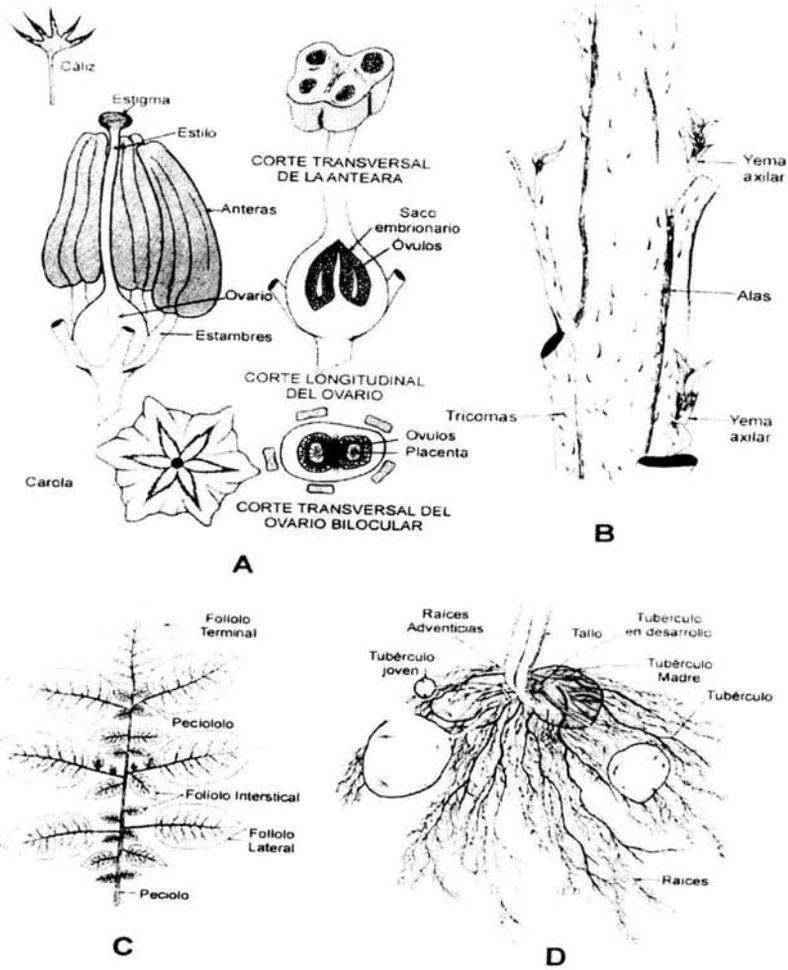


Figura 1. Partes de la planta de papa: A) Flor, B) Tallo, C) Hoja y D) Raíces y Tubérculos.

Manual para la producción de papa en las sierras y valles altos del centro de México.

5

Figura 1. Partes de la planta de papa: a) Flor, b) Tallo, c) Hoja y d) Raíces, tubérculos.³

Raíz. Las plantas que provienen de semilla sexual desarrollan raíces delgadas de donde salen las radículas laterales de 25 a 50 cm, y 90 cm, de profundidad, las plantas que crecen directamente de tubérculo desarrollan raíces adventicias en los nudos del tallo y un sistema radical a una profundidad de 40 a 50 cm. La planta posee un sistema radicular fibroso muy ramificado.^{2,3}

Hojas. Las hojas son compuestas y lisas, están formadas de 3 a 4 pares de hojas ovaladas. Consisten de una peciolo con foliolo terminal, foliolos laterales secundarios y a veces terciarios intersticiales. Se encuentran en forma de espiral y alterna, los pedículos son semicirculares, convexos del lado inferior y ligeramente cóncavas del lado superior. Aunque el número depende de la variedad, normalmente hay de 3 a 4 pares de hojitas ovales alargadas, normalmente las hojas secundarias son más pequeñas que las que van creciendo a partir de las primarias.

Tubérculos. Morfológicamente la papa (tubérculo) es un pedúnculo carnoso subterráneo modificado para el almacenamiento de almidón, con producción de yemas axilares protegidos por hojas escamosas. Estas yemas se presentan principalmente en tubérculos jóvenes, pero no brotan hasta fases posteriores de crecimiento del tubérculo.

El estolón aparece comparativamente temprano durante el crecimiento de la planta, normalmente una semana o 10 días después de que la planta ha aparecido. Bajo condiciones normales de crecimiento el estolón puede alcanzar en un inicio 10 cm de altura, sin embargo, estos pueden variar de 2.5 cm a 5.0 cm o más para el caso de variedades cultivadas. Las primeras indicaciones de que el tubérculo se está formando son las protuberancias al final de los estolones.

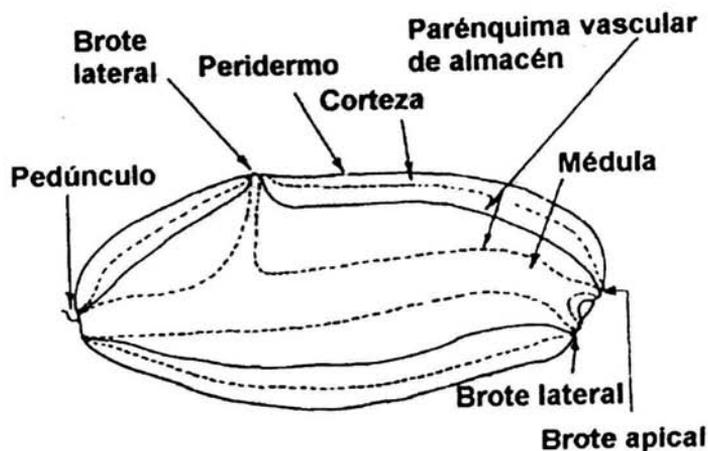


Figura 2. Anatomía del tubérculo de papa.

Como se observa en la Figura 2, la parte exterior del tubérculo se encuentra protegido por la epidermis o peridermo, la cual consiste de 6 a 10 capas de células suberizadas. El color de la epidermis varía de amarillo claro a café púrpura dependiendo de la variedad, de la concentración de antocianinas en el peridermo y en la corteza periférica, en la mayoría de los casos se debe a características genéticas que se emplean para identificar a una variedad.^{2,3}

La cantidad de orificios encontrados en el peridermo, facilita el intercambio de gases y la entrada de agentes patógenos. En el interior del peridermo está la corteza parénquima en la cual el material de reserva es almacenado en forma de gránulos de almidón. Los rayos medulares corren del pedúnculo a las yemas.

La familia **Solanaceae**, incluye cerca de 75 géneros y 200 especies de hierbas y pequeños arbustos distribuidos en el trópico así como en regiones templadas alrededor del mundo. Wittmack considera a México como el lugar de origen de las papas silvestres encontradas actualmente.⁶

*Clasificación Botánica*⁶:

| | |
|-------------|-----------------------|
| Reino | Vegetal |
| División | Espermatofitae |
| Subdivisión | Angiospermae |
| Clase | Dicotyledoneae |
| Orden | Tubiflorae |
| Familia | Solanaceae |
| Género | Solanum |
| Especie | tuberosum |

3.1.5 Requerimientos agrícolas y ecológicos.

El cultivo se desarrolla muy bien en suelos arenosos con buen drenaje y una estructura suelta que permita el crecimiento de raíces y tubérculos, sin embargo las producciones también pueden ser altas en suelos arcillosos. El cultivo requiere de suelos de profundidad mayor a 30 cm., la papa es sensible a suelos compactados, es moderadamente tolerante a la salinidad y requiere de mas de 2% de materia orgánica para una óptima producción.

Las principales zonas productoras de papa de temporal se encuentran distribuidas a lo largo del eje Neovolcánico en los estados de Veracruz, México, Puebla y Tlaxcala, en estos lugares el clima es propicio para la producción de papa, la pendiente para el cultivo de la papa es de 0.0 a 4.0% para muy buena productividad, de 4.1 a 8.0% para mediana y mayor al 8.0% para una baja productividad.

En la región centro, las temperaturas mas adecuadas para el desarrollo del cultivo de la papa se obtienen en las sierras y valles altos. La temperatura del aire tiene un efecto sobre el periodo del crecimiento del cultivo, la cual es variable de acuerdo a la etapa de desarrollo. Para obtener altos rendimientos de papa se requieren temperaturas medias entre 17 y 18 °C con máximas no mayores de 23 °C. La oscilación térmica óptima para el cultivo fluctúa de 10 a 25 °C. La temperatura del suelo óptima para la producción de tubérculos debe ser de 10 a 16 °C por la noche y de 16 a 22 °C durante el día.

3.1.6. Composición química y valor nutritivo.

La composición química de la papa varía dependiendo de la variedad, de la región, de la práctica de cultivo, del estado de madurez y de las condiciones de almacenamiento. En la tabla No. 2 se muestra la composición química promedio de la papa, en donde el 80% de la composición es humedad, siendo los carbohidratos el segundo componente en importancia y llegando a un 2% de proteína, como tercer componente de importancia.

Hidratos de carbono. Los hidratos de carbono son la parte más importante de la materia seca, las tres cuartas partes están constituidas de almidón.

Tabla No.2 Composición química de la papa⁵.

| Nutrimento | g/100g |
|---------------------|----------------|
| Humedad | 80 |
| Fibra | 0.5 -1.5 |
| Hidratos de Carbono | 17.5 |
| Proteína | 2.0 |
| Grasa | 0.1 |
| Ac. Linoléico | 0.03 |
| Minerales | mg/100g |
| Calcio | 13 |
| Hierro | 2.7 |
| Magnesio | 21 |
| Sodio | 6 |
| Potasio | 543 |
| Zinc | 0.39 |
| Vitaminas | mg/100g |
| Acido Ascórbico | 15 - 20 |
| Tiamina | 0.07 |
| Riboflavina | 0.03 |
| Niacina | 1.1 |
| Piridoxina | 0.26 |
| Acido Fólico | 13 |

Almidón. Esta sustancia de reserva se forma en el tubérculo a partir de glucosa, la cual es fabricada por las hojas bajo el efecto de la fotosíntesis, sin embargo también puede convertirse en glucosa vía enzimática. En el tubérculo existe un equilibrio almidón / azúcares solubles (sacarosa, fructosa, glucosa) variable en el ciclo vegetativo y durante el periodo de conservación. De los hidratos de carbono el almidón es el más abundante en la papa (16-29% en base húmeda) constituye el 60-80% de materia seca, esta compuesto de amilosa y amilopectina en una relación 3:1. El almidón de la papa gelatiniza aproximadamente a 70°C.

Azúcares. El contenido total de azúcares va de 0.1% a 0.7% estando asociado al estado de madurez y germinación. Los azúcares presentes en mayor proporción son esencialmente la sacarosa y azúcares reductores (glucosa y fructosa), contiene además cantidades traza de melobiosa, rafinosa, estaquiosa, glicerol y galactinol que también han sido identificados. Los azúcares se producen en el tubérculo en pequeñas cantidades, son muy importantes en el color de los productos transformados como: deshidratados, cocidos o fritos y juegan un papel importante en el sabor de éstos. La coloración es debida a un oscurecimiento enzimático. El contenido de azúcares reductores esta influenciado por numerosos factores: La variedad, grado de madurez de los tubérculos, factores retardantes de la madurez (lluvia abundante, bajas temperaturas, fertilización nitrogenada excesiva) favorecen el incremento de azúcares, y la conservación a bajas temperaturas (6-8), la tasa de azúcares reductores aumenta debido a la hidrólisis parcial del almidón por la activación de dos enzimas sensibles a bajas temperaturas tales como la fosfofructoquinasa y fosfofructotransferasa.

También contienen polisacáridos no digeribles como celulosa, hemicelulosa, sustancias pécticas que constituyen cerca del 1.2% en base húmeda presentándose en la pared celular; ellos además contribuyen a la textura final de la papa cocida y actúan como fuente de fibra dietaria.

Proteína. La papa contiene 2% en promedio de proteína en base húmeda, siendo rica en lisina comparada con la proteína de los cereales; la fracción proteínica de la papa esta constituida por albúminas, globulinas, prolaminas y gluteninas principalmente. Como es natural hay diferencias entre variedades y algunas muestran elevados contenidos de proteína y además altos índices de aminoácidos esenciales. En algunas variedades se ha observado que los aminoácidos azufrados son limitantes, mientras que en otras es la isoleucina, en general presentan buenos contenidos de lisina y triptofano por lo que podría ser un buen complemento para los cereales. La proteína esta concentrada mas en la corteza y en la médula del tubérculo. Dos terceras partes de la fracción no proteica esta compuesta de aminoácidos libres. La germinación, el almacenamiento, las enfermedades y los tratamientos con fertilizantes influyen en la concentración de aminoácidos libres en el tubérculo. La patatina es la proteína que se encuentra en mayor cantidad en las papas, similar a otros polipéptidos que están presentes en altas concentraciones asociados a estructuras, como por ejemplo la zeina en el maíz, la viciclina en los chicharos, la faseolina en el frijol, la patatina puede ser clasificada como proteína de almacenamiento.^{8,9}

Vitaminas y minerales. En lo que respecta las vitaminas y a los minerales, la papa contiene cantidades substanciales de vitaminas del complejo B y C; la vitamina C esta presente en sus dos formas oxidada y reducida. La papa recién cosechada puede contener

hasta 20 mg. de ácido ascórbico por 100g de papa, las pérdidas de vitamina C ocurren durante periodos prolongados de almacenamiento y durante el cocimiento. Las vitaminas del grupo B comprenden tiamina, riboflavina, ácido nicotínico y piridoxina; ácido fólico así como ácido pantoténico. El contenido de cenizas es de cerca del 1% en base húmeda que es equivalente al 4-6% en contenido de materia seca. Los elementos presentes en mayor cantidad son los fosfatos de calcio y potasio. Otros, como boro, cobre, zinc, yodo, aluminio, arsénico, níquel y molibdeno se encuentran en cantidades traza.

Lípidos y ácidos orgánicos. Aproximadamente el 0.1% de la papa en base húmeda se encuentra formada por lípidos, estos se concentran en el peridermo. Los ácidos grasos que se encuentran en mayor cantidad en la papa son el linoleico, linolénico y palmítico. Algunos ácidos orgánicos están presentes en varias cantidades, estos contribuyen al sabor así como a la palatabilidad de las papas. La mayor cantidad de ácidos orgánicos que se encuentran en la papa son el cítrico, oxálico, fumárico, málico.

Enzimas y pigmentos. El tubérculo de papa contiene numerosos sistemas enzimáticos que constituyen una proporción considerable de la proteína total, entre estas se encuentran la amilasa, glioxalasa, fosforilasa, tirosinasa (cataliza la decoloración enzimática en las papas), catalasa, aldehidrasa, peroxidasa, polifenoloxidasas, dehidrogenasa, fosfatasa, sistoamilasa, y zimohexasa. Las amilasas y fosforilasas son las responsables de la formación de azúcares durante el almacenamiento a bajas temperaturas. El color amarillo de la pulpa de la papa es atribuible a los carotenoides como violaxantina, luteína y luteína-5,6-epóxido.⁹

Valor nutritivo. La papa es una de las fuentes más ricas en energía y tiene gran capacidad para suplir la energía de cualquier otro cultivo alimenticio, provee de proteína de buena calidad, hidratos de carbono principalmente almidón, minerales (calcio, potasio, sodio, magnesio y hierro) y vitaminas como ácido ascórbico, tiamina y riboflavina. Experimentos han mostrado que el almidón de la papa cocida es fácilmente digerible por lo que le da valor como alimento para infantes. Se ha calculado que 100g de papa pueden suplir de un 5-7% de los requerimientos diarios de energía y de un 10-12% del requerimiento proteico diario para niños de 5 a 12 años de edad^{5,7}.

Por otro lado, se ha demostrado que la proteína de la papa tiene un valor biológico igual a la proteína del frijol de soya, así como también ha sido calculado que 100g de papa puede suplir de 3-6% de los requerimientos diarios proteicos para un adulto dependiendo del sexo y peso. Este alimento es importante para las personas que sufren excesos de acidez estomacal ya que lleva a cabo una reacción alcalina. Por otro lado, el consumo de tubérculos con cáscara es bueno por el incremento de fibra en la dieta, a demás de que también provee mas de los elementos traza necesarios para mantener una buena salud.

3.1.7. Principales perdidas postcosecha y causas.

La papa como otros cultivos esta propensa a sufrir pérdidas postcosecha debido al continuo metabolismo y daños durante la cosecha y manejo; pudriciones, marchitamiento y brotamiento durante su almacenamiento. Las principales causas de pérdidas postcosecha son:

- a) **Mancha negra interna.** Puede ser causada por la deficiencia de potasio y la cosecha mecánica puede favorecer su presencia. La susceptibilidad a la mancha negra durante el almacenamiento está relacionada con la pérdida de humedad en esta etapa.
- b) **Corazón negro.** La aireación inadecuada o deficiencia de oxígeno durante la conservación es la causa primaria de este daño en papa, el cual está caracterizado por una coloración interna que varía de gris oscura a púrpura o negra, se puede prevenir por una adecuada ventilación por aire.
- c) **Daños por frío.** Muchas variedades de papa son susceptibles de sufrir daños por frío cuando son expuestas a temperaturas de 0 a 1.1 °C. Áreas rojizas o cafés o manchas concéntricas en la pulpa de tubérculos afectados, son síntomas principales de daños por frío.
- d) **Daños por calor.** Este daño es causado por la exposición de papas a temperaturas excesivamente altas en campo, durante el transporte o empaque; ocasionando daños principalmente en la epidermis por pérdida de humedad.
- e) **Daños mecánicos.** Ocurren durante la cosecha y el transporte debido a magulladuras, golpes, cortes, entre otros. Los daños mecánicos inducen a la formación de alcaloides, los daños físicos durante la cosecha son la causa principal de pérdidas durante el almacenamiento.
- f) **Desarrollo de clorofila.** La clorofila se desarrolla en la superficie de las papas cuando son expuestas a la luz durante el almacenamiento, los factores que afectan la formación de clorofila y alcaloides incluyen la variedad, clima, madurez y gravedad específica del tubérculo, además las condiciones de almacenamiento como la temperatura, intensidad de luz y humedad relativa.

Enfermedades postcosecha. Las enfermedades postcosecha de la papa, en su mayoría tienen su origen en el campo, y se manifiestan durante el almacenamiento. La enfermedad de tizón tardío provocada por *Phytophthora infestans* es la de mayor incidencia y por lo tanto la más estudiada por el INIFAP como consecuencia de pérdidas de rendimientos. A continuación se presenta una lista de las principales enfermedades detectadas según el grado de incidencia en la papa, así como los patógenos que las producen^{3,10}:

Principales enfermedades post-cosecha³

| ENFERMEDAD | RESPONSABLE |
|----------------------------|------------------------------------|
| Tizón tardío | <i>Phytophthora infestans</i> |
| Pudrición Blanda | <i>Erwinia carotovora</i> |
| Pudrición Rosa | <i>Phytophthora erythroseptica</i> |
| Pudrición Seca | <i>Fusarium sp.</i> |
| Mancha por <i>Fusarium</i> | <i>Fusarium sp.</i> |
| Pudrición Acuosa | <i>Geotrichum sp.</i> |
| Pudrición Café | <i>Pseudomonas solanacearum</i> |
| Punto Negro | <i>Colletotrichum sp.</i> |
| Pudrición Húmeda | <i>Pythium utimum</i> |

Algunas otras como:

Rhizoctonia solani K., causa la costra negra, principalmente durante la primavera.

Streptomyces scabies, causa la roña común. *Phoma sp.* (gangrena) y *Erwinia spp.*

ocasionan la enfermedad llamada pierna negra, se puede desarrollar durante el

almacenaje; *Oospora pustulans* causa la mancha de cáscara y *Helminthosporium*

solani causa la costra plateada.

Phytophthora erythroseptica, se origina en campo y continúa su desarrollo en almacenamiento causando quemaduras y pudrición rosada. *Phytophthora infestans*

ocasiona que en la parte externa de los tubérculos existan áreas irregulares ligeramente hundidas, como se puede ver en la siguiente figura,

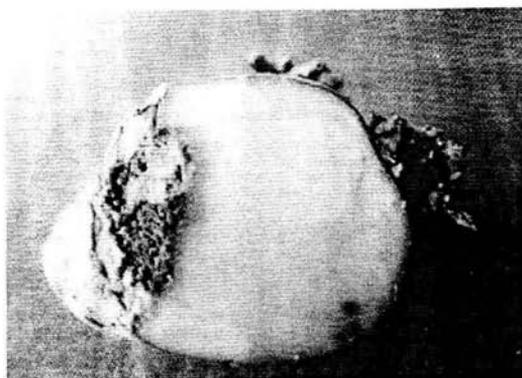


Fig. 3. Tizón tardío de la papa en tubérculo³.

Como se puede ver, la cáscara toma una coloración castaño caoba o rojiza, tizón tardío es una de las enfermedades mas importantes que presentan las papas.

3.1.8. Importancia del mejoramiento genético de la papa en México.

El mejoramiento genético de la papa en México se inició en 1951, el objetivo fue desarrollar variedades con resistencia al tizón tardío⁴. Durante los primeros años de 1950 – 1960, se evaluaron en México papas silvestres que siendo resistentes en EU a tizón tardío, en el Valle de Toluca mostraron susceptibilidad al patógeno, los niveles de resistencia a tizón tardío observados en las especies silvestres de *Solanum* que lograban desarrollarse, podrían llegar a ser de gran valor práctico si se transferían a variedades comerciales. Por lo anterior,

se puede decir que se ha logrado dar resistencia contra el tizón tardío *Phytophthora infestans* a ciertas variedades de papa, gracias a la resistencia de ciertas especies silvestres de papa. A la fecha se han llevado a cabo una serie de trabajos importantes por un gran numero de investigadores, como resultado, se han liberado 26 variedades de papa resistentes al tizón, de estas solo 11 se cultivan en diferentes localidades de México^{4,11}.

3.1.9. Propiedades sensoriales de la papa y especificaciones físicas.

Debido a la adaptación de las papas a crecer en gran variedad de suelos y climas, han sido históricamente e incluso hoy en día considerados como uno de los tubérculos más importantes en muchos países, pero se debe cumplir con las siguientes especificaciones ¹¹:

- * Estar bien desarrolladas, enteras, sanas, frescas, limpias, de consistencia firme y cáscara razonablemente lisa.
- * Tener forma característica.
- * Estar exentas de humedad exterior anormal.
- * Estar prácticamente libres de descomposición o pudrición.
- * Estar prácticamente libres de defectos de origen mecánico, entomológico, microbiológico y genético-fisiológico.
- * El color de la papa varia desde el amarillo pálido hasta el rojo magenta, según la variedad.

3.1.10 Variedades de papa que se cultivan en México: Blancas y rojas.

En México se cultivan variedades de papas tanto blancas como rojas, a continuación se presentan ciertas características de las variedades relacionadas con el presente trabajo, algunas de ellas ya liberadas por el INIFAP recomendadas para el centro de México³

a) Alpha (variedad blanca).

- Variedad Holandesa.
- Piel blanca, pulpa crema, ojos superficiales, forma oblonga.
- Ciclo vegetativo intermedio.

- Susceptible a heladas y granizo.
- No es recomendable para alturas superiores a los 2800 metros.
- Requiere de riegos ligeros y constantes.
- Susceptible al tizón tardío
- Se cultiva generalmente desde 0.0 metros hasta los 2650 metros.

b) Tollocan (Variedad blanca).

- Variedad Mexicana.
- Forma redonda achatada por los polos.
- Piel blanca, pulpa amarilla ocre, ojos superficiales.
- Adaptable a terrenos con suficiente humedad.
- Altamente resistente al tizón tardío de la papa.
- Tolerante a heladas y granizo.
- Ciclo vegetativo intermedio.

c) Atzimba (Variedad blanca).

- Variedad Mexicana.
- Forma oblonga, más pequeña que la Alpha.
- Piel blanca, pulpa crema y ojos superficiales.
- Resistente al tizón tardío.
- Susceptible a virosis.
- No tolera heladas.
- Ciclo vegetativo intermedio.

d) López (Variedad roja).

- Variedad Criolla Mexicana.
- Piel rojo-morado, pulpa amarilla.
- Ojos profundos, forma redonda, ligeramente achatada por los polos.
- Problemas con enfermedades virósicas.
- Se siembran en altitudes que van de los 2800 m, hasta los 4000 m.
- Susceptible al tizón tardío.
- Ciclo vegetativo tardío.

- Susceptible a heladas.

e) Rosita.

- Variedad Mexicana.
- Forma redonda, ligeramente achatada por los polos.
- Piel color rojo, rosado.
- Tolerante a heladas y granizo.
- Se puede cultivar desde los 2600 a los 3500 m.
- Ciclo vegetativo tardío.
- Resistente al tizón tardío.

f) Murca.

- Variedad Mexicana.
- Forma oblonga redonda.
- Piel color rojo, rosado, pulpa color crema.
- Se puede cultivar desde los 2600 hasta los 4000 m, preferentemente en condiciones de temporal.
- Resistente al tizón tardío y resistente al granizo y heladas.
- Ciclo vegetativo tardío.

g) Juanita.

- Variedad Mexicana.
- Forma oblonga.
- Piel roja, ojos semiprofundos.
- Resistente al tizón tardío.
- Su producción óptima es desde 2000 a 4000 m.
- Resistente a heladas.

h) Montsana.

- Variedad mexicana.
- Forma redonda.
- Piel roja, pulpa color crema.

- Resistente al tizón tardío.
- Resistente a heladas.
- Potencial de rendimiento de 20 ton / Ha.
- Ciclo vegetativo de 150 días en zonas altas y de 90 – 100 días en valles.

i) Michoacán.

- Planta verde sin pigmentos.
- Ciclo vegetativo intermedio.
- Resistente a tizón tardío y poco susceptible a virosis.
- Tubérculo oblongo, piel blanca lisa con ojos superficiales.
- Piel blanca.
- Potencial de rendimiento: 30 a 40 ton /ha.

j) Norteña.

- Ciclo vegetativo de intermedio a tardío.
- Resistente a tizón tardío y poco susceptible a punta morada.
- Susceptible a pierna negra.
- Piel blanca y lisa, tubérculo elíptico con ojos superficiales.
- Rendimiento comercial: 40 a 50 ton / ha.

Ortíz señala que dependiendo de la variedad, define al ciclo vegetativo de la papa como tardío cuando requiere de 120 a 180 días entre la siembra y la cosecha, intermedio de 105 a 120 días, y precoz entre 90 y 105 días.¹²

En la siguiente tabla se muestran las variedades recomendadas para regiones con alta incidencia a tizón tardío y por lo tanto para abaratar costos de producción al requerir menor cantidad de funguicidas.

Principales características de las variedades de papa recomendadas para regiones con alta incidencia de tizón tardío³

| Variedad | Ciclo | Piel | Ojos | Forma de tubérculo | Resistencia a Tizón |
|-----------|------------|--------|---------------|--------------------|---------------------|
| Norteña | Intermedio | Blanca | Superficiales | Redonda | Alta |
| Rosita | Tardío | Rosada | Semiprofundos | Oblonga | Media |
| Tollocan | Intermedio | Blanca | Superficiales | Aplanada | Alta |
| Irerí | Intermedio | Blanca | Superficiales | Oblonga | Alta |
| Puebla | Intermedio | Roja | Semiprofundos | Oblonga | Alta |
| San José | Tardía | Roja | Semiprofundos | Redonda | Media |
| Michoacán | Intermedio | Blanca | Superficiales | Oblonga | Alta |
| Alpha | Intermedio | Blanca | Superficiales | Oblonga | Susceptible |

3.2 Almacenaje de la papa

3.2.1 Importancia del almacenaje.

La papa para consumo generalmente se almacena en México, aunque es posible producirla todo el año en diferentes regiones. Después de cosechada es transportada a los lugares de consumo y distribución, en caso de que se almacene debe hacerse a una temperatura de 4°C, y en un lugar bien ventilado y oscuro, ya que siempre habrá desprendimiento de calor por el proceso de respiración, si se almacenaran a temperaturas altas cerca de los 30°C habría una acumulación de dióxido de carbono, induciendo un daño celular llamado "enegrecimiento de corazón", por lo que se recomienda hacer reacondicionados. Durante el almacenamiento las papas pasan por los periodos de curación, guarda o reposo y brotación^{3,14}.

Periodo de curación. Después de la cosecha sigue este lapso cuyo objetivo es el de cicatrizar las heridas y bloquear así la entrada a microorganismos patógenos por medio de la formación del peridermo, reduciendo así pérdidas de transpiración y evaporación. Para lograrlo se recomienda mantener la temperatura del almacén sobre los 20°C de 1 a 3 semanas con una humedad relativa de 85% - 90%.

Periodo de guarda. Durante este periodo los tubérculos llevan a cabo cambios en su composición química como transformación de azúcares y disminución en cantidad de ácido ascórbico. El reposo natural va desde 3 semanas hasta 3,4 y 5 meses dependiendo de la temperatura del almacén. Se recomienda la siguiente temperatura durante el periodo de guarda para la papa de consumo: 4° a 7°C, con una humedad relativa de 85% a 90% hasta por 10 meses.^{12,13}

Periodo de brotación. Con el inicio de la brotación se intensifica la respiración por una mayor actividad fisiológica. A medida que los brotes se desarrollan la pérdida de tubérculos es mayor.

3.2.2 Consideraciones fisiológicas durante el almacenaje de papa.

La pérdida de peso total es resultado de la suma de los factores brotamiento, respiración y evaporación, probablemente estos efectos se presentan en proporciones no necesariamente iguales. Durante el almacenamiento de papas se originan dos procesos: 1) Respiración, el cual utiliza azúcares para convertidos en CO₂ y agua y 2) Conversión de almidón en azúcares por enzimas amilolíticas.

Respiración. Una parte de la energía necesaria para la vida de los tubérculos durante el almacenamiento está dada por la respiración (formación de gas carbónico y agua a partir de

carbohidratos), lo cual produce una cantidad importante de calor. La intensidad respiratoria de los tubérculos aumenta con la temperatura (la intensidad respiratoria es mínima entre 4 y 8 °C), con las manipulaciones antes del almacenamiento y con las heridas durante la cosecha. A 10 °C la tasa respiratoria de papas maduras es aproximadamente $4 \text{ mgkg}^{-1}\text{h}^{-1}$, mientras que a 20 °C ésta se incrementa a $6 \text{ mgkg}^{-1}\text{h}^{-1}$ de gas carbónico.

Transpiración. La transpiración se refiere a una liberación importante de vapor de agua después de la cosecha, la cual se estabiliza una vez que las condiciones de conservación son satisfactorias. La transpiración es responsable del 90% de las pérdidas de peso naturales y en ciertos casos de la marchitez de tubérculos. La intensidad de la transpiración depende del poder deshidratador del aire ambiental (baja humedad relativa o temperatura elevada) y de la permeabilidad de la epidermis al vapor de agua.

Las papas se encuentran disponibles durante todo el año. Aproximadamente el 75% de las papas producidas en los Estados Unidos son almacenadas para su consumo posterior. En 1988, el 80.5% del total de la producción de papas en los Estados Unidos se utilizó para alimentación (30.8% se le utilizó fresca y 49.7% fue procesada). En la mayoría de los países, las papas son cosechadas solamente en ciertos periodos de tiempo durante el año, teniendo que ser almacenadas durante algunos meses². La cosecha y sus subsecuentes procesos de: recolección, clasificación, y distribución pueden causar daño a los tubérculos, algunos de los cuales pierden agua rápidamente por el proceso de evaporación, siendo altamente susceptibles a contaminación microbiana. A través de adecuadas condiciones de almacenamiento se puede prevenir: la germinación, desarrollo de raíz, pérdida de humedad, acumulación de azúcares y daño por temperatura¹⁵. Durante periodos cortos de

almacenamiento, los tubérculos se acumulan en montones (hoyos, sótanos, bodegas o cuevas) con temperatura y humedad controlada; mientras que durante periodos largos existen pérdidas mínimas de humedad y a temperaturas por debajo de los 6°C conlleva a la formación de azúcares reductores, siendo esto indeseable para un procesamiento posterior^{14,15}

3.2.3 Metabolismo durante el almacenaje.

Al almacenamiento de tubérculos de papa por periodos prolongados de tiempo se le llama senescencia dulcificante, como resultado de la conversión de almidón a azúcares como sacarosa, glucosa y fructosa, teniendo un efecto inverso sobre el metabolismo glicolítico.¹⁶ Este fenómeno es causado por la pérdida progresiva de la integridad de membrana durante el almacenamiento, el cual se correlaciona con un incremento en la saturación de lípidos de membrana. Esta pérdida de la integridad durante el envejecimiento de las papas también ha sido correlacionada con el incremento de lipido-peroxidación causada por el aumento de radicales libres, por lo que varios sistemas antioxidantes han sido estudiados como posibles defensas contra dichos radicales, determinando así el daño durante el envejecimiento. Algunos de estos efectos han sido estudiados en papas durante largos periodos con bajas temperaturas de almacenamiento, así como también bajo condiciones de estrés. Dixon identificó en los tubérculos de papa *Solanum tuberosum* a la fosfofructosinasa (PFK) y a la piruvato cinasa como las enzimas claves reguladoras de la glucólisis a bajas temperaturas, se determinó además que ambas enzimas eran lábiles al frío. Se mostró que en los tubérculos maduros, hay una limitada acumulación de azúcares y que la temperatura de almacenamiento afecta las vías del metabolismo de carbono.^{16,17}

3.3 Factores tóxicos.

Algunos alimentos de la dieta humana, a demás de nutrimentos, contienen sustancias sin valor nutritivo y que causan daños en el organismo, y aunque existe discrepancia entre los autores acerca de la clasificación de estas sustancias, estas pueden clasificarse en dos grandes grupos:

- a) Los factores antinutricionales, los cuales disminuyen la disponibilidad o provocan una perdida suplementaria de los nutrimentos esenciales, dentro de este grupo están los inhibidores en enzimas digestivos, por ejemplo las sustancias que afectan la utilización metabólica de las proteínas, los inhibidores de tripsina, además de las sustancias que interfieren en la asimilación de los minerales, como es el caso de los fitatos y los taninos que interfiere con varios de estos nutrimentos como es el caso del metabolismo de las proteínas, con la asimilación de los minerales y afectan las reservas de vitamina A y B₁₂.
- b) Los tóxicos, son compuestos que tienen un efecto que no puede compensarse por aporte suplementario de nutrimentos, dentro de este grupo se encuentran los alcaloides, algunas lectinas y los glucósidos cianogénicos.

Factores antinutricionales y tóxicos en papa.

Los tres más importantes en orden de importancia son los glicoalcaloides, inhibidores de tripsina y lectinas, los cuales pueden actuar como agentes protectores en las papas, protegiendo a estas del ataque por fitopatógenos e insectos.

Los glicoalcaloides han sido los mas estudiados, y de hecho existe una regla internacional que dice que 20 mg de glicoalcaloides por cada 100 g. de peso fresco es el límite máximo permitido para la papa destinada a consumo humano. Sin embargo la FAO/WHO, en su

Comité sobre Aditivos Alimenticios (JECFA) de 1992, estableció un valor ADI (Acceptable Dairy Intake) de valores normales (no tóxicos) entre 2 y 10 mg de glicoalcaloides /100 g de peso fresco de papa destinada a consumo. En una papa existe en promedio de 5 a 10 mg/100g de alcaloides, estos se encuentran concentrados principalmente en la cáscara, en los retoños y alrededor de las yemas. Se desarrolla cierto sabor amargo cuando el contenido de alcaloides es de 25-80mg/100g. Los glicoalcaloides tienen como función en el sistema de defensa químico de la planta, actuar como protectores no específicos, o bien como repelentes contra predadores. Aunque estos, pueden afectar la salud humana debido a que inhiben la actividad de la acetil-colinesterasa, pudiendo ser altamente tóxicos tanto para animales como para el hombre.

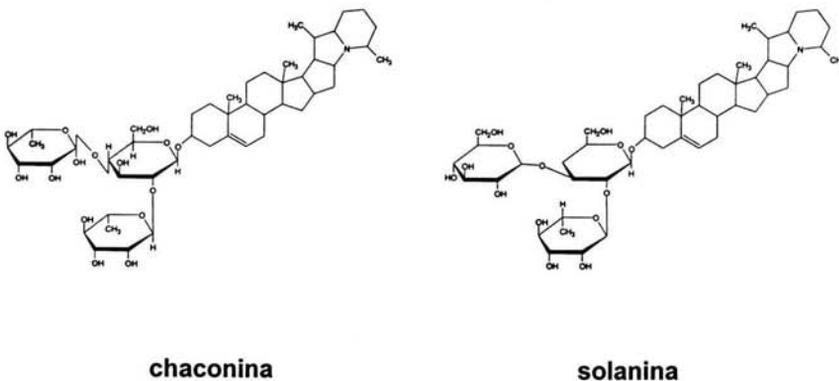


Fig 4. Estructura Química de los glicoalcaloides de la papa.

Como se muestra en la Figura 4, los glicoalcaloides de la papa, *Solanum tuberosum* se componen principalmente de una mezcla de solanina y chaconina, es decir una aglicona de tipo esteroidal con un nitrógeno, unido a una cadena de azúcar en la posición del C-3. Tanto la α -chaconina como la α -solanina contienen una aglicona en común, la solanidina a la cual

se encuentran unidos los trisacáridos, β -chacotriosa y β -solatriosa respectivamente. Los glicoalcaloides están en todas partes de la planta con niveles altos principalmente localizados en los tubérculos, en la flor y en hojas². Los daños fisiológicos ocasionados por ingestión, se caracterizan por dolor abdominal, vómito y diarrea con síntomas neurológicos adicionales de insensibilidad, somnolencia, pesadez, confusión mental, alucinaciones, así como disturbio visual. Un envenenamiento agudo puede ser atribuido por haber ingerido más de 300mg de glicoalcaloides por Kg. de peso corporal.^{8,19}

La luz induce cambios en niveles de clorofila y glicoalcaloides pero no en niveles de inhibidores de proteasas. Si las semillas de papa son expuestas a la luz ya sea natural o artificial durante el almacenamiento, retarda el envejecimiento fisiológico, inhibe el crecimiento germinativo e incrementa la resistencia a infecciones por mohos. Por otro lado, la sobreexposición de éstas a la luz induce a la formación de α -solanina así como del pigmento verde, clorofila, siendo el valor en el mercado de estas papas verdes muy bajo^{14,19}.

Sin embargo, dada la importancia del trabajo, se detalla más a fondo la información sobre lectinas e inhibidores de tripsina.

3.3.1. Lectinas

La característica común que tienen las lectinas de las plantas es que todas son proteínas. Muchas de ellas tienen enlaces covalentes con azúcares por lo que son clasificadas como glicoproteínas. Se enlazan con los residuos glucosídicos presentes en la superficie de los glóbulos rojos y por tanto pueden ser detectadas, caracterizadas y purificadas por su acción

sobre los eritrocitos. Las lectinas están muy difundidas en la naturaleza, se ha encontrado actividad aglutinante en extractos de unas 800 especies vegetales.

3.3.1.1 Historia y definición de lectinas.

El estudio de las aglutininas se inició en 1888 por Stillmark. Fue el primero que descubrió el fenómeno de la aglutinación por extractos de plantas (en semillas de Ricino). Pablo Erlich en 1890, descubrió algunos principios fundamentales de inmunología, trabajando con semillas de ricino y abrina, detectó que los extractos de dichas plantas eran buenos inmunógenos. En 1908 Landsteiner y Raubitscheck, establecieron las actividades hemaglutinantes y la especificidad de varios extractos de semillas. Debido a esa capacidad de aglutinar eritrocitos, se les denominó aglutininas. En 1952, Liener y Pallansch aislaron una proteína activa que tenía la capacidad de aglutinar fuertemente eritrocitos a través de preparaciones de semillas de *Glycine max*. Posteriormente Boyd y Shalpleigh, propusieron el término lectina en 1954, para denominar a ciertos extractos de semillas que se sabía tipificaban grupos sanguíneos, se detectó además que esta actividad podría ser inactivada térmicamente^{5,20}.

La palabra lectina proviene del latín "legere", seleccionar o escoger. De acuerdo a Goldstein: "Las lectinas de plantas son glucoproteínas que constituyen más del 3% del total de proteína de algunas semillas". Otra definición es la del alemán Krupe que dice: "A las lectinas las debemos interpretar como sustancias captadoras de carbohidratos que están en las semillas para reunir y retener residuos específicos indispensables para la germinación".

Una definición más dice: "las lectinas son proteínas definidas por su capacidad para combinarse específica y reversible con azúcares". Pero por ahora la definición más aceptada es la siguiente: "las lectinas son glicoproteínas de origen no inmune, encontradas en plantas

y animales pero principalmente en las leguminosas, que pueden aglutinar células y precipitar carbohidratos complejos”^{20,21}.

3.3.1.2 Propiedades generales de las lectinas.

La presencia de estos compuestos muchas veces es una forma de defensa contra los depredadores. Desde el punto de vista alimenticio, el grupo de lectinas de mayor interés se encuentran en las semillas de leguminosas. La propiedad común de las lectinas es que se unen a carbohidratos específicos y aglutinan células, son caracterizadas y detectadas por su acción sobre glóbulos rojos causando aglutinación. Así por ejemplo, la concanavalina A, se une solo a oligosacáridos y glucoproteínas que poseen residuos terminales α -D-glucopiranosidos y α -D-manopiranosidos. La lectina de soya se une solo a α -D-galactopiranosidos. De ahí que algunos autores en base al residuo glucosídico las clasifiquen²⁰.

Se sabe que las lectinas tienen acción semejante a los anticuerpos, ya que la de *Vicia cracca* inhibe el crecimiento de microorganismos de tierra y metaboliza la cutícula de las semillas de estas especies, pero en este caso falta establecer un mecanismo de transporte que explique como las lectinas pasan desde las semillas hasta la raíz y su secreción en tierra. Desjardins informa que una glucoproteína unida a manosa protege a la soya del ataque del hongo *Phytophthora megasperma*, esto constituye un indicio de que efectivamente las lectinas protegen a la soya contra infecciones. Algunos factores importantes que influyen en la asociación carbohidrato-lectina son el pH y la temperatura. La mayoría de las aglutininas reaccionan entre un pH de 4.5 a 11. A pH bajo la carga de la superficie celular es reducida y

a pH alcalino hay una gran interacción celular. La temperatura esta relacionada con la fluidez de la membrana y este necesita fluidez para que los receptores se muevan. Las lectinas no alteran la composición de los carbohidratos, por lo que no tienen propiedades enzimáticas, pero guardan semejanza a las enzimas en el mecanismo que explican su especificidad, empleando el modelo de "llave y cerradura" ya que reconocen a su estructura particular. También tienen más de un sitio de reconocimiento, por lo que pueden adherirse a uno o más receptores, pues son polivalentes. Si los eritrocitos son tratados con enzimas tales como tripsina, pronasa, o papaina, la capacidad de aglutinación aumenta notablemente, ya que se cree que hay un "desenmascaramiento" de un número grande de receptores, los cuales se vuelven accesibles.^{22,23}

3.3.1.3 Localización y clasificación de las lectinas.

Las lectinas están ampliamente distribuidas en la naturaleza. Se dice que las lectinas se encuentran presentes en todas partes y que de hecho existen en los reinos tanto vegetal como animal, así como también en microorganismos. Particularmente se les encuentra en semillas de leguminosas, y en otras familias como los tubérculos. Las lectinas fueron aisladas en el pasado principalmente de semillas secas, sin embargo, ahora pueden ser detectadas en casi todo tipo de tejido vegetal^{5,20}.

Las lectinas se clasifican en los siguientes grupos según la especificidad de su unión con el azúcar²⁰:

| TIPO | EJEMPLO |
|------------------------------------|-----------------------------|
| galactosa- /N-acetilgalactosamina- | Soya (<i>Glycine max</i>) |
| manosa/glucosa- | Haba, lenteja, chicharo |
| N-acetilglucosamina- | Papa (<i>S.Tuberosum</i>) |

3.3.1.4 Lectina de papa y su actividad.

La lectina de la papa es la más conocida en las Solanaceas, (las lectinas de la familia *Solanacea* son las más abundantes tanto en tubérculos de papa como en tomate). La actividad de la lectina de papa *Solanum tuberosum*, ha sido investigada por muchos años. Allen y Neuberger en 1964, purificaron y caracterizaron a la lectina de la papa como una proteína unida a quitina, es un monómero de 50 kDa, con un diámetro de 100 kDa ²⁴.

En un estudio realizado por Hajós y Gelencsér, trabajando con ratas, determinaron que las dietas basadas en harinas de frijol *Phaseolus vulgaris*, no eran metabolizadas por éstos animales ni por los humano debido a la presencia de factores tóxicos, siendo la fitohemaglutinina (PHA), la lectina identificada en dicha semilla, como el principal factor tóxico en los frijoles. Cuando se sometieron las ratas a una dieta con PHA purificado, se observó un crecimiento hiperplásico de intestino delgado, las ratas perdieron peso continuamente de tal manera que, tanto la energía liberada como los nutrientes de la dieta, fueron utilizados para mantener un mal gastado crecimiento del intestino ²⁵.

3.3.1.5 Posibles acciones.

Han sido propuestas las siguientes posibles acciones de las lectinas ²⁰:

- a) sustancia de reserva
- b) regulador del metabolismo de carbohidratos
- c) mediador de defensa contra invasión microbiana o fungica
- d) aceptor de nodulación rizobial en raíces, o bien, como
- e) factor que interactúa con hormonas en la planta.

En 1964 se había propuesto que las lectinas actuaban como defensa de plantas contra bacterias y virus. Ahora se ha demostrado que la actividad serológica del "virus s" de la papa

puede ser reducida durante el almacenamiento por el daño de algunas proteasas, las cuales atacan la capa proteica del virus destruyendo a esta ultima ^{26,27}.

3.3.1.6 Efectos biológicos.

Se dice que altas concentraciones de hemaglutininas pueden ocasionar vómito y diarrea normalmente a las 2 o 3 horas después de haberlas consumido. Las lectinas causan aglutinación de células por uniones ramificadas de sacáridos, moléculas de glicolípidos y glicoproteínas de las células fuera de la superficie. Algunas lectinas ingeridas causan toxicidad por sus uniones con la superficie de células epiteliales del intestino, las cuales producen una reducción en la absorción de nutrientes por toda la pared intestinal y una posible inhibición de crecimiento e incluso la muerte. La unión de las lectinas con la superficie de la mucosa induce a un crecimiento del intestino, particularmente del delgado, haciendo que se pierda la estructura de otras membranas e interfiera seriamente con la digestión y absorción de nutrientes, por consiguiente hay un efecto drástico en la nutrición del organismo que las ingiere ⁵.

La forma mas utilizada para detectar la presencia de lectinas, se lleva a cabo realizando la prueba de aglutinación celular, poniendo en contacto una suspensión de eritrocitos (lavados con solución salina) con la solución que contenga la lectina, de tal forma que, una reacción negativa será la sedimentación de los eritrocitos y una positiva será la formación de agregados ya que los eritrocitos tienen en la superficie un receptor el cual se liga con la lectina. Esta característica es muy específica y por lo tanto la aglutinación se realiza solo con eritrocitos de especies animales que presenten en su membrana los azúcares a los que la lectina tiene afinidad para unirse.

3.3.1.7 Métodos de eliminación o prevención.

Las lectinas son termolábiles y pueden ser rápidamente eliminadas o inactivadas por un tratamiento térmico, ya que son de origen proteínico mucho más sensibles que los inhibidores de tripsina. Las lectinas se pueden considerar como auténticas enterotoxinas, a diferencia de los inhibidores de tripsina, los cuales se pueden clasificar como agentes antinutricionales. Ambas proteínas dañinas son parte de los denominados factores tóxicos termolábiles. Con métodos tradicionales de cocimiento casero, se puede obtener una adecuada inactivación de estas proteínas tóxicas, sin embargo en regiones de altitud elevada, el punto de ebullición se abate y puede ser una limitante en el proceso de inactivación. También son destruidas hirviendo por 60 minutos a presión atmosférica, o bien, en autoclave a 105°C por 30 minutos son inactivadas^{5,9}.

3.3.2 Inhibidores de proteasas.

La proteólisis es un proceso metabólico esencial para el procesamiento y la utilización de proteínas. A las enzimas encargadas de realizar el proceso de degradación de las proteínas se denominan proteasas. Estas enzimas tienen gran importancia en la degradación de las proteínas de reserva y permiten la asimilación del nitrógeno para los diferentes procesos metabólicos. Los inhibidores de proteasas son capaces de inhibir a las enzimas digestivas como la tripsina y quimotripsina y se encuentran distribuidos por la naturaleza en gran medida, además se ha demostrado que retardan el crecimiento de animales por virtud de su habilidad para interferir con la digestión de proteína dietaria. Los inhibidores de proteasas inhiben los sistemas enzimáticos de sus depredadores (microorganismos e insectos), y tienen una función reguladora, interviniendo en el proceso de autorregulación proteolítica o de almacenamiento en el organismo que los contiene. Los inhibidores de tripsina pueden coexistir en la misma planta con otros inhibidores proteolíticos; en la papa se encuentran

Además es muy estable en presencia de calor, ácido, álcali y enzimas proteolíticas como la pepsina. Esto se atribuye probablemente al efecto de estabilización de las uniones disulfuro sobre sus estructuras^{5,30}. En la siguiente tabla se resumen los inhibidores de proteasas conocidos a la fecha.

Cuatro tipos de inhibidores de proteasas se han identificado y se han denominado de serina, cisteína, aspártico y de metaloproteasas. Esta clasificación se basa en el aminoácido activo presente en el centro de reacción. Algunos de los inhibidores de serina son típicamente bifuncionales y poseen actividades inhibitorias de la tripsina y de la α - amilasa. Otros de los inhibidores de proteasas existen como proteínas con multidominios, en donde cada dominio posee actividad funcional.

Tabla 3. Inhibidores de proteasas conocidos a la fecha³⁰

| Familia | Proteasa inhibida |
|--|-----------------------------------|
| Inhibidores de proteasas | |
| Serina | Tripsina y quimiotripsina |
| Familia de inhibidor de la proteasa de Soya (Kunitz) | |
| Familia de Bowman Birk | |
| Familia del inhibidor de tripsina de la cebada | |
| Familia del inhibidor de la papa I | |
| Familia del inhibidor de la papa II | |
| Familia del inhibidor squash | |
| Familia del inhibidor de tripsina Ragi 1-2/maíz | |
| Familia de la serpina | |
| Cisteína (fitocistatinas) | Papaína, catepsinas B,H, L |
| Metaloproteasas | Carboxipeptidasa A, B |
| Aspártica | Catepsina D |

3.3.2.2 Inhibidores de la papa.

Los tubérculos de papa han sido reconocidos por largo tiempo por ser fuente abundante de una gran variedad de inhibidores de proteasas de diversas clases. Contienen además un grupo complejo de proteínas de 20 a 24 kDa que exhiben homólogos para inhibidores de proteínas de tipo Kunitz. Estos inhibidores juegan un papel muy importante en los mecanismos de defensa natural de los tubérculos contra insectos y ataque patógeno.

Estudios recientes sugieren que en este grupo complejo de proteínas se encuentra el inhibidor de catepsina D (proteínasa ácida), que fue aislada y caracterizada de los tubérculos de papa resultando que la secuencia de aminoácidos de esta proteína era homologa a la de la familia de inhibidores Kunitz, al inhibidor de subtilisina, así como a los inhibidores de tripsina y quimotripsina. Los resultados de estos estudios determinando la secuencia de aminoácidos N-terminal de 18 polipéptidos de este grupo infieren que la papa contiene una familia de genes que consta de varias isoformas de inhibidores de proteasas tipo Kunitz, los cuales están presentes en los tubérculos como lo es el grupo complejo de proteínas de 20 a 24 kDa., y que actúan como mecanismo de defensa natural de la papa contra posibles ataques patógenos ^{29,31}.

Algunas variedades de papas han sido estudiadas por contener gran variedad de inhibidores de proteasas estables a calor. Se llevó a cabo una digestión seguida por un análisis de aminoácidos por degradación de Edman. La secuencia de aminoácidos del inhibidor de quimotripsina consta de un peptido de 52 residuos de aminoácidos, mientras que el otro inhibidor era específico para tripsina, conteniendo 51 residuos de aminoácidos. Estos peptidos son homólogos y difieren solamente en la posición 38 ya que el inhibidor de quimotripsina posee un residuo de leucina y el inhibidor de tripsina posee una arginina. Además el inhibidor de tripsina, es un conjunto de aminoácidos con excepción de la tirosina y ácido aspártico, pero constan con 5 de las 18 posiciones aminoterminales idénticas, incluyendo 3 residuos de metionina en los tripéptidos Pro-Ile-Cys ³².

3.3.2.3 Localización de los inhibidores de proteasas.

Los inhibidores de tripsina se encuentran en una gran variedad de alimentos, entre los más importantes se encuentran las semillas y leguminosas ya que estos alimentos proporcionan la mayor parte de proteína en las dietas de mucha gente de todo el mundo por proveer cerca del 10% de proteína al mundo. En la planta de papa principalmente en el tubérculo, se han localizado inhibidores enzimáticos: tripsina, colinesterasa e invertasa. Este último se purificó y se logró determinar características similares a las de una proteína pH óptimo de 4.7, termolábil, y desnaturizable a 50°C³³.

3.3.2.4 Efectos biológicos.

Nutricionalmente causan un retraso en el crecimiento o un índice bajo de Eficiencia Proteica (PER), al ser inactivado por tratamientos térmicos hace que el PER aumente. La inhibición de tripsina se ve reflejada en una hipertrofia pancreática en ratas, a este inhibidor, aislado de soya se le ha atribuido una disminución en el crecimiento del 30 al 40%, estos mismos efectos se han observado, cuando se han dado purificados tanto los inhibidores enzimáticos de "Kunitz" como los de Bowman-Birk²⁹.

3.3.2.5 Métodos de eliminación o prevención.

Para inactivar a los inhibidores de proteasas en un 90%, es suficiente un tratamiento con agua hirviendo por tres minutos, equivalente al escaldado que se realiza en varios vegetales. La mayoría de los inhibidores de proteasas son inactivados por acción del calor, por lo que en el cocimiento de los alimentos que contienen este tipo de compuestos, va acompañado generalmente de un incremento en la calidad nutritiva. Sin embargo un tratamiento severo, puede disminuir la calidad proteína dietética, por lo que es de suma importancia tener un

control sobre el tiempo y temperatura de cocimiento. Así como también un previo remojo disminuye substancialmente tanto el tiempo como la temperatura del proceso³⁰.

Para el caso de la identificación de los inhibidores de tripsina, la enzima mas utilizada es la extraída del páncreas bovino, y la metodología mas utilizada es la técnica de Kakade y colaboradores, usando un sustrato sintético³².

4. PARTE EXPERIMENTAL.

4.1 Preparación de las muestras.

- Se estudiaron 14 variedades de papas enteras (tabla No. 4), todas cosechadas en México, clasificadas y proporcionadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestal Agrícola y Pecuarías (INIFAP) del centro experimental de papa en el Edo. de México para el Programa Nacional de Investigación en el cultivo de la papa.

Tabla No. 4 Nombre de las 14 variedades de papa en estudio.

| Muestra | Variedad |
|---------|-----------|
| 1 | López |
| 2 | Alpha |
| 3 | Murca |
| 4 | Puebla |
| 5 | Norteña |
| 6 | Michoacán |
| 7 | Juanita |
| 8 | Tollocan |
| 9 | Marciana |
| 10 | Rosita |
| 11 | Montsana |
| 12 | Ireri |
| 13 | Atzimba |
| 14 | Sn. José. |

- Después de ser cosechadas y recolectadas, se almacenaron durante 90 días a una temperatura de 18 a 20° y 50% humedad relativa, condiciones similares a una bodega industrial, impidiendo los rayos directos de sol, lo anterior con el fin de simular el tiempo que tarda en llegar hasta el consumidor a partir de la cosecha.

- Se seleccionaron 10 piezas por cada variedad a cada tiempo, 0, 30, 60 y 90 días después de la cosecha, cuidando de no presentar ningún daño físico por posibles contaminaciones o áreas verdes.
- Después de seleccionar las muestras se realizó una limpieza de las mismas, lavando con agua corriente para eliminar tierra y cualquier impureza, una vez limpias se secaron perfectamente.
- Se les eliminó la cáscara.
- Se partieron en trocitos para posteriormente secarlas por liofilización.
- Se molieron y se tamizaron utilizando una malla de $\frac{1}{2}$ mm de diámetro, para obtener la harina fina.
- Ya como harina se colocaron las muestras en un frasco de vidrio limpio de cierre perfecto y se identificaron. Se almacenaron a temperatura ambiente hasta el momento de su análisis.

A las muestras molidas se les realizaron los análisis de hemaglutininas e inhibidores de tripsina^{32,34}.

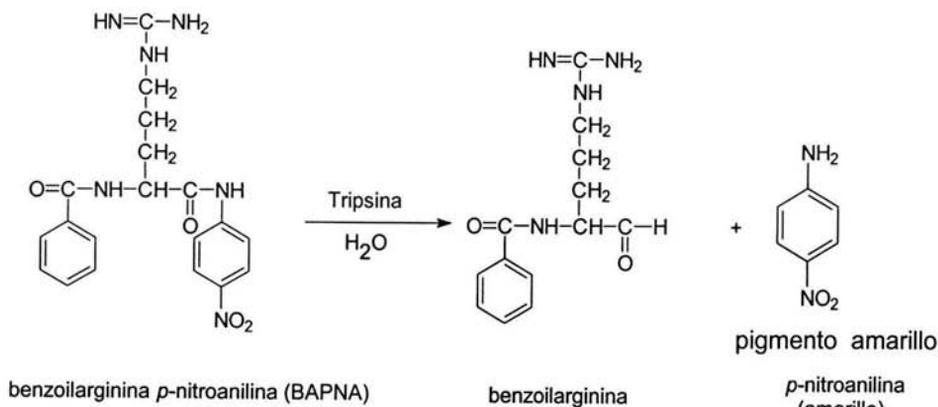
4.2 Determinación de inhibidores de tripsina.

Fundamento.

La técnica llevada a cabo en la presente investigación se realizó en base a la utilizada por Kakade y colaboradores³², la cual se basa en observar la inhibición producida por un extracto acuoso de la muestra sobre una solución estándar de tripsina. El extracto directo o diluido se pone en contacto con una solución estandarizada de tripsina, y después de un cierto tiempo se determina la actividad proteolítica remanente, por medio de un sustrato

sintético (BAPNA), el cual producirá una coloración que se lee en el espectrofotómetro.

Dicha coloración es inversamente proporcional al contenido de inhibidores de la muestra.



Una unidad de tripsina (U.T.) es arbitrariamente definida como un incremento de 0.01 unidades de absorbancia a 410nm. por 10 ml de mezcla de reacción descritas por Kakade y colaboradores. La actividad de inhibidores de tripsina se expresa en términos de unidades de tripsina inhibida (U.T.I.) La técnica se puede ver con detalle en el Anexo A.

La lectura de absorbancia (A), directamente se pasa a unidades de tripsina:

$$U. T. = A \times 100$$

La actividad antitripsica se define como el número de unidades de tripsina inhibida (UTI).

$$U.T.I. = U.T. \text{ referencia} - U.T. \text{ muestra}$$

El procedimiento se describe en el anexo A.

4.3 Determinación semicuantitativa de hemaglutininas.

a) Fundamento.

La detección de hemaglutininas o lectinas en extractos de plantas se lleva a cabo con una técnica de diluciones seriadas (método Jaffé³⁴), en la cual se determina el punto final por una estimación visual de la aglutinación de glóbulos rojos.

El método de microtitulación es rápido y requiere una mínima cantidad de muestra. Se necesita trabajar con glóbulos rojos lavados y activados con una solución de proteasa disponible, en este caso fue tripsina, ya que la sensibilidad de aglutinación se mejora considerablemente con este tratamiento.

Se reporta la máxima dilución que presente aglutinación observable de acuerdo a la hilera de pozos correspondiente en la placa tipo "V" utilizada. Para detalle de la técnica y procedimiento ver Anexo A.

Los datos obtenidos tanto de inhibidores de tripsina y de hemaglutininas, se analizaron de acuerdo a un modelo de diseño de experimentos de dos factores, el tiempo de almacenaje y las variedades de papa. Puesto que cada factor resultó relevante en el estudio, se procedió a un análisis detallado (método de Scheffé^{38,39}) para inhibidores de tripsina considerando algunas comparaciones sugeridas de interés sobre los factores. Mientras que para hemaglutininas por tratarse de una técnica semicuantitativa (estimación visual) se llevo a cabo un método de análisis no paramétrico, por asignación de rangos. Las diferentes metodologías de análisis fueron sugeridas por el maestro Guillermo Molina a quien se le agradece el apoyo para la realización de éstas.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Y COLCLUSIONES

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

5.1 Inhibidores de tripsina.

En la tabla 1 se pueden ver los contenidos de inhibidores de tripsina promedio para las 14 variedades a los cuatro tiempos de monitoreo con su desviación estándar, mientras que en la tabla I del anexo B, se presentan los resultados experimentales correspondientes a los contenidos de cada una de las variedades.

Tabla 1. Resultados Inhibidores de Tripsina

Unidades de Tripsina Inhibidas promedio para cada variedad a diferentes tiempos de almacenamiento con su desviación estándar.

| Variedad | 0 días | 30 días | 60 días | 90 días |
|-----------|--------------|-------------|------------|------------|
| Lopez | 88.4 ± 4.1 | 80.1 ± 3.2 | 62.0 ± 9.0 | 54.5 ± 7.1 |
| Alpha | 52.5 ± 9.2 | 47.2 ± 6.6 | 39.2 ± 3.7 | 35.7 ± 3.0 |
| Murca | 83.4 ± 6.5 | 66.3 ± 6.4 | 63.8 ± 9.0 | 79.7 ± 6.2 |
| Puebla | 33.0 ± 4.0 | 12.1 ± 1.8 | 15.8 ± 7.1 | 13.2 ± 6.7 |
| Norteña | 67.6 ± 4.2 | 38.6 ± 8.2 | 27.3 ± 7.8 | 25.3 ± 6.8 |
| Michoacan | 61.7 ± 5.9 | 38.5 ± 8.7 | 40.8 ± 7.0 | 58.5 ± 5.5 |
| Juanita | 86.0 ± 6.1 | 35.4 ± 5.6 | 39.7 ± 6.4 | 43.5 ± 6.1 |
| Tollocan | 45.2 ± 4.3 | 39.7 ± 3.4 | 35.0 ± 6.8 | 30.4 ± 6.4 |
| Marciana | 115 ± 7.4 | 19.4 ± 4.7 | 39.9 ± 7.9 | 45.0 ± 7.5 |
| Rosita | 51.6 ± 6.8 | 50.2 ± 6.8 | 48.6 ± 5.4 | 47.2 ± 4.4 |
| Montsana | 66.7 ± 12.5 | 54.3 ± 10.4 | 54.3 ± 7.5 | 71.5 ± 9.7 |
| Ireri | 106.7 ± 11.1 | 71.9 ± 9.5 | 86.6 ± 7.6 | 83.2 ± 8.5 |
| Atzimba | 79.4 ± 3.3 | 71.2 ± 5.1 | 69.7 ± 8.6 | 58.8 ± 5.3 |
| San Jose | 90.1 ± 15.8 | 83.2 ± 9.3 | 52.2 ± 5.2 | 37.2 ± 7.3 |

Como se puede ver en la tabla anterior, para la mayoría de las variedades hay una tendencia a disminuir el nivel de inhibidores de tripsina conforme pasa el tiempo de almacenamiento. Sin embargo, para el análisis de resultados se consideró un diseño de experimento de acuerdo a un modelo de dos factores sin interacción, los 4 tiempos de almacenamiento y 14 variedades. Se consideró un modelo sin interacción, debido a que no existe algún

antecedente del efecto combinado de contenidos de UTI con tiempos de almacenaje para esas variedades de papa, por lo que se analizaron los tiempos y las variedades de manera independiente; como se muestra en la tabla 2 en el análisis de varianza, donde se concluyó que tanto el tiempo de almacenaje como las variedades de papa mostraron diferencia significativa, para mas detalle ver la tabla No. 2 del anexo B.

De acuerdo a esta diferencia, y a las desviaciones estándares observadas en la tabla No. 1, se seleccionó el método de Scheffé⁴⁸ para el análisis de resultados, debido a que este método es ideal para analizar cualquier numero de datos con grandes desviaciones estándares, debido a que controla y minimiza el error estadístico que se obtiene normalmente como resultado de la presencia de efectos reales o del mismo error experimental, utilizando medias tanto para tiempos como para variedades, permitiendo hacer mas ilustrativo el comportamiento de todas las variedades al paso del tiempo y proponer comparaciones.

El método Scheffé se basa en comparaciones donde se asignan coeficientes positivos o negativos dependiendo la comparación, de tal manera que la suma de éstos coeficientes debe ser igual a cero.

A continuación se presenta un ejemplo para explicar el método, y asignación de coeficientes. Este ejemplo es la comparación No. 3 de la tabla que se presenta posteriormente.

Ejemplo: Se quiere saber si las 14 variedades de papa tienen el mismo contenido de inhibidores de tripsina a los 30 y 60 días, (asignando el valor de -1 en cada uno de los tiempos), que posiblemente a los 90 días, (al que se asigna un valor de +2), de tal manera que la suma de estos sea igual a cero.

| Comp. | 0 | 30 | 60 | 90 | S _{ck} | ICI | S _c | S _{.05} | S _{.01} | Dif |
|-------|------|------|------|------|-----------------|------|----------------|------------------|------------------|-----|
| | 73.4 | 50.6 | 48.2 | 48.8 | | | | | | |
| 3 | 0 | -1 | -1 | 2 | 6 | | | | | |
| | 0 | -51 | -48 | 97.7 | | 1.15 | 5.26 | 14.7 | 17.7 | NS |

Teniendo los coeficientes asignados con sus respectivos signos, se multiplican por las medias correspondientes (en este caso a cada tiempo de almacenaje), de tal manera que ICI es igual a la suma de las medias multiplicadas por su coeficiente.

$$ICI = |-50.63 - 48.2 + 97.68| = 1.15$$

S_{ck} es igual a la suma de los coeficientes elevados al cuadrado.

$$S_{ck} = (-1^2 + -1^2 + 2^2) = 6$$

S_C es el error estándar de la comparación, es igual a la raíz cuadrada del cuadrado medio del error entre el número de replicas por la suma de los coeficientes elevados al cuadrado.

$$S_C = ((194 / 42) * (6))^{1/2} = 5.26$$

Por ultimo, se calcula el estadístico de Scheffé a un nivel de significancia, el cual se determina calculando la raíz cuadrada de la multiplicación del error estándar de la comparación por tres (ya que son los 4 tiempos menos 1) y eso por el valor calculado de tablas a 0.05 y 0.01 de significancia.

$$S_{.05} = 5.26 * (3F_{.05,3,151})^{1/2} = 5.26 * ((3) * (2.60))^{1/2} = 14.7$$

$$S_{.01} = 5.26 * (3F_{.01,3,151})^{1/2} = 5.26 * ((3) * (3.78))^{1/2} = 17.7$$

Como el valor ICI es menor que S_{.05} y el de S_{.01} se dice no hay diferencia significativa en la comparación de 90 días con la combinación de 30 a 60 días, ya que solo se rechazaría si ICI fuera mayor a S, por ello en la tabla se muestra NS (no significativa). Para una mejor explicación estadística del método, ver anexo C.

A continuación, en la tabla No. 2, se presentan los resultados de inhibidores de tripsina para los diferentes tiempos de almacenamiento, tabla No. 2.

Tabla No. 2 Comparaciones sugeridas de los diferentes tiempos de almacenaje en las 14 variedades de papa de inhibidores de tripsina.

| Ensayo | 0 días | 30 días | 60 días | 90 días | S _{ck} | ICI | S _c | S _{.05} | S _{.01} | Diferencia |
|--------|--------|---------|---------|---------|-----------------|--------|----------------|------------------|------------------|------------|
| | 73.43 | 50.63 | 48.2 | 48.84 | | | | | | |
| 1 | 0 | 1 | 0 | -1 | 2 | | | | | |
| | 0 | 50.63 | 0 | -48.84 | | 1.79 | 3.04 | 8.49 | 10.24 | NS |
| 2 | 0 | 0 | 1 | -1 | 2 | | | | | |
| | 0 | 0 | 48.20 | -48.84 | | 0.64 | 3.04 | 8.49 | 10.24 | NS |
| 3 | 0 | -1 | -1 | 2 | 6 | | | | | |
| | 0 | -50.63 | -48.20 | 97.68 | | 1.15 | 5.26 | 14.70 | 17.73 | NS |
| 4 | 3 | -1 | -1 | -1 | 12 | | | | | |
| | 220.29 | -50.63 | -48.20 | -48.84 | | 72.62* | 7.45 | 20.79 | 25.07 | Sig. 1% |
| 5 | 2 | -1 | -1 | 0 | 6 | | | | | |
| | 146.86 | -50.63 | -48.20 | 0 | | 48.03* | 5.26 | 14.70 | 17.73 | Sig. 1% |
| 6 | 1 | -1 | 0 | 0 | 2 | | | | | |
| | 73.43 | -50.63 | 0 | 0 | | 22.80* | 3.04 | 8.49 | 10.24 | Sig. 1% |

El número en la parte izquierda de la tabla corresponde a cada comparación propuesta y cada una de ellas fue analizada como el ejemplo anterior. En la comparación No.1, (comparación entre 30 y 90 días) y la No. 2 (comparación entre 60 y 90 días), no existió diferencia significativa en relación al promedio de los contenidos de Unidades de Tripsina Inhibidas por g de muestra (UTI/g). La comparación No. 3 (comparación de 90 días contra 30 y 60 días) indica que, se pueden tener las papas hasta 90 días sin cambios significativos como si las tuviéramos durante solo 30 o 60 días almacenadas, siempre y cuando se encuentren en condiciones adecuadas de aireación y temperatura similares a los de una bodega⁴⁵.

Mientras que en la comparación 4 (comparación de 0 días contra 30, 60 y 90 días), se observó que si existe diferencia significativa con respecto a las papas recién cosechadas,

logrando establecer que las papas en almacenaje después de un mes de haber sido cosechadas, la tendencia en el contenido de inhibidores disminuye y se mantiene relativamente constante, además de que este periodo ayuda a bloquear la entrada de patógenos. Para corroborar que la diferencia se encuentra en el primer mes de almacenaje, se consideraron las comparaciones No. 5 (comparación entre 0 días y la combinación entre 30 y 60) y la comparación No. 6 (0 días contra 30 días), donde efectivamente si existió diferencia significativa.

De acuerdo al método de Scheffé se utilizan intervalos de confianza simultáneos porque sirven para controlar y minimizar el error estadístico como se había mencionado, siendo el mismo valor de error estándar para todas las medias. A continuación se presentan los intervalos simultáneos de confianza (tabla 3), considerando un 95%, donde se tiene un valor de $t_{(0.05,151)} = 1.96$, que multiplicado por el error estándar (2.15), se obtiene el 4.21. De tal manera que las medias con una estimación de intervalo de confianza de 95% son:

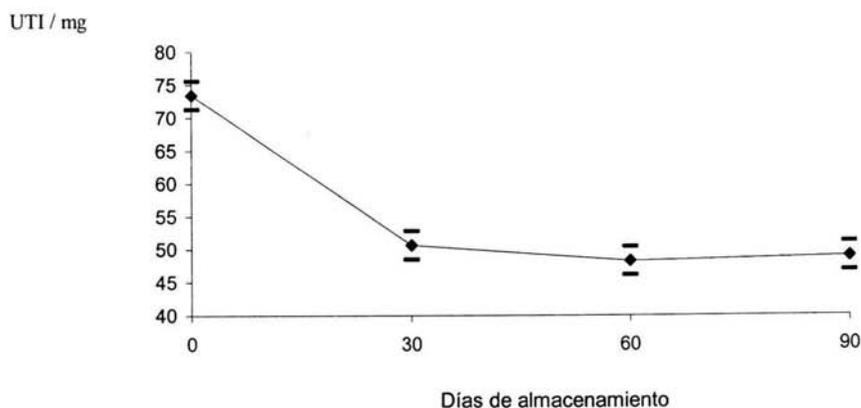
Tabla 3. Intervalos simultáneos de confianza con el criterio de Scheffé.

| | error | | | Intervalo | Intervalo |
|---------|-------|----------|-------------|-----------|-----------|
| | media | estándar | IC del 95% | (+) | (-) |
| 0 días | 73.43 | 2.15 | 73.4 ± 4.21 | 69.22 | 77.64 |
| 30 días | 50.63 | 2.15 | 50.6 ± 4.21 | 46.42 | 54.84 |
| 60 días | 48.20 | 2.15 | 48.2 ± 4.21 | 43.99 | 52.41 |
| 90 días | 48.84 | 2.15 | 48.8 ± 4.21 | 44.63 | 53.05 |

Donde el estimador del error estándar es igual a la raíz cuadrada del cuadrado medio del error entre el numero de réplicas:

$$(CM_E / r)^{1/2} = (194/42)^{1/2} = 2.15$$

Estos intervalos son representados en la gráfica 1, donde se ve la tendencia de las variedades a los tiempos de almacenaje, en cuanto a contenidos de inhibidores de tripsina,



Gráfica 1. Intervalos simultáneos de confianza según Sheffé de los promedios (UTI) para diferentes tiempos de almacenaje de las 14 variedades de papa.

Como se puede ver en la gráfica anterior, el comportamiento general de las 14 variedades de papa es a disminuir en relación al tiempo de almacenaje.

La media para el caso de papas recién cosechadas, es considerable y significativamente diferente a los otros 3 tiempos de almacenaje, observándose el valor más alto en las papas recién cosechadas, disminuyendo a medida que transcurría el tiempo de almacenamiento cumpliendo así con lo esperado, ya que es sabido que están presentes y de hecho que actúan como mecanismo de defensa contra ataque de patógenos, inhibiendo su actividad enzimática, disminuyendo notablemente a partir de los primeros días de almacenaje. Concluyendo entonces que a partir de los primeros 30 días de almacenaje y hasta los 90 días las papas no sufren cambios significativos en cuanto a UTI/mg de muestra. Como consecuencia de que estadísticamente, de acuerdo a la tabla No. 2 del anexo de análisis de varianza, también las variedades son diferentes, se procedió a buscar diferentes criterios de comparación ahora entre las 14 variedades; criterios, que gracias a las recopilaciones que

algunos investigadores del INIFAP aplican para el mejoramiento genético, con el objetivo de que sirva como guía práctica para estudios relacionados con la papa así como para aumentar la producción o hasta para mejorar la alimentación del pueblo mexicano ^(3,4), se tomaron en cuenta para llevar a cabo las comparaciones entre las 14 variedades. En estos estudios anteriores ya se tienen identificadas las variedades resistentes y se conocen los diferentes criterios aquí referidos; la presentación de los resultados es igual que para el caso de tiempos de almacenamiento, así como la metodología que se llevó a cabo, utilizando medias e intervalos de confianza simultáneos, de acuerdo al método de Scheffé.

En el Anexo C, tabla No.2, se presenta el mismo análisis a tiempo cero únicamente, debido a la diferencia significativa encontrada con respecto a 30, 60 y 90 días y que valdría la pena posteriormente seguir estudiando, disminuyendo por ejemplo, tiempos de almacenaje o el número de variedades.

A continuación se presenta el análisis de variedades utilizando medias para hacerlo más representativo, debido a que el método así lo establece, obteniendo las tendencias de importancia. Cabe mencionar que al final de cada ensayo ó comparación (primer columna) dentro de las tablas de comparación, aparecerá un "NS" al final de cada ensayo, que indicará la no diferencia significativa, mientras que cuando aparezca "S", será que si existió diferencia significativa.

El primer criterio de comparación fue el origen, y la primer comparación propuesta fue entre la variedad Alpha Vs. Tollocan, Marciana, Rosita e Ireri, por ello se le puso un 4 de coeficiente debajo de Alpha y a las 4 variedades un menos uno. Se utilizó a la papa Alpha debido a que es la única variedad extranjera en estudio (Holandesa), además cabe

mencionar que el 64% de la superficie de siembra en México se lleva a cabo con variedades extranjeras, en relación con las principales variedades mexicanas sembradas en el 36% restante: Rosita, Marciana, Tollocan y San Jose ³. El resultado del análisis fue que no existe diferencia significativa entre éstas variedades.

1. Variedades nacionales contra importadas.

| Ens | Y.1. Lpz | Y.2. Alpha | Y.3. Murca | Y.4. Pue | Y.5. Nort | Y.6. Mich | Y.7. Juan | Y.8. Tollo | Y.9. Marc | Y.10. Rosi | Y.11. Mont | Y.12. Irerí | Y.13. Alz | Y.14. S.J | Sck | ICI | Sc | S.05 | S.01 | Diferencia |
|-----|-------------|---------------|---------------|-------------|--------------|--------------|--------------|---------------|--------------|---------------|---------------|----------------|--------------|--------------|-----|-------|-------|-------|-------|------------|
| | 71.47 | 43.63 | 73.31 | 18.52 | 39.68 | 49.88 | 51.17 | 37.58 | 54.90 | 49.49 | 61.69 | 87.09 | 69.77 | 65.68 | | | | | | |
| 1 | — | -4 | — | — | — | — | — | 1 | 1 | 1 | — | — | — | 1 | 20 | | | | | |
| | | -175 | | | | | | 37.58 | 54.90 | 49.49 | | | | 65.68 | | 33.14 | 17.98 | 85.77 | 95.72 | NS |
| 2 | — | -1 | — | — | — | — | — | — | — | 1 | — | — | — | — | 2 | | | | | |
| | | -43.6 | | | | | | | | 49.49 | | | | | | 5.86 | 5.69 | 27.12 | 30.27 | NS |
| 3 | — | -1 | — | — | — | — | — | 1 | — | — | — | — | — | — | 2 | | | | | |
| | | -43.6 | | | | | | 37.58 | | | | | | | | 6.05 | 5.69 | 27.12 | 30.27 | NS |
| 4 | 1 | -13 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 182 | | | | | |
| | 71.47 | -567 | 73.31 | 18.52 | 39.68 | 49.88 | 51.17 | 37.58 | 54.90 | 49.49 | 61.69 | 87.09 | 69.77 | 65.68 | | 163.1 | 54.24 | 258.7 | 288.8 | NS |

Se realizó una búsqueda más específica, que se muestra en la comparación 2, Alpha en comparación con Rosita, que es la variedad mexicana que se siembra en mayor porcentaje, y tampoco se detectó diferencia, así mismo en la comparación 3, en que se analizó Alpha vs. Tollocan (segunda variedad que mas se cultiva de las mexicanas), resultó no existir diferencia significativa. Por lo que se decidió hacer una comparación global, (comparación No. 4), comparando Alpha contra todas las demás variedades en estudio, y observamos que se mantuvo esa igualdad. Por lo que se concluye que la tendencia de UTI de Alpha es la mismo que para todas las variedades, y que no importa si es nacional o extranjera.

Así mismo se llevo a cabo un segundo criterio de comparación: en relación a las principales variedades mexicanas, en donde tampoco se obtuvieron diferencias y que por tanto se puede decir que la variedad Rosita, variedad mexicana que se siembra en mayor porcentaje,

es igual a todas las demás variedades mexicanas, incluyendo a las variedades Marciana, Tollocan y San Jose, variedades nacionales mas cultivadas.

Un tercer criterio de comparación fue con respecto al ciclo de cultivo (precoz, intermedio y tardío³), resultando que hay diferencias significativas en cuanto a contenidos de inhibidores de tripsina entre las variedades, correspondientes a cada ciclo vegetativo, (tardío de 120 a 180 días desde la siembra hasta la cosecha, intermedio de 105 a 120 días y precoz de 90 a 105 días).

El cuarto criterio de comparación y mas importante, fue en relación a la resistencia a tizón tardío. De acuerdo a los antecedentes de este trabajo, es la principal enfermedad causada por la plaga que daña al cultivo de la papa, misma que puede llegar a reducir los rendimientos en variedades susceptibles hasta 2.2 t/ha⁽⁴⁾.

| Ens | Lpz | Alpha | Murca | Pue | Nort | Mich | Juan | Tollo | Marc | Rosi | Mont | Ileri | Atz | S.J | Sck | I.C.I | Sc | S.05 | S.01 | Diferencia |
|-----|-------|--------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|--------|-------|-------|-------|------------|
| | 71.47 | 43.63 | 73.31 | 18.52 | 39.68 | 49.88 | 51.17 | 37.58 | 54.90 | 49.49 | 61.69 | 87.09 | 69.77 | 65.68 | | | | | | |
| 1 | — | — | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | -9 | 1 | 1 | 1 | 0 | 90 | | | | | |
| 2 | 1 | -1 | 73.31 | 18.52 | 39.68 | 49.88 | 51.17 | 37.58 | 0 | -445 | 61.69 | 87.09 | 69.77 | 0 | 2 | 43.28 | 38.14 | 181.9 | 203.1 | NS |
| 3 | 71.47 | -43.63 | — | — | — | 1 | — | -3 | — | — | — | 1 | 1 | — | 12 | 27.84* | 5.69 | 27.12 | 30.27 | Sig. al 5% |
| 4 | — | — | — | — | — | 49.88 | — | -113 | — | — | — | 87.09 | 69.77 | — | 2 | 94.0* | 13.93 | 66.43 | 74.15 | Sig. al 1% |
| 5 | — | — | — | — | — | — | — | 1 | — | — | — | -87.1 | — | — | 2 | 49.51* | 5.69 | 27.12 | 30.27 | Sig. al 1% |
| 6 | — | — | — | — | — | -1 | — | 1 | — | — | — | — | -69.8 | — | 2 | 32.19* | 5.69 | 27.12 | 30.27 | Sig. al 1% |
| 7 | — | — | — | — | — | -49.88 | — | 37.58 | — | — | — | — | — | — | 2 | 12.30 | 5.69 | 27.12 | 30.27 | NS |
| 8 | — | -1 | — | — | — | -1 | — | — | — | — | — | 1 | — | — | 2 | 37.21* | 5.69 | 27.12 | 30.27 | Sig. al 1% |
| | | -43.63 | — | — | — | -49.88 | — | 37.58 | — | — | — | 87.09 | — | — | 2 | 6.05 | 5.69 | 27.12 | 30.27 | NS |

Se tomó como criterio de comparación debido a que el uso de variedades resistentes como Rosita, Juanita, Atzimba, Tollocan, Puebla, Michoacán e Ileri podrían llegar a reemplazar a las variedades susceptibles⁴ como Alpha. Se inició comparando las variedades mexicanas

resistentes a tizón tardío en relación con Rosita, la mas comercial y perteneciente a este mismo grupo, sin mostrar diferencia significativa, posteriormente en la comparación 2, Alpha (importada y susceptible) vs. López también susceptible pero mexicana, si existió diferencia que aunque no fue altamente significativa, si se puede decir que el contenido de inhibidores de tripsina entre estas dos variedades es diferente; al igual en la comparación 3, cuando comparamos Tollocan (mexicana resistente) en relación con Atzimba, Ileri y Michoacán que también lo son, presentaron diferencia significativa. Para encontrar la diferencia se realizaron las comparaciones 4 (Tollocan vs. Ileri), 5 (Tollocan vs. Atzimba) y 6 (Tollocan vs. Michoacán), también al comparar Michoacán con Ileri en la comparación 7, resultando para todas estas combinaciones haber diferencias significativas. Por ultimo en la comparación 8, de Tollocan vs. Alpha, resultó no existir diferencia significativa. Esto nos sugiere que en cuanto a unidades de tripsina inhibidas sería igual tener papas Alpha que papas Tollocan y López, pero no en cuanto a Ileri, Atzimba o Rosita.

El color fue el quinto criterio de comparación, en donde la única diferencia significativa encontrada fue al comparar Puebla de piel roja en relación con Michoacán de piel blanca, ambas resistentes a tizón tardío.

En cuanto a la región o zona geográfica de cultivo y calidad para fritura no hubo ninguna diferencia significativa, por lo que en cuanto a inhibidores de tripsina es igual tener papas Alpha o Tollocan y Norteña que son recomendadas para fritura por su calidad industrial que cualquier otra variedad. Así como en cuanto a susceptibilidad a heladas en donde tampoco se encontró diferencia significativa, se puede decir que no afecta en términos de inhibición. Para ver el detalle de las comparaciones (observación global), ver la tabla 1 del Anexo C, que es la tabla de comparaciones donde se presentan todas las comparaciones del análisis.

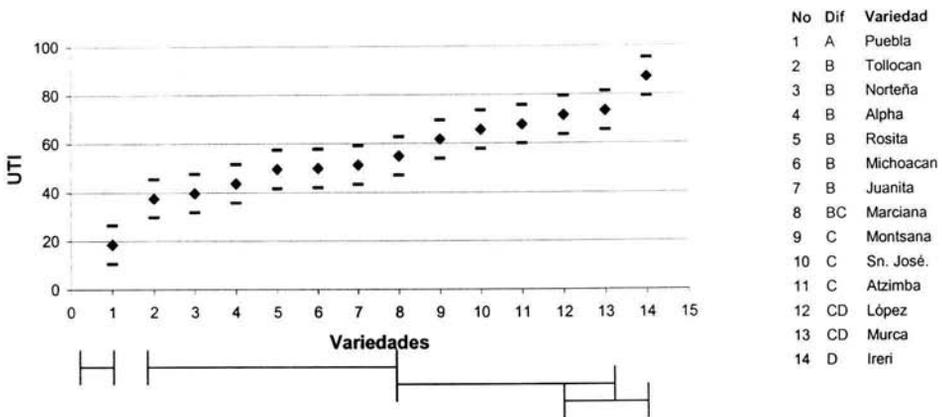
Dada la importancia de analizar los resultados a tiempo cero, debido al comportamiento diferente con respecto a los demás tiempos, se presenta en la tabla No. 2 del mismo anexo, un análisis basado exactamente en los mismos criterios de comparación. A continuación se presenta lo mas representativo de este análisis.

Igual que para tiempos de almacenamiento se puede presentar la información acerca de las catorce variedades por medio de intervalos simultáneos de confianza, considerando un 95%, el valor del estadístico t, sería $t_{(0.05,151)} = 1.96$, y el estimador del error estándar: $(CM_E / r)^{1/2} = (194/12)^{1/2} = 4.02$, por lo tanto las medias de tratamientos tienen los siguientes intervalos que se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 4. Intervalos de confianza simultáneos para variedades, con el criterio de Scheffé.

| | error | | | Intervalo | Intervalo |
|------------------------|-------|----------|--------------|-----------|-----------|
| | media | estándar | IC del 95% | (+) | (-) |
| López ^{CD} | 71.47 | 4.02 | 71.47 ± 7.88 | 79.35 | 63.59 |
| Alpha ^B | 43.63 | 4.02 | 43.63 ± 7.88 | 51.51 | 35.75 |
| Murca ^{CD} | 73.31 | 4.02 | 73.31 ± 7.88 | 81.19 | 65.43 |
| Puebla ^A | 18.52 | 4.02 | 18.52 ± 7.88 | 26.40 | 10.64 |
| Norteña ^B | 39.68 | 4.02 | 39.68 ± 7.88 | 47.56 | 31.80 |
| Michoacán ^B | 49.88 | 4.02 | 49.88 ± 7.88 | 57.76 | 42.00 |
| Juanita ^B | 51.17 | 4.02 | 51.17 ± 7.88 | 59.05 | 43.29 |
| Tollocan ^B | 37.58 | 4.02 | 37.58 ± 7.88 | 45.46 | 29.70 |
| Marciana ^{BC} | 54.9 | 4.02 | 54.90 ± 7.88 | 62.78 | 47.02 |
| Rosita ^B | 49.5 | 4.02 | 49.50 ± 7.88 | 57.38 | 41.62 |
| Montsana ^C | 61.69 | 4.02 | 61.69 ± 7.88 | 69.57 | 53.81 |
| Ireri ^D | 87.1 | 4.02 | 87.10 ± 7.88 | 94.98 | 79.22 |
| Atzimba ^C | 69.77 | 4.02 | 69.77 ± 7.88 | 77.65 | 61.89 |
| San José ^C | 65.68 | 4.02 | 65.68 ± 7.88 | 73.56 | 57.80 |

Nota: Se marca con (^{A, B, BC, C, CD y D}) con el fin de marcar diferencias en base a las medias y hacer mas clara la gráfica No. 2.



Gráfica 2. Intervalos de Confianza según Scheffé para las diferentes variedades con sus tiempos de almacenaje.

Como se puede ver en la gráfica No.2, Puebla es la variedad mas baja en cuanto a unidades de tripsina inhibida, con $18.52 (\pm 7.88)$, después como segundo grupo estarían las variedades Tollocan $37.58 (\pm 7.88)$, Norteña $39.68 (\pm 7.88)$, Alpha $43.63 (\pm 7.88)$, Rosita $49.50 (\pm 7.88)$, Michoacán $49.88 (\pm 7.88)$, Juanita $51.17 (\pm 7.88)$, y Marciana $54.9 (\pm 7.88)$, la variedad Marciana también perteneciendo el tercer grupo, junto con Montsana con $61.69 (\pm 7.88)$, San Jose 65.68 , Atzimba con $69.77 (\pm 7.88)$, Lopez con $71.47 (\pm 7.88)$ y Murca con $73.31 (\pm 7.88)$, y como cuarto grupo estas dos últimas (López, Murca) junto con Ileri $87.1 (\pm 7.88)$. Estos 4 diferentes grupos de variedades fueron clasificados de acuerdo a diferencias significativas entre estos, que podrían ser analizados a detalle en posteriores estudios.

A. Puebla

B. Tollocan, Norteña, Alpha, Rosita, Michoacán, Juanita y Marciana.

C. Marciana, Montsana, San Jose, Atzimba, López, Murca.

D. Lopez, Murca e Ileri

5.2 Hemaglutininas.

En la tabla 5 se pueden ver los resultados correspondientes a los títulos de hemaglutinación de cada una de las variedades en donde cada muestra se trabajó también por triplicado.

Tabla 5. Resultados Lectinas

Títulos de hemaglutinación para cada variedad a diferentes tiempos de almacenamiento (Determinados por triplicado).

| Día | Rep | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
|-----|-----|-------|-------|-------|--------|---------|------|---------|----------|-------|--------|-------|-------|--------|----------|
| | | López | Alpha | Murca | Puebla | Norteña | Mich | Juanita | Tollocan | Marc. | Rosita | Monts | Irerí | Atzim. | Sn. José |
| 0 | 1 | 5 | 6 | 3 | 4 | 5 | 6 | 2 | 3 | 4 | 4 | 7 | 8 | 5 | 4 |
| | 2 | 4 | 6 | 4 | 3 | 5 | 6 | 3 | 3 | 4 | 4 | 7 | 8 | 4 | 4 |
| | 3 | 4 | 6 | 4 | 4 | 5 | 6 | 3 | 3 | 5 | 4 | 7 | 8 | 4 | 4 |
| 30 | 1 | 4 | 7 | 3 | 5 | 5 | 7 | 3 | 4 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 2 | 4 | 7 | 2 | 5 | 4 | 7 | 2 | 3 | 4 | 5 | 4 | 6 | 4 | 5 |
| | 3 | 4 | 7 | 2 | 5 | 4 | 6 | 3 | 4 | 5 | 5 | 4 | 6 | 4 | 5 |
| 60 | 1 | 6 | 8 | 2 | 3 | 4 | 6 | 3 | 5 | 5 | 5 | 6 | 6 | 4 | 5 |
| | 2 | 6 | 7 | 2 | 3 | 4 | 6 | 3 | 5 | 5 | 5 | 5 | 6 | 4 | 5 |
| | 3 | 7 | 7 | 2 | 3 | 5 | 6 | 3 | 5 | 5 | 5 | 5 | 6 | 4 | 5 |
| 90 | 1 | 6 | 7 | 4 | 4 | 6 | 7 | 7 | 7 | 9 | 4 | 6 | 8 | 6 | 5 |
| | 2 | 7 | 8 | 3 | 3 | 6 | 7 | 6 | 6 | 7 | 4 | 6 | 7 | 6 | 6 |
| | 3 | 7 | 7 | 4 | 3 | 6 | 6 | 6 | 6 | 8 | 3 | 7 | 7 | 6 | 6 |

Para el análisis de resultados también se consideró un diseño de experimento de dos factores sin interacción, dada la misma razón de que no existe algún antecedente del efecto combinado de contenidos de títulos de hemaglutinación con tiempos de almacenaje para esas variedades de papa, razón por la cual se analizaron los tiempos y las variedades de manera independiente.

El método de análisis fue diferente de acuerdo a la técnica experimental llevada a cabo, el registro de la cantidad de hemaglutininas en la muestra es una estimación visual de precipitación de eritrocitos, reportando solamente el último pozo que presente aglutinación, máxima dilución como unidad (variable discreta) y por tanto se considera una medida cualitativa a diferencia de la técnica llevada a cabo para inhibidores, donde la medición es

cuantitativa, se llevó a cabo un método de análisis diferente, siendo el análisis de Friedman el más adecuado. El análisis de Friedman, es equivalente al análisis de varianza ANOVA y se lleva a cabo por asignación de rangos, es decir, que de acuerdo a los resultados experimentales se asigna para cada repetición el valor de uno al título de lectinas más bajo, y así sucesivamente dos, tres, hasta llegar al más alto, si hubiese en una misma fila un empate se asigna el valor promedio de la suma de los números que les correspondan. Después de realizar esta asignación para todas las muestras, se obtienen los totales y se calculan las medias.

Ejemplo:

| Variedad | Datos | 0 | 30 | 60 | 90 |
|----------|------------|---|----|-----|-----|
| López | Originales | 5 | 4 | 6 | 6 |
| | Asignado | 2 | 1 | 3.5 | 3.5 |

Por ser 4 (30 días) el valor más bajo se le asignó **1**, y así por tanto el **2** le correspondió al 5 (0 días), al haber un empate dos 6 (60 y 90 días) se suma el **3 y 4** que les corresponderían y se saca el promedio, es decir **3.5** (promedio de 3+4).

A continuación se muestra el análisis de Friedman por asignación de rangos con respecto al tiempo (tabla No. 6) y variedades (tabla No. 7). Del lado izquierdo se muestra la tabla original con los resultados experimentales y del lado derecho, la tabla ya con su correspondiente asignación de rangos. Se plantean las hipótesis de igualdad para ser comparadas con el valor de X_r^2 , de tal manera que si X_r^2 (obtenido) $> .05X_r^2$ (tablas), se dice que se rechaza la igualdad.

$$X_r^2 = 12 / (Nk(k+1)) * \sum R^2 - 3N(k+1)$$

$N = \text{No. de muestras} = 2$
 $k = \text{No. de tiempos} = 4$
 $X_r^2 = 23.72$

Valor de tablas X^2 a comparar:

$$.05X_r^2_4 = 9.48$$

$$.005X_r^2_4 = 14.86$$

Por lo que se concluye que el tiempo de almacenamiento fué significativamente diferente, ya que $23.72 > 9.48$ y a $_{.005}X_r^2$ 14.86.

Tabla 6. Análisis de Friedman, por asignación de rangos para tiempos de almacenaje.

| Datos experimentales | | | | | | Asignación de rangos | | | | | |
|----------------------|-----|-------------|-------------|-------------|-------------|----------------------|-----|-----|-----|-----|----|
| Variedad | Rep | 0 | 30 | 60 | 90 | Variedad | Rep | 0 | 30 | 60 | 90 |
| López | 1 | 5 | 4 | 6 | 6 | 1 | 2 | 1 | 3.5 | 3.5 | |
| | 2 | 4 | 4 | 6 | 7 | 2 | 1.5 | 1.5 | 3 | 4 | |
| | 3 | 4 | 4 | 7 | 7 | 3 | 1.5 | 1.5 | 3.5 | 3.5 | |
| Alpha | 1 | 6 | 7 | 8 | 7 | 1 | 1 | 2.5 | 4 | 2.5 | |
| | 2 | 6 | 7 | 7 | 8 | 2 | 1 | 2.5 | 2.5 | 4 | |
| | 3 | 6 | 7 | 7 | 7 | 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | |
| Murca | 1 | 3 | 3 | 2 | 4 | 1 | 2.5 | 2.5 | 1 | 4 | |
| | 2 | 4 | 2 | 2 | 3 | 2 | 4 | 1.5 | 1.5 | 3 | |
| | 3 | 4 | 2 | 2 | 4 | 3 | 3.5 | 1.5 | 1.5 | 3.5 | |
| Puebla | 1 | 4 | 5 | 3 | 4 | 1 | 2.5 | 4 | 1 | 2.5 | |
| | 2 | 3 | 5 | 3 | 3 | 2 | 2 | 4 | 2 | 2 | |
| | 3 | 4 | 5 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 1.5 | 1.5 | |
| Norteña | 1 | 5 | 5 | 4 | 6 | 1 | 2.5 | 2.5 | 1 | 4 | |
| | 2 | 5 | 4 | 4 | 6 | 2 | 3 | 1.5 | 1.5 | 4 | |
| | 3 | 5 | 4 | 5 | 6 | 3 | 2.5 | 1 | 2.5 | 4 | |
| Michoacan | 1 | 6 | 7 | 6 | 7 | 1 | 1.5 | 3.5 | 1.5 | 3.5 | |
| | 2 | 6 | 7 | 6 | 7 | 2 | 1.5 | 3.5 | 1.5 | 3.5 | |
| | 3 | 6 | 6 | 6 | 6 | 3 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | |
| Juanita | 1 | 2 | 3 | 3 | 7 | 1 | 1 | 2.5 | 2.5 | 4 | |
| | 2 | 3 | 2 | 3 | 6 | 2 | 2.5 | 1 | 2.5 | 4 | |
| | 3 | 3 | 3 | 3 | 6 | 3 | 2 | 2 | 2 | 4 | |
| Tollocan | 1 | 3 | 4 | 5 | 7 | 1 | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| | 2 | 3 | 3 | 5 | 6 | 2 | 1.5 | 1.5 | 3 | 4 | |
| | 3 | 3 | 4 | 5 | 6 | 3 | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| Marciana | 1 | 4 | 4 | 5 | 9 | 1 | 1.5 | 1.5 | 3 | 4 | |
| | 2 | 4 | 4 | 5 | 7 | 2 | 1.5 | 1.5 | 3 | 4 | |
| | 3 | 5 | 5 | 5 | 8 | 3 | 2 | 2 | 2 | 4 | |
| Rosita | 1 | 4 | 5 | 5 | 4 | 1 | 1.5 | 3.5 | 3.5 | 1.5 | |
| | 2 | 4 | 5 | 5 | 4 | 2 | 1.5 | 3.5 | 3.5 | 1.5 | |
| | 3 | 4 | 5 | 5 | 3 | 3 | 2 | 3.5 | 3.5 | 1 | |
| Montsama | 1 | 7 | 5 | 6 | 6 | 1 | 4 | 1 | 2.5 | 2.5 | |
| | 2 | 7 | 4 | 5 | 6 | 2 | 4 | 1 | 2 | 3 | |
| | 3 | 7 | 4 | 5 | 7 | 3 | 3.5 | 1 | 2 | 3.5 | |
| Irerí | 1 | 8 | 5 | 6 | 8 | 1 | 3.5 | 1 | 2 | 3.5 | |
| | 2 | 8 | 6 | 6 | 7 | 2 | 4 | 1.5 | 1.5 | 3 | |
| | 3 | 8 | 6 | 6 | 7 | 3 | 4 | 1.5 | 1.5 | 3 | |
| Atzimba | 1 | 5 | 5 | 4 | 6 | 1 | 2.5 | 2.5 | 1 | 4 | |
| | 2 | 4 | 4 | 4 | 6 | 2 | 2 | 2 | 2 | 4 | |
| | 3 | 4 | 4 | 4 | 6 | 3 | 2 | 2 | 2 | 4 | |
| San Jose | 1 | 4 | 5 | 5 | 5 | 1 | 1 | 3 | 3 | 3 | |
| | 2 | 4 | 5 | 5 | 6 | 2 | 1 | 2.5 | 2.5 | 4 | |
| | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 | 3 | 1 | 2.5 | 2.5 | 4 | |
| Total | | 90.5 | 92 | 97.5 | 140 | | | | | | |
| Promedio | | 2.15 | 2.19 | 2.32 | 3.33 | | | | | | |

Para el caso de variedades, también resultó ser significativamente diferente, ya que $X_r^2 = 86.77$ es mayor a $.05X_r^2 = 23.68$ y a $.005X_r^2 = 31.32$

$$X_r^2 = 12 / (Nk(k+1)) * \sum R^2 - 3N(k+1)$$

$$X_r^2 = 86.77$$

Valor de tablas a comparar:

$$.05X_r^2 = 23.68$$

$$.005X_r^2 = 31.32$$

En la tabla No. 7 se presentan primeramente los datos experimentales pero de manera horizontal, para ver el efecto ahora de las variedades, y enseguida se muestran los valores ya con su correspondiente asignación de rangos.

Tabla 7. Análisis de Friedman, por asignación de rangos para variedades.

Datos experimentales. →

| DÍA | REP | Lop | Alpha | Mur | Pue | Nor | Mich | Juan | Toll | Mar | Ros | Mont | Ileri | Atz | S.J. |
|-----|-----|-----|-------|-----|-----|-----|------|------|------|-----|-----|------|-------|-----|------|
| 0 | 1 | 5 | 6 | 3 | 4 | 5 | 6 | 2 | 3 | 4 | 4 | 7 | 8 | 5 | 4 |
| 0 | 2 | 4 | 6 | 4 | 3 | 5 | 6 | 3 | 3 | 4 | 4 | 7 | 8 | 4 | 4 |
| 0 | 3 | 4 | 6 | 4 | 4 | 5 | 6 | 3 | 3 | 5 | 4 | 7 | 8 | 4 | 4 |
| 30 | 1 | 4 | 7 | 3 | 5 | 5 | 7 | 3 | 4 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 30 | 2 | 4 | 7 | 2 | 5 | 4 | 7 | 2 | 3 | 4 | 5 | 4 | 6 | 4 | 5 |
| 30 | 3 | 4 | 7 | 2 | 5 | 4 | 6 | 3 | 4 | 5 | 5 | 4 | 6 | 4 | 5 |
| 60 | 1 | 6 | 8 | 2 | 3 | 4 | 6 | 3 | 5 | 5 | 5 | 6 | 6 | 4 | 5 |
| 60 | 2 | 6 | 7 | 2 | 3 | 4 | 6 | 3 | 5 | 5 | 5 | 5 | 6 | 4 | 5 |
| 60 | 3 | 7 | 7 | 2 | 3 | 5 | 6 | 3 | 5 | 5 | 5 | 5 | 6 | 4 | 5 |
| 90 | 1 | 6 | 7 | 4 | 4 | 6 | 7 | 7 | 7 | 9 | 4 | 6 | 8 | 6 | 5 |
| 90 | 2 | 7 | 8 | 3 | 3 | 6 | 7 | 6 | 6 | 7 | 4 | 6 | 7 | 6 | 6 |
| 90 | 3 | 7 | 7 | 4 | 3 | 6 | 6 | 6 | 6 | 8 | 3 | 7 | 7 | 6 | 6 |

Asignación de rangos. →

| DÍA | REP | Lop | Alpha | Mur | Pue | Nor | Mich | Juan | Toll | Mar | Ros | Mont | Ileri | Atz | S.J. |
|-------|-----|------|-------|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|-------|------|------|
| 0 | 1 | 9 | 11.5 | 2.5 | 5.5 | 9 | 11.5 | 1 | 2.5 | 5.5 | 5.5 | 13 | 14 | 9 | 5.5 |
| 0 | 2 | 6.5 | 11.5 | 6.5 | 2 | 10 | 11.5 | 2 | 2 | 6.5 | 6.5 | 13 | 14 | 6.5 | 6.5 |
| 0 | 3 | 5.5 | 11.5 | 5.5 | 5.5 | 9.5 | 11.5 | 1.5 | 1.5 | 9.5 | 5.5 | 13 | 14 | 5.5 | 5.5 |
| 30 | 1 | 4 | 13.5 | 1.5 | 9 | 9 | 13.5 | 1.5 | 4 | 4 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 |
| 30 | 2 | 6 | 13.5 | 1.5 | 10 | 6 | 13.5 | 1.5 | 3 | 6 | 10 | 6 | 12 | 6 | 10 |
| 30 | 3 | 5 | 14 | 1 | 9.5 | 0.6 | 12.5 | 2 | 5 | 9.5 | 9.5 | 5 | 12.5 | 5 | 9.5 |
| 60 | 1 | 11.5 | 14 | 1 | 2.5 | 4.5 | 11.5 | 2.5 | 7.5 | 7.5 | 7.5 | 11.5 | 11.5 | 4.5 | 7.5 |
| 60 | 2 | 12 | 14 | 1 | 2.5 | 4.5 | 12 | 2.5 | 8 | 8 | 8 | 8 | 12 | 4.5 | 8 |
| 60 | 3 | 13.5 | 13.5 | 1 | 2.5 | 7.5 | 11.5 | 2.5 | 7.5 | 7.5 | 7.5 | 11.5 | 11.5 | 4 | 7.5 |
| 90 | 1 | 6.5 | 10.5 | 2 | 2 | 6.5 | 10.5 | 10.5 | 10.5 | 14 | 2 | 6.5 | 13 | 6.5 | 4 |
| 90 | 2 | 11.5 | 14 | 1.5 | 1.5 | 6.5 | 11.5 | 6.5 | 6.5 | 11.5 | 3 | 6.5 | 11.5 | 6.5 | 6.5 |
| 90 | 3 | 11.5 | 11.5 | 3 | 1.5 | 6.5 | 6.5 | 6.5 | 6.5 | 14 | 1.5 | 11.5 | 11.5 | 6.5 | 6.5 |
| Total | | 103 | 153 | 28 | 54 | 80.1 | 138 | 40.5 | 64.5 | 104 | 75.5 | 111 | 147 | 73.5 | 86 |
| Prom. | | 8.5 | 12.8 | 2.3 | 4.5 | 6.7 | 11.5 | 3.38 | 5.4 | 8.6 | 6.3 | 9.2 | 12.2 | 6.1 | 7.2 |

De acuerdo a esta diferencia observada, se realizó el análisis de resultados por el método de comparaciones múltiples con el mejor (CMM)³⁹. El objetivo de este procedimiento es seleccionar el conjunto de tratamientos o uno solo (si es posible) que proporcione el resultado "mas deseable", permitiendo clasificar a los tratamientos de manera que la mejor población este incluida en un subconjunto con cierto nivel de confianza, y también se consideran intervalos de confianza simultáneos (ICS).

En este caso deseamos saber cual es el tiempo y las variedades con contenidos promedios de lectinas mas altos, conocer el tiempo óptimo en donde esté presente el mayor contenido para saber hasta cuando es deseable mantener las papas sin tener cambios significativos, y sobre cuales de las variedades están presentes los mayores títulos de hemaglutinación, asumiendo que Alpha es de las variedades que mayores títulos presentaron y además es la variedad importada a comparar con el resto de las mexicanas. De igual manera se sugiere que este estudio puede servir para seguir realizando investigaciones con ciertas variedades preseleccionadas o disminuyendo los lapsos de tiempo de almacenaje.

Análisis de CMM para tiempos de almacenaje.

Como se desea saber si el título obtenido a los 0 días es "el mejor" en relación a los demás tiempos de almacenaje, se debe calcular el intervalo de confianza considerado del 95%, se toma la media a los 0 días es $y_1 = 2.15$ y 90 días es el tiempo que tiene la media mas grande del resto de los tiempos $y_4 = 3.33$, se calcula primeramente el cuadrado medio del error:

$$CME = Xr^2/k; \text{ donde } Xr^2 \text{ es el valor obtenido del análisis de Friedman, } k = \text{tiempos.}$$

$$CME = 23.72/4 = 5.93$$

Posteriormente se obtiene el valor de $d_{\alpha, k, v}$ de tablas de la distribución de Dunnett, donde:

$\alpha =$ a 0.05% significancia,
 $\kappa =$ tratamientos-1
 $\nu =$ grados de libertad,
 para este caso: $d_{0.05,3,28} = 2.15$

Y por último se calcula M de la siguiente manera:

$$M = d_{0.05,3,28} * (2CME^2/t)^{1/2}$$

$$M = 2.15 * (2(5.93)/42)^{1/2} = 1.14.$$

En la siguiente tabla No. 8, se muestran los límites superior e inferior, así por ejemplo para el primer caso, media a tiempo cero, se resta la media del tiempo de almacenaje mayor, para obtener así D_1 , a este valor se le suma y se le resta el valor ya calculado de M para obtener el intervalo de confianza, y se marca con un si la columna de elegir, cuando $D_1 + M > 0$, aunque para este caso no se eligió porque $D_1 + M$ es menor que 0.

Tabla 8. Intervalos de confianza para selección del "mejor tiempo" por el método de CMM.

| Tiempo | y_i | máx (yj) | D_i | $D_i - M$ | $D_i + M$ | ICS(95%)/(L,U) | ¿Elegir? |
|--------|-------|----------|-------|-----------|-----------|----------------|----------|
| 0 | 2.15 | 3.33 | -1.18 | -2.32 | -0.04 | (-2.32,0) | no |
| 30 | 2.19 | 3.33 | -1.14 | -2.28 | 0.00 | (-2.28,0) | no |
| 60 | 2.32 | 3.33 | -1.01 | -2.15 | 0.13 | (-2.15,0.13) | si |
| 90 | 3.33 | 2.32 | 1.01 | -0.13 | 2.15 | (-0.13,2.15) | si |

Se elige como el "mejor" cuando $D_1 + M > 0$

Como se puede ver dos de los cuatro tiempos de almacenaje, 0 y 30 días tienen límites por debajo de 0, y por tanto no son los mejores tiempos de almacenaje; de los dos tiempos restantes, 60 y 90 días, 90 días es el "mejor" ya que en este caso, fue el tiempo que presentó el mayor título promedio de hemaglutinación que presentaron las papas, ya que entre mas se aproxime su límite inferior a cero, como fue el caso de 90 días, se dice que es el "mejor", esta información la proporciona los ICS, ya que además de identificar a los mejores tratamientos, indican que tan lejos están del "mejor", por lo que según el límite inferior de los intervalos de la tabla anterior es sencillo ver que los tiempos 0 y 30 días son los más lejanos a ser el mejor tratamiento, es ese orden respectivamente, ya que entre mas alejados del cero estén, serán los tratamientos mas lejanos a ser el mejor.

Resumiendo, la tendencia general es a incrementar el título promedio de hamaglutinación conforme aumentan los días de almacenaje; desde recién cosechadas y hasta los 30 días de almacenaje las papas no sufren cambios significativos, sin embargo el mejor tiempo de almacenamiento en donde se encontró el mayor contenido de lectinas fue a partir de lo 60 y hasta los 90 con los mayores títulos registrados. Por lo tanto se podría recomendar mantenerlas sin cambios por no mas de 60 días, aunque si llegaran a 90 días el contenido se incrementa, de tal forma que pudiera ser parte de la resistencia contra ataque de patógenos.

Análisis de CMM para variedades de papa.

De igual manera se analizaron las 14 variedades de papa, teniendo las medias se calcularon los intervalos de confianza, quedando como se muestra en la siguiente tabla No. 10.

Tabla 10. Intervalos de confianza para selección de las "mejores variedades" por el método de CMM.

| Variedad | y_i | $máx(y_j)$ | D_i | $D_i - M$ | $D_i + M$ | $ICS(95\%)/(L,U)$ | ¿Elegir? |
|-----------------|-------------------------|------------------------------|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|-----------------|
| Alpha | 12.8 | 12.2 | 0.6 | -2.5 | 3.7 | (-2.5,3.7) | si |
| Ileri | 12.2 | 12.8 | -0.6 | -3.7 | 2.5 | (-3.7,2.5) | si |
| Michoacán | 11.5 | 12.8 | -1.3 | -4.4 | 1.8 | (-4.4,1.8) | si |
| Montsama | 9.2 | 12.8 | -3.6 | -6.7 | -0.5 | (-6.7,0) | no |
| Marciana | 8.6 | 12.8 | -4.2 | -7.3 | -1.1 | (-7.3,0) | no |
| López | 8.5 | 12.8 | -4.3 | -7.4 | -1.2 | (-7.4, 0) | no |
| San Jose | 7.2 | 12.8 | -5.6 | -8.7 | -2.5 | (-8.7,0) | no |
| Norteña | 6.7 | 12.8 | -6.1 | -9.2 | -3 | (-9.2,0) | no |
| Rosita | 6.3 | 12.8 | -6.5 | -9.6 | -3.4 | (-9.6,0) | no |
| Atzimba | 6.1 | 12.8 | -6.7 | -9.8 | -3.6 | (-9.8,0) | no |
| Tollocan | 5.4 | 12.8 | -7.4 | -10.5 | -4.3 | (-10.5,0) | no |
| Puebla | 4.5 | 12.8 | -8.3 | -11.4 | -5.2 | (-11.4,0) | no |
| Juanita | 3.4 | 12.8 | -9.4 | -12.5 | -6.3 | (-12.5,0) | no |
| Murca | 2.3 | 12.8 | -10.5 | -13.6 | -7.4 | (-13.6,0) | no |

Se elige como el "mejor" cuando $D_i + M > 0$

De igual manera se calculó el cuadrado mínimo del error: $CME = \chi^2/k$, para obtener a través de este y de valor de tablas, los límites de los intervalos simultáneos de confianza.

$$CME = 86.77/14 = 6.2$$

$$\text{Valor de tablas } d_{0.05, 13, 8} = 3.04$$

$$M = d_{0.05, 3, 28} * (2CME^2/r)^{1/2}$$

$$M = 3.04 * (2(6.2)/12)^{1/2} = 3.1$$

Se dice que son las "mejores variedades", las que presenten los mayores títulos de hemaglutinación, con intervalos de confianza mayores que cero, de acuerdo a la tabla anterior se puede ver que once de las catorce variedades de papa tienen límites superiores ($D_i + M$) con signo negativo, y por tanto no son las mejores variedades, es decir que son las variedades con menores títulos de hemaglutinación. Las tres variedades restantes Alpha, Michoacán e Ileri, se eligen como las mejores por tener (U) mayor que cero, Alpha es la variedad que presentó el mayor título, siguiéndoles Ileri y después Michoacán, debido a que su límite inferior ($D_i - M$) de la variedad Alpha fue el más cercano a cero y por tanto clasificadas como las "mejores variedades".

Las once variedades restantes se clasifican dentro de otro grupo de variedades con bajos títulos de hemaglutinación, que enumeradas de menor a mayor de acuerdo a sus títulos promedios y en base a la teoría del método se encuentran: Murca, Juanita, Puebla, Tollocan, Atzimba, Rosita, Norteña, San José, López, Marciana y Montsama., ya que entre más alejado del cero esté el intervalo de confianza $ICS_{(95\%)}(L, U)$, son las variedades más alejadas de ser "la mejor".

El análisis realizado con comparaciones sugeridas para el caso de inhibidores de tripsina así como el de seleccionar los títulos promedios mas altos para el caso de lectinas fueron los métodos de análisis que se consideraron mas convenientes de acuerdo tanto al tipo de variable, así como al numero de muestras y tiempos para hacer mas específico el estudio, y dar pie a la continuación del estudio académico del cual éste forma parte.

6. CONCLUSIONES

- Se observó diferencia significativa en ambos análisis, inhibidores y lectinas, existiendo diferencia significativa tanto entre los 4 tiempos de almacenamiento como entre las 14 variedades del estudio.

INHIBIDORES DE TRIPSINA

- El valor mas alto se presentó en las papas recién cosechadas, siendo significativamente diferente a los demás tiempos de almacenaje.
- La tendencia de las 14 variedades de papa fue de disminución a medida que transcurría el tiempo de almacenaje.
- En general, a partir de los primeros 30 días de almacenaje y hasta los 90 días las papas no sufren cambios significativos en cuanto a UTI/mg de muestra.
- Se distinguen 4 grandes grupos de variedades en cuanto a contenido de inhibidores,
 - a) La variedad Puebla, variedad con menor contenido promedio de inhibidores.
 - b) Las variedades Tollocan, Norteña, Rosita, Michoacán y Juanita son las que mas se parecieron a los resultados de Alpha, con valores promedios bajos, adicionalmente son las que mas se cosechan.
 - c) Marciana, Montsana, San Jose, Atzimba, Lopez y Murca son las que presentaron valores promedio altos y además son las que menos se cosechan.
 - d) Por último Ileri, López y Murca son las que entre ellas se parecen, además de obtener los valores promedios mas altos.

LECTINAS

- El tiempo de almacenaje con el mayor contenido promedio de lectinas fue a partir de los 60 y hasta los 90 días.
- La tendencia de las 14 variedades fue la de incrementar al paso del tiempo de almacenaje.
- Desde recién cosechadas y hasta los 30 días de almacenaje las papas no sufren cambios significativos, pero si de los 30 días en adelante.
- Las variedades Michoacán e Ireri, son las que presentaron los títulos promedio mas elevados, y que además son las que mas se aproximan a la variedad Alpha.
- Mientras que las variedades Murca, Juanita, Puebla, Tollocan, Atzimba, Rosita, Norteña, San José, López, Marciana y Montsama son las que presentaron los menores títulos de hemaglutinación y en ese mismo orden son las menos cercanas al contenido de Alpha.

GENERAL

- Las variedades Rósita, Tollocan y Michoacán son las variedades mexicanas que valdría la pena seguir estudiando, ya que son las variedades que mas se cosechan a la fecha en buenas proporciones y que mas se parecen a los valores promedio de la variedad Alpha.
- La importancia de la presencia de los inhibidores de tripsina y hemaglutininas en las catorce variedades de papa durante su almacenamiento es benéfico ya que actúan como mecanismo de protección contra posibles ataques de patógenos, siendo de importancia para el estudio académico que se lleva acabo y que toman como referencia la variedad Alpha.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Woolfe J. A. 1987 The potato in the human diet. International Potato Center. Cambridge University, 1ª publicación, 175.
2. Hui YH. 1992. Encyclopedia of Food Science and Technology. 3, 2132-2136. A Wiley-Interscience Publication, New York, USA.
3. INIFAP, 2000. Manual para la producción de papa en las sierras y valles altos del centro de México. Centro de investigación regional del centro. Libro 1, México, DF., 2-18.
4. Rivera P.A., 2001. Metodologías Tradicionales Usadas en el Mejoramiento Genético de Papa en México. INIFAP, Centro de investigación regional del centro. Libro 3, México, DF., 4-15.
5. Macrae R, Robinson R.K & Sadler M.J 1993 Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition. 3620-3629, Board, San Diego, CA.
6. Rojas SJGE. 1998, Efectos del tamaño y número de brotes del tubérculo-semilla en el rendimiento y otros caracteres de la papa (*Solanum tuberosum* L.) Tesis de maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Chapingo, 98- 104.
7. Estudio FAO Alimentación y Nutrición, 1990. Papa y batata en: Utilización de alimentos tropicales: raíces y tubérculos. FAO Roma, 45-65.
8. Eriksen, S. 1981. Protein nutritional quality of air-classified potato fractions. Journal of Food Science. 46, 540-542.
9. Kolasa, K.M. 1993, The potato and human nutrition. American Potato Journal. 70, 375-384.

10. Montiel B. 1980 Estimación de los problemas fitopatológicos en papa (variedad Alpha como López) durante el almacenamiento en la Central de Abastos de Ixtapalapa, D.F. Tesis. Chapingo 52-58.
11. Sosa C. y Villareal G. 1978 Papa: Recursos genéticos disponibles a México. SOMEFI. Chapingo, 32-34.
12. Ortiz R. 1983 La papa (*S. Tuberosum*) producción y comercialización. Econotecnia Agrícola. Secretaria de agricultura y recursos hidráulicos. Dirección general de Economía agrícola. México, 8, 3.
13. Spychalla J., Desborough S. 1990 Superoxide dismutase, catalase, and α -tocopherol content of stored potato tubers. Plant Physiology. 94, 1214-1218.
14. Smith O. 1968 Potatoes: Production, storing, processing. AVI Publishing Company Inc., Wesport, Connecticut. 3, 1624.
15. Shaw R. Booth R 1981. Principios de almacenamiento de la papa. Centro de interacción de la papa. Lima. 7-16.
16. Dipierro S, Leonardis S. 1997 The ascorbate system and lipid peroxidation in stored potato (*Solanum tuberosum L.*) tubers. Journal of Experimental Botany. 48, 779-783.
17. Viola R, Davies H. 1994 Effect of temperature on pathways of carbohydrate metabolism in tubers of potato (*Solanum tuberosum L.*). Plant Science. 103, 135-143.
18. Malnoe P, Farinelli L, Collet G, Reust W. 1994 Small-scale field tests with transgenic potato vs. Bintje, to test resistance to primary and secondary infections with potato virus Y. Plant Molecular Biology. 25, 963-975.
19. Dao, L., Friedman, M., 1994. Chlorophyll, chorogenic acid, glycoalkaloid and protease inhibitor content of fresh and green potatoes. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 42, 633-639.

20. Nakagawa R, Yasokawa D, & Ikeda T., 1996. Purification and characterization of two lectins from Callus of Helianthus tuberosus. Bioscience & Biochemistry. 6, 259-262.
21. Pont-Lezica R. & Varner J. 1991. Solanum tuberosum agglutinating accumulation during tuber development. Journal of Plant Physiology. 137, 453-458.
22. Su L. 1982 Lectins definition and classification. Acta Histochem. 71, 19 - 21.
23. Zenteno E, Ochoa J., 1984. Agglutininas de cactaceas, un nuevo recurso de valor científico y económico. Ciencia, 35, 153-162.
24. Ovalle R, Keyes A & Quimby F. 1995. Acid estable hemagglutinin proteins co-purifying with potato invertasa inhibitor. Plant Science, 108, 133-141.
25. Kamemura K, Ozeki M, Furuichi Y & Umekawa H. 1996, Characterization of a lectin from the leaves of great northern bean, Phaseolus vulgaris L. Bioscience & Biochemistry. 60, 608-611.
26. García G. 1989. Efecto de la concentración de extractos de leguminosas para determinación de lectinas. Tesis facultad de química de la UNAM, México, DF. 32-40
27. Cerovská N & Filigarova M. 1995, Optimum conditions for the storage of potato virus. Acta Virologica. 39, 51-52.
28. Patel C & Willis., 1992. Potato Lectin Activity Assay Based on Hemagglutination. Journal of Science and Food Agriculture. 119-123.
29. Pusztai A, Grant G, Sakhri M., 1995. Biological effects and survival of trypsin inhibitors and the agglutinin from soybean in the small intestine of the rat. Journal Agriculture and Food Chemistry. 43, 165-170.
30. Hisashi K. Ray A., 1997. Regulation of protease inhibitors and plant defense. Trends in plant Science. 2, 379-384.

31. Mitsumori C, Yamagishi K, Fugino K., 1994. Detection of immunological related Kunitz and Bowman-Birk proteinase inhibitors during potato tuber development. Plant Molecular Biology. 26, 961-969.
32. Kakade M, 1974. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products. Cereal Chemistry. 51, 376-382.
33. Batista I., Oliva M., Araujo M. 1996. Primary structure of a Kunitz-type trypsin inhibitor from enterolobium contortisiliquum seeds. Phytochemistry. 41, 1017-1022.
34. Jaffé G & Brucher O., 1972. Toxicidad y especificidad de diferentes fitohemaglutininas de frijoles. Arch. Latinoamerican Nutrition. 22, 267-281.
35. Walsh, T., Twitchell, W., 1991. Two Kunitz-type proteinase inhibitors from potato tubers. Plant Physiology. 97, 15-18.
36. Moreno M, Segura A & García F., 1994. A potato peptide active against potato pathogens. European Journal of Biochemistry 223, 135-139.
37. Kitamura N, Okitani A & Maruyama Y. 1989 Substrate specificity of cysteine proteinase from potato tubers. Agricultural and Biological Chemistry 53, 1159-1160.
38. Montgomery, D., 1990. Diseño y análisis de experimentos. Grupo editorial Iberoamericana, México, DF., 64.
39. Koehl, R., 1988. Principios estadísticos para el diseño y análisis de investigaciones. Diseño de Experimentos, 2ª edición, Thomson Learning. México, DF., 97.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

ANEXOS

Anexo A.

Técnica de Inhibidores de Tripsina.

Técnica de Hemaglutininas.

Anexo B. Resultados experimentales

Tabla 1. Resultados experimentales de inhibidores de tripsina para cada variedad a los diferentes tiempos de almacenamiento.

Tabla 2. Análisis de varianza ANOVA.

Anexo C. Métodos estadísticos para análisis

Explicación del Método de Scheffé

Tabla 1. Análisis por el método de Scheffé. Comparaciones sugeridas entre las medias de inhibidores de tripsina (presentadas en conjunto).

Tabla 2. Análisis por el método de Scheffé. Análisis de Inhibidores de tripsina a tiempo cero.

Explicación del Método de Friedman.

ANEXO A. METODOLOGÍAS.

DETERMINACIÓN DE INHIBIDORES DE TRIPSINA.

a) Material / Reactivos y procedimiento.

Potenciómetro CORNING, mod.10.

Parrilla con agitación magnética THERMOLINE, mod. SP-13025.

Baño María GRANT, mod. SE 10.

Espectrofotómetro COLEMAN, mod Junior II-A.

Mezclador de tubos LAB-LINE, mod. Super-mixer.

NaOH 0.01N.

Solución amortiguadora de TRIS, pH 8.2 y 0.05M (a).

Solución BAPNA (b).

Acido acético al 30%.

Solución estándar de tripsina (c).

HCl 0.001N.

Solución (a). 6.05g de tris (hidroximetil-amino-metano) y 2.94g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ se disuelven en 900ml de agua destilada. Se ajusta el pH a 8.2 y se afora a un volumen de 1L.

Solución (b). 100mg de benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida-HCl (BAPNA sigma, S.L.Missoury), se disuelven en 2.5ml de dimetil-sulfóxido y se diluye a 250ml con amortiguador TRIS previamente calentado a 37°C. Esta solución debe ser preparada el mismo día y cuando este en uso debe mantenerse a 37°C.

Solución (c). Se pesan con mucha exactitud 4mg de tripsina bovina (SIGMA # T-8253) y se disuelven en 200 ml de HCl 0.001N. Esta solución contiene 20 μg de tripsina y debe ser almacenada en refrigeración donde puede durar de 2 a 3 semanas sin pérdida apreciable de actividad.

b) Procedimiento.

Preparación del extracto:

En un vaso de precipitado, se pesa 1 g de muestra molida, se le adiciona 45 ml de NaOH 0.01N, se ajusta a pH 9.6 ± 2 y se afora a 50 ml, se transvasa a un vaso que contenga un

magneto para agitar en una parrilla de agitación durante 2 1/2 horas a 300 rpm., se deja reposar por espacio de 1/2 hora, por simple decantación se obtiene el sobrenadante eliminando el residuo insoluble. Siendo el sobrenadante diluido hasta el punto de que 1 ml produzca una inhibición de 40-60%.

c) Determinación de actividad:

Porciones de 0.0, 0.6, 1.0, 1.4 y 1.8 ml de extracto (directo o diluido) se pipetea a tubos de ensaye por duplicado y ajustando el volumen a 2.0 ml con agua destilada, se introducen a baño maría a 37°C. Se adicionan 2.0 ml de solución estándar de tripsina (previamente mantenida a 37°C), se mantiene en contacto inhibidor-tripsina por espacio de 5 minutos. Se adicionan 5 ml de solución de BAPNA (a 37°C) a cada tubo y se mantiene dicha mezcla de reacción por 10 minutos exactos (cronómetro). La reacción enzimática se detiene al adicionarle 1 ml de ácido acético al 30%; el cual debe homogeneizarse inmediatamente. Si se enturbia o si se forma un precipitado es necesario filtrar a través de papel filtro (Whatman #1), es necesario cerciorarse que el filtrado este transparente.

Se realiza la lectura en el espectrofotómetro a 410 nm, ajustando primeramente el aparato a 100% de transmitancia con su respectivo blanco. Siendo el tubo con 0.0 ml de extracto la referencia (20 µg tripsina / ml), sobre el cual se basarán los cálculos.

d) Cálculos: La lectura de absorbancia (A), directamente se pasa a unidades de tripsina:

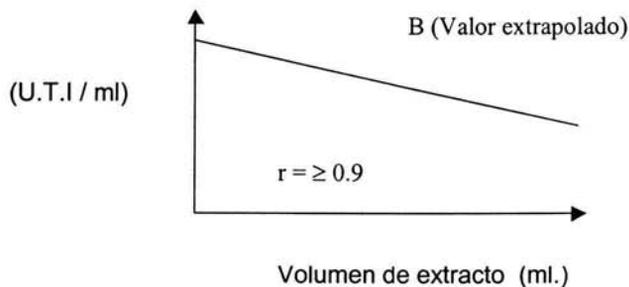
$$U. T. = A \times 100$$

Una unidad de tripsina (U.T) es arbitrariamente definida como el incremento de 0.01 unidades de absorbancia a 410 nm por 10 ml de mezcla de reacción descritas por Kakade.

Como se pone una serie de alícuotas de extracto, se tendrán a la vez una serie de valores de U.T. los cuales al restar dicho valor al del tubo de referencia, se obtienen los respectivos valores de (U.T.I.) y por consiguiente se puede calcular el valor de U.T.I. / ml de cada una de las alícuotas. La actividad antitripsica se define como el número de unidades de tripsina inhibida (UTI).

$$U.T.I. = U.T._{\text{referencia}} - U.T._{\text{muestra}}$$

Al graficar la actividad enzimática inhibitoria (U.T.I./ml) como función de la alícuota del extracto de la muestra, se observa una correlación lineal negativa, en donde se puede obtener el valor extrapolado, correspondiente al valor cero de la solución inhibitoria.



Este dato extrapolado, es el valor más cercano a la actividad inhibitoria.

NOTA: Cuando se obtiene una correlación lineal no satisfactoria ($r < 0.9$), se trabaja con el valor promedio de la serie de alícuotas, reportado en términos de U.T.I./ ml.

Por último para reportar unidades de inhibición por mg de muestra:

$$U.T.I. / \text{mg muestra} = B \times F \times (50 / 1000).$$

B = Valor extrapolado o promedio en (U.T.I. / ml).

F = Factor de dilución (depende de las diluciones realizadas).

DETERMINACIÓN DE HEMAGLUTININAS.

a) Material / Reactivos y procedimiento.

Agitador magnético con tacómetro marca THERMOLINE.
Centrífuga para tubos marca DYNAC.
Tubos de centrifuga de 15 ml cónicos.
Jeringa de 5 o 10 ml (#22).
Incubadora marca BLUE-M.
Espectrofotómetro marca COLEMAN Junior II-A.
Adaptador para celdas de 10×75 mm (acondicionado a una abertura de 1 cm^2).
Microtiter Kit (Cook Eng-Alexander Virginia USA).
Filtro de vidrio poroso (poro grueso).
Sangre desfibrinada y lavada de conejo.
Solución anticoagulante (a).
Solución salina al 1%.
Solución salina al 0.9%.
Solución de proteasa al 0.1% en solución salina (b).
Tripsina de páncreas bovino (SIGMAT- 8128).

Cuando la sangre se va a trabajar inmediatamente se puede utilizar ya sea solución de heparina o citrato, las cuales se usan en la siguiente relación.

Solución de heparina: sangre = 15-20UI: 1 ml de sangre.

Solución de citrato (conc): sangre = 0.1 ml : 1 ml de sangre.

Sin embargo, si la sangre no se va a trabajar de inmediato, y se desea conservar en refrigeración por unos días, lo mas conveniente es usar como solución anticoagulante la solución ELSEVER en proporción 1:1, es decir, 1ml de solución ELSEVER por 1ml de sangre fresca. En términos generales se usa tripsina al 0.1% en solución salina, para el proceso de sensibilización, sin embargo, cuando se trabaja con sangre de cualquier roedor (ratón, hámster, etc.), es conveniente trabajar con pronasa al 0.2% en solución salina.

b) Metodología.

Preparación del extracto. Una vez que se tiene la muestra finamente molida (y desengrasada si el caso lo amerita), aunque en el caso de la papa no fue necesario desengrasar, se

suspende 1 g en 10 ml de solución salina al 1%, se efectúa una extracción con agitación mecánica durante 2 horas a 300 r.p.m. a la temperatura ambiente. Después de este tiempo se centrifuga el extracto a 1400 r.p.m. durante 15 minutos para eliminar el residuo insoluble, el sobrenadante se filtra a través del filtro de vidrio y de ser necesario se puede lavar el residuo con mas solución salina al 1%, para llevar el extracto filtrado al volumen inicial.

Preparación de la sangre. Una vez que se sangra al conejo, la sangre se coloca en un matraz pequeño que contenga solución anticoagulante, agitar suavemente para la completa homogeneización de la sangre con la solución anticoagulante. (No interrumpir hasta el momento de diluirla). La sangre con anticoagulante se transvasa a tubos de centrifuga para lavarla (3 veces) con solución salina al 0.9%. La relación sangre: solución salina es aproximadamente 1:5. Se centrifuga a 1,500 r.p.m. durante 10 minutos. Después del último lavado, ya que el sobrenadante se presente sin coloración, se mide en el tubo de centrifuga, la cantidad de paquete de eritrocitos y se diluyen de la sig. manera: por cada 1.0 ml de glóbulos rojos 24 ml de solución salina al 0.9%.

Sensibilización de glóbulos rojos. A cada 10 ml de suspensión de glóbulos rojos al 4% agregarles 1 ml de solución de tripsina al 0.1% (en solución salina) y colocarlos en incubadora por espacio de 1 hora a 37°C. Después del tiempo estipulado, centrifugar para eliminar la enzima sobrenadante, dando además 3 lavados con solución salina 0.9%. Después del último lavado se resuspende el paquete de glóbulos rojos en relación de 1.0 ml de paquete de eritrocitos por 19 ml de solución salina 0.9%.

NOTA: Cuando se observa que la sangre tiene algunos coágulos (aunque sean pequeños), es necesario filtrar esta suspensión, lo que se puede hacer a través de un pequeño trozo de gasa, colocado dentro de un embudo de cuello corto.

Ajuste de la suspensión de glóbulos rojos. Se toma 1 ml de la suspensión de glóbulos rojos ya sensibilizada y se agregan 4 ml de solución salina al 0.85%. Se lee en el espectrofotómetro a 620 nm, usando un adaptador de celdas que permita el paso de solo 1 cm² de luz y como blanco solución salina al 0.85%. La lectura debe estar dentro del 25% ± 1 de transmitancia, en caso contrario se realizará la dilución necesaria para que la suspensión de glóbulos quede dentro de dicho rango.

Microtitulación. En las placas tipo "V" del microtiter, colocar en cada pozo de una hilera 50 µl de solución salina al 0.85% con el pipeteador de gota evitando tocar las paredes del pozo. A continuación llenar el microdilutor de 50 µl por contacto con la superficie del extracto problema y se procede a realizar las diluciones sucesivas en la hilera escogida, introduciendo el microdilutor en el pozo y rotándolo sin excesiva presión.

Por último con un pipetero de gota colocar en cada pozo 50 µl de la suspensión de glóbulos rojos sensibilizados y ajustada . Luego se rota la placa en forma circular y se lleva a la incubadora a 37°C por espacio de 1 hora.

c) Lectura. Una vez transcurrido el tiempo estipulado se coloca la placa de plástico sobre el dispositivo de lectura. Se observa a través del espejo el fondo de los pozos de cada hilera de prueba. Se reporta la máxima dilución que presente aglutinación.

ANEXO C. EXPLICACIÓN ESTADÍSTICA DE LOS METODOS

A) METODO DE SCHEFFÉ.

$ICI = | \sum k_i Y_{i,l} |$ Suma de las medias con la condición $r =$ replicas
 $S_{ck} = \sum k_i^2$ Suma de los cuadrados de los coeficientes $v = a \text{ los } t - 1$
niveles = 3
 $S_c = (SME / r) * (S_{ck})^{1/2}$ Error estándar de la comparación. $\alpha =$ nivel de
significancia = 0.05
 $S_\alpha = (S_c) * (v F_{\alpha, v, v})^{1/2}$ Estadístico de Scheffé a un nivel de significancia α . $v =$ g.l. del
error (tabla de análisis de varianza)

$$\sum k_i = 0 \text{ (coeficientes)}$$

- La hipótesis nula de la comparación se rechaza si $ICI > S_\alpha$

$$ICI = |-50.63 - 48.2 + 97.68| = 1.15$$

$$S_{ck} = 6$$

$$S_c = ((194 / 42) * (6))^{1/2} = 5.26$$

$$S_{.05} = 5.26 * (3F_{.05, 3, 151})^{1/2} = 5.26 * (3 * 2.60)^{1/2} = 14.7$$

$$S_{.01} = 5.26 * (3F_{.01, 3, 151})^{1/2} = 5.26 * (3 * 3.78)^{1/2} = 17.7$$

- Por lo tanto no es significativa la comparación.

ANEXO B. RESULTADOS EXPERIMENTALES

Tabla 1. Resultados Inhibidores de Tripsina

Unidades de Tripsina Inhibidas para cada variedad a diferentes tiempos de almacenamiento

| Día | Rep | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
|-----|-----|-------|-------|-------|--------|---------|-------|---------|----------|-------|--------|--------|-------|--------|----------|
| | | López | Alpha | Murca | Puebla | Norteña | Mich. | Juanita | Tollocan | Marc. | Rosita | Monts. | Ireri | Atzim. | Sn. José |
| 0 | 1 | 88.2 | 58.9 | 77.9 | 28.7 | 65.5 | 58.7 | 94.1 | 41.3 | 123.8 | 56.3 | 52.2 | 119.0 | 75.1 | 111.1 |
| | 2 | 83.6 | 39.4 | 92.5 | 38.3 | 73.4 | 69.9 | 84.4 | 51.2 | 116.4 | 57.2 | 82.7 | 109.1 | 83.1 | 86.1 |
| | 3 | 93.5 | 59.1 | 79.9 | 31.9 | 63.8 | 56.5 | 79.5 | 43.3 | 105.9 | 42.3 | 65.3 | 92.1 | 80.0 | 73.2 |
| 30 | 1 | 84.4 | 53.6 | 74.2 | 14.3 | 45.1 | 29.7 | 42.3 | 35.2 | 24.7 | 48.6 | 66.3 | 82.9 | 67.5 | 74.2 |
| | 2 | 81.7 | 49.8 | 66.3 | 12.2 | 43.7 | 35.5 | 35.6 | 43.5 | 20.1 | 59.3 | 40.9 | 73.0 | 78.3 | 96.1 |
| | 3 | 76.7 | 38.1 | 58.5 | 9.9 | 27.0 | 50.3 | 28.4 | 40.4 | 13.3 | 42.7 | 55.6 | 59.7 | 67.7 | 79.3 |
| 60 | 1 | 68.9 | 34.1 | 54.3 | 17.6 | 19.7 | 50.0 | 46.3 | 28.7 | 34.0 | 46.2 | 64.3 | 93.2 | 65.1 | 46.4 |
| | 2 | 67.8 | 43.0 | 75.8 | 23.5 | 38.0 | 39.6 | 41.8 | 44.4 | 51.1 | 56.2 | 52.2 | 90.6 | 81.7 | 59.0 |
| | 3 | 49.2 | 40.5 | 61.2 | 6.3 | 24.2 | 32.8 | 31.1 | 31.8 | 34.6 | 43.6 | 46.3 | 76.0 | 62.2 | 51.1 |
| 90 | 1 | 61.4 | 35.2 | 82.2 | 10.5 | 31.1 | 64.5 | 51.0 | 21.9 | 52.1 | 43.5 | 79.9 | 92.2 | 54.6 | 33.2 |
| | 2 | 57.3 | 39.6 | 71.2 | 22.4 | 29.0 | 59.8 | 43.7 | 37.3 | 48.2 | 53.4 | 76.6 | 85.7 | 66.3 | 47.5 |
| | 3 | 44.8 | 32.3 | 85.8 | 6.7 | 15.7 | 51.3 | 36.0 | 32.0 | 34.6 | 44.8 | 58.0 | 71.8 | 55.7 | 31.0 |

PROMEDIOS.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | Prom. |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|-------------|--------------|-------------|--------------|--------------|-------|
| | López | Alpha | Murca | Puebla | Norteña | Mich | Juanita | Tollocan | Marc. | Rosita | Monts. | Ireri | Atzim. | Sn. José | |
| 0 | 88.44 | 52.47 | 83.40 | 32.97 | 67.56 | 61.69 | 86.02 | 45.23 | 115.4 | 51.92 | 66.74 | 106.7 | 79.39 | 90.13 | 73.43 |
| 30 | 80.92 | 47.17 | 66.34 | 12.13 | 38.59 | 38.49 | 35.42 | 39.70 | 19.37 | 50.20 | 54.26 | 71.87 | 71.16 | 83.19 | 50.63 |
| 60 | 62.00 | 39.18 | 63.77 | 15.81 | 27.30 | 40.81 | 39.72 | 34.98 | 39.90 | 48.64 | 54.26 | 86.57 | 69.70 | 52.17 | 48.2 |
| 90 | 54.50 | 35.69 | 79.73 | 13.17 | 25.28 | 58.52 | 43.53 | 30.40 | 44.98 | 47.21 | 71.50 | 83.20 | 58.84 | 37.24 | 48.84 |
| Prom. | 71.47 | 43.63 | 73.31 | 18.52 | 39.68 | 49.88 | 51.17 | 37.58 | 54.9 | 49.5 | 61.69 | 87.1 | 69.77 | 65.68 | |

Se reporta como UTI/mg de muestra.

Tabla 2. Analisis de Varianza (ANDEVA) Inhibidores de Tripsina.

| Fte. de variación | g.l. | S.C. | C.M. | Fo | |
|-------------------|------|-------|------|--------|------------------------------------|
| Tiempos | 3 | 18582 | 6194 | 31.86* | g.l. = grados de libertad |
| Variedad | 13 | 48994 | 3769 | 19.39* | SC = Suma de cuadrados |
| Error | 151 | 29356 | 194 | | CM = Media de la suma de cuadrados |
| Total | 167 | 96932 | | | Fo = Estadísticos de prueba |

Tanto para tiempos, $F_0 = 31.86$ es mayor comparado con $F^{0.05}_{3,151} = 2.60$, y $F^{0.01}_{3,151} = 3.78$, como para variedades: $F_0 = 19.39$ comparado con $F^{0.05}_{13,151} = 1.75$, y $F^{0.01}_{13,151} = 2.18$, se rechazan las igualdades.

Tabla No. 1 Tabla 1. Análisis por el método de Scheffé. Comparaciones sugeridas entre las medias de inhibidores de tripsina (presentadas en conjunto).

1. Variedades nacionales contra importadas.

| Ens | Y.1. Lpz | Y.2. Alpha | Y.3. Murca | Y.4. Pue | Y.5. Nort | Y.6. Mich | Y.7. Juan | Y.8. Tollo | Y.9. Marc | Y.10. Rosi | Y.11. Mont | Y.12. Ileri | Y.13. Atz | Y.14. S.J | Sck | C | Sc | S.05 | S.01 | Diferencia |
|-----|-------------|---------------|---------------|-------------|--------------|--------------|--------------|---------------|--------------|---------------|---------------|----------------|--------------|--------------|-----|-------|-------|-------|-------|------------|
| | 71.47 | 43.63 | 73.31 | 18.52 | 39.68 | 49.88 | 51.17 | 37.58 | 54.90 | 49.49 | 61.69 | 87.09 | 69.77 | 65.68 | | | | | | |
| 1 | — | -4 | — | — | — | — | — | 1 | 1 | 1 | — | — | — | 1 | 20 | | | | | |
| | | -175 | | | | | | 37.58 | 54.90 | 49.49 | | | | 65.68 | | 33.14 | 17.98 | 85.77 | 95.72 | NS |
| 2 | — | -1 | — | — | — | — | — | — | — | 1 | — | — | — | — | 2 | | | | | |
| | | -43.6 | | | | | | | | 49.49 | | | | | | 5.86 | 5.69 | 27.12 | 30.27 | NS |
| 3 | — | -1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 2 | | | | | |
| | | -43.6 | | | | | | 37.58 | | | | | | | | 6.05 | 5.69 | 27.12 | 30.27 | NS |
| 4 | 1 | -13 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 182 | | | | | |
| | 71.47 | -567 | 73.31 | 18.52 | 39.68 | 49.88 | 51.17 | 37.58 | 54.90 | 49.49 | 61.69 | 87.09 | 69.77 | 65.68 | | 163.1 | 54.24 | 258.7 | 288.8 | NS |

2. En relación a las principales variedades mexicanas.

| Ens | Lpz | Alpha | Murca | Pue | Nort | Mich | Juan | Tollo | Marc | Rosi | Mont | Ileri | Atz | S.J | Sck | C | Sc | S.05 | S.01 | Diferencia |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|------|------|-------|-------|------------|
| | 71.47 | 43.63 | 73.31 | 18.52 | 39.68 | 49.88 | 51.17 | 37.58 | 54.90 | 49.49 | 61.69 | 87.09 | 69.77 | 65.68 | | | | | | |
| 1 | — | — | — | — | — | — | — | 1 | 1 | -3 | — | — | — | 1 | 12 | | | | | |
| | | | | | | | | 37.6 | 54.9 | -148 | | | | 65.68 | | 9.69 | 13.9 | 66.4 | 74.1 | NS |
| 2 | — | — | — | — | — | — | — | 1 | 1 | -2 | — | — | — | — | 6 | | | | | |
| | | | | | | | | 37.6 | 54.90 | -99 | | | | | | 6.50 | 9.85 | 47.0 | 52.4 | NS |
| 3 | 1 | — | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | -12 | 1 | 1 | 1 | 1 | 156 | | | | | |
| | 71.5 | | 73.31 | 18.52 | 39.68 | 49.9 | 51.2 | 37.6 | 54.9 | -594 | 61.7 | 87.09 | 69.77 | 65.68 | | 86.9 | 50.2 | 239.5 | 267.3 | NS |

3. En relación a ciclo de cultivo (precoz, intermedio y tardío)³.

| Ens | Lpz | Alpha | Murca | Pue | Nort | Mich | Juan | Tollo | Marc | Rosi | Mont | Ileri | Atz | S.J | Sck | C | Sc | S.05 | S.01 | Diferencia |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|------|------|------|------|------------|
| | 71.47 | 43.63 | 73.31 | 18.52 | 39.68 | 49.88 | 51.17 | 37.58 | 54.90 | 49.49 | 61.69 | 87.09 | 69.77 | 65.68 | | | | | | |
| 1 | — | — | — | — | 1 | — | — | — | — | -2 | — | — | — | 1 | 6 | | | | | |
| | | | | | 39.68 | | | | | -99 | | | | 65.68 | | 6.38 | 9.85 | 47.0 | 52.4 | NS |
| 2 | — | — | — | 1 | — | — | 1 | -5 | — | — | 1 | 1 | 1 | 0 | 30 | | | | | |
| | | | | 18.52 | | | 51.17 | -188 | | | 61.69 | 87.09 | 69.77 | | | 100 | 22.0 | 105 | 117 | NS |
| 3 | — | 1 | — | — | — | — | — | -1 | — | — | — | — | — | 0 | 2 | | | | | |
| | | 43.63 | | | | | | 37.58 | | | | | | 0 | | 6.05 | 5.69 | 27.1 | 30.3 | NS |
| 4 | 1 | — | 1 | — | -1 | -1 | — | — | — | 1 | — | — | — | -1 | 6 | | | | | |
| | 71.47 | | 73.31 | | -39.7 | 49.88 | | | | 49.49 | | | | -65.7 | | 39.0 | 9.85 | 47.0 | 52.4 | NS |

4. En relación a resistencia a tizón tardío⁴.

| Ens | Lpz | Alpha | Murca | Pue | Nort | Mich | Juan | Tollo | Marc | Rosi | Mont | Ileri | Atz | S.J. | n | C | Sc | S.05 | S.01 | Resultado |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----|---------|------|-------|-------|-----------|
| | 88.44 | 52.47 | 83.4 | 32.97 | 67.56 | 61.69 | 86.02 | 45.23 | 115.4 | 51.92 | 66.74 | 106.7 | 79.39 | 90.13 | | | | | | |
| 1 | --- | --- | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | --- | -9 | 1 | 1 | 1 | --- | 90 | | | | | |
| | --- | --- | 83.4 | 32.97 | 67.56 | 61.69 | 86.02 | 45.23 | --- | -467 | 66.74 | 106.7 | 79.39 | --- | | 162.4 | 38.1 | 181.9 | 203.1 | NS |
| 2 | 1 | -1 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 2 | | | | | |
| | 88.44 | -52.5 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | | 35.97* | 5.69 | 27.12 | 30.27 | Sig. 1% |
| 3 | --- | --- | --- | --- | 1 | --- | --- | -3 | --- | --- | --- | 1 | 1 | --- | 12 | | | | | |
| | --- | --- | --- | --- | 61.69 | --- | --- | -136 | --- | --- | --- | 106.7 | 79.39 | --- | | 112.11* | 13.9 | 66.43 | 74.15 | Sig. 1% |
| 4 | --- | --- | --- | --- | -1 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 2 | | | | | |
| | --- | --- | --- | --- | -61.7 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 106.7 | --- | --- | | 45.03* | 5.69 | 27.12 | 30.27 | Sig. 1% |
| 5 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | -1 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 2 | | | | | |
| | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 45.23 | --- | --- | --- | --- | -107 | --- | --- | | 61.5* | 5.69 | 27.12 | 30.27 | Sig. 1% |
| 6 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 1 | --- | --- | --- | --- | --- | -1 | --- | 2 | | | | | |
| | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 45.23 | --- | --- | --- | --- | --- | -79.4 | --- | | 34.16* | 5.69 | 27.12 | 30.27 | Sig. 1% |
| 7 | --- | --- | --- | --- | -1 | --- | 1 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 2 | | | | | |
| | --- | --- | --- | --- | -61.7 | --- | 45.23 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | | -16.5 | 5.69 | 27.12 | 30.27 | NS |
| 8 | --- | 1 | --- | --- | --- | --- | -1 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 2 | | | | | |
| | --- | 52.47 | --- | --- | --- | --- | -45.2 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | | 7.24 | 5.69 | 27.12 | 30.27 | NS |
| 9 | 1 | 1 | --- | -1 | --- | -1 | --- | -1 | 1 | -1 | --- | --- | --- | 1 | 8 | | | | | |
| | 88.44 | 52.47 | --- | -33 | --- | -61.7 | --- | -45.2 | 115.4 | -51.9 | --- | --- | --- | 90.13 | | 154.58* | 11.4 | 54.24 | 60.54 | Sig. 1% |

5. En relación al color, característica genética (blancas contra rojas).

| Ens | Lpz | Alpha | Murca | Pue | Nort | Mich | Juan | Tollo | Marc | Rosi | Mont | Ileri | Atz | S.J. | n | C | Sc | S.05 | S.01 | Resultado |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----|--------|------|-------|-------|-----------|
| | 88.44 | 52.47 | 83.4 | 32.97 | 67.56 | 61.69 | 86.02 | 45.23 | 115.4 | 51.92 | 66.74 | 106.7 | 79.39 | 90.13 | | | | | | |
| 1 | --- | --- | 1 | 1 | --- | --- | --- | -3 | --- | --- | --- | --- | --- | 1 | 12 | | | | | |
| | --- | --- | 83.4 | 32.97 | --- | --- | --- | -136 | --- | --- | --- | --- | --- | 90.13 | | 70.81* | 13.9 | 66.43 | 74.15 | Sig. 0.5% |
| 2 | --- | --- | 1 | 1 | --- | --- | --- | --- | --- | -3 | --- | --- | --- | 1 | 12 | | | | | |
| | --- | --- | 83.4 | 32.97 | --- | --- | --- | --- | --- | -156 | --- | --- | --- | 90.13 | | 50.74 | 13.9 | 66.43 | 74.15 | NS |
| 3 | --- | --- | --- | 1 | --- | -1 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 2 | | | | | |
| | --- | --- | --- | 32.97 | --- | -61.7 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | | 28.72* | 5.69 | 27.12 | 30.27 | Sig. 0.5% |
| 4 | -1 | --- | --- | --- | 1 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 2 | | | | | |
| | -88.4 | --- | --- | --- | 61.69 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | | -26.8 | 5.69 | 27.12 | 30.27 | NS |
| 5 | 1 | -1 | --- | 1 | -1 | -1 | --- | -1 | 1 | 1 | --- | -1 | --- | 1 | 10 | | | | | |
| | 88.44 | -52.5 | --- | 32.97 | -67.6 | -61.7 | --- | -45.2 | 115.4 | 51.92 | --- | -107 | --- | 90.13 | | 45.14 | 12.7 | 60.65 | 67.69 | NS |

6. En relación a la región o zona geográfica de cultivo: sierras contra valles.

| Ens | Lpz | Alpha | Murca | Pue | Nort | Mich | Juan | Tollo | Marc | Rosi | Mont | Ileri | Atz | S.J. | n | C | Sc | S.05 | S.01 | Resultado |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----|--------|------|-------|-------|-----------|
| | 88.44 | 52.47 | 83.4 | 32.97 | 67.56 | 61.69 | 86.02 | 45.23 | 115.4 | 51.92 | 66.74 | 106.7 | 79.39 | 90.13 | | | | | | |
| 1 | 1 | -1 | 1 | --- | -1 | --- | 1 | -1 | --- | 1 | --- | -1 | --- | --- | 8 | | | | | |
| | 88.44 | -52.5 | 83.4 | --- | -67.6 | --- | 86.02 | -45.2 | --- | 51.92 | --- | -107 | --- | --- | | 37.8 | 11.4 | 54.24 | 60.54 | NS |
| 2 | 1 | --- | 1 | --- | --- | --- | 1 | --- | --- | -3 | --- | --- | --- | --- | 12 | | | | | |
| | 88.44 | --- | 83.4 | --- | --- | --- | 86.02 | --- | --- | -156 | --- | --- | --- | --- | | 102.1* | 13.9 | 66.43 | 74.15 | Sig. 1% |
| 3 | --- | -9 | --- | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | --- | 1 | --- | 1 | 1 | 1 | 90 | | | | | |
| | --- | -472 | --- | 32.97 | 67.56 | 61.69 | 86.02 | 45.23 | --- | 51.92 | --- | 106.7 | 79.39 | 90.13 | | 149.4 | 38.1 | 181.9 | 203.1 | NS |

7. En relación a calidad para fritura.

| Ens | Lpz | Alpha | Murca | Pue | Nort | Mich | Juan | Tollo | Marc | Rosi | Mont | Irer | Atz | S.J | Sck | C | Sc | S.05 | S.01 | Diferencia |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|--------|-------|-------|-------|------------|
| | 71.47 | 43.63 | 73.31 | 18.52 | 39.68 | 49.88 | 51.17 | 37.58 | 54.90 | 49.49 | 61.69 | 87.09 | 69.77 | 65.68 | | | | | | |
| 1 | — | — | — | — | 1 | — | — | -1 | — | — | — | — | — | — | 2 | | | | | |
| | | | | | 39.68 | | | 37.58 | | | | | | | | 2.10 | 5.69 | 27.12 | 30.27 | NS |
| 2 | — | 1 | — | — | — | — | — | -1 | — | — | — | — | — | — | 2 | | | | | |
| | | 43.63 | | | | | | 37.58 | | | | | | | | 6.05 | 5.69 | 27.12 | 30.27 | NS |
| 3 | -1 | 1 | — | — | — | — | — | 1 | — | -1 | — | — | — | — | 4 | | | | | |
| | 71.47 | 43.63 | | | | | | 37.58 | | -49.5 | | | | | | 39.75* | 8.042 | 38.36 | 42.81 | Sig. al 5% |
| 4 | — | — | — | -1 | 1 | — | — | 1 | — | — | — | — | — | -1 | 4 | | | | | |
| | | | | -18.5 | 39.68 | | | 37.58 | | | | | | -65.7 | | 6.94 | 8.042 | 38.36 | 42.81 | NS |

Las variedades que se recomiendan para fritura son Tollocan y Norteña, por lo que se inició comparando Tollocan debido a su calidad industrial, cultivable en lugares fríos y de ciclo intermedio, contra Norteña de ciclo tardío, es decir por beneficio resultaría mejor cultivar Tollocan en cuestión de tiempo, se cultiva de 20 a 40-50 días mas temprano que Norteña, no se encontró diferencia significativa. Luego se comparó Tollocan con respecto a Alpha (ensayo 7a) por ser oblongas, y ambas dan los mejores rendimientos para la industria y tampoco resultó haber diferencia. También se les comparó a estas mismas dos variedades Alpha y Tollocan (ensayo 7b) contra López y Rosita que no son oblongas, obteniéndose una diferencia significativa, es decir que las variedades Alpha y Tollocan en cuanto a contenidos de inhibidores de tripsina son diferentes de López y Rosita.

8. En relación a susceptibilidad a heladas.

| Ens | Lpz | Alpha | Murca | Pue | Nort | Mich | Juan | Tollo | Marc | Rosi | Mont | Irer | Atz | S.J | Sck | C | Sc | S.05 | S.01 | Diferencia |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|--------|-------|-------|-------|------------|
| | 71.47 | 43.63 | 73.31 | 18.52 | 39.68 | 49.88 | 51.17 | 37.58 | 54.90 | 49.49 | 61.69 | 87.09 | 69.77 | 65.68 | | | | | | |
| 1 | 1 | -5 | — | 1 | — | 1 | — | — | — | — | — | — | 1 | 1 | 30 | | | | | |
| | 71.47 | 218.1 | | 18.52 | | 49.88 | | | | | | | 69.77 | 65.68 | | 57.18 | 22.02 | 105.0 | 117.2 | NS |
| 2 | — | 1 | -1 | 1 | — | — | -1 | — | — | — | — | — | — | — | 4 | | | | | |
| | | 43.63 | -73.3 | 18.52 | | | 51.17 | | | | | | | | | 62.33* | 8.04 | 38.36 | 42.81 | Sig. al 1% |
| 3 | 1 | 1 | -1 | 1 | -1 | 1 | -1 | -1 | — | -1 | -1 | — | 1 | 1 | 12 | | | | | |
| | 71.47 | 43.63 | -73.3 | 18.52 | -39.7 | 49.88 | 51.17 | 37.58 | | -49.5 | -61.7 | | 69.77 | 65.68 | | 6.02 | 13.93 | 66.43 | 74.15 | NS |
| 4 | 1 | -1 | — | -1 | — | 1 | — | — | — | — | — | — | 1 | -1 | 6 | | | | | |
| | 71.47 | 43.63 | | -18.5 | | 49.88 | | | | | | | 69.77 | -65.7 | | 63.28* | 9.85 | 46.98 | 52.43 | Sig. al 1% |

Tabla 2. Análisis por método de Scheffé. Análisis de Inhibidores de tripsina.

TIEMPO CERO

1. Variedades nacionales contra importadas.

| Ens | Lpz | Alpha | Murca | Pue | Nort | Mich | Juan | Tollo | Marc | Rosi | Mont | Irerí | Atz | S.J. | n | C | Sc | S.05 | S.01 | Resultado |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|---------|------|-------|-------|-----------|
| | 88.44 | 52.47 | 83.4 | 32.97 | 67.56 | 61.69 | 86.02 | 45.23 | 115.4 | 51.92 | 66.74 | 106.7 | 79.39 | 90.13 | | | | | | |
| 1 | -- | -4 | -- | -- | -- | -- | -- | 1 | 1 | 1 | -- | -- | -- | 1 | 20 | | | | | |
| | -- | -210 | -- | -- | -- | -- | -- | 45.23 | 115.4 | 51.92 | -- | -- | -- | 90.13 | | 92.75* | 18 | 85.77 | 95.72 | Sig. 0.5% |
| 2 | -- | -1 | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | 1 | -- | -- | -- | -- | 2 | | | | | |
| | -- | -52.5 | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | 51.92 | -- | -- | -- | -- | | -0.55 | 5.69 | 27.12 | 30.27 | NS |
| 3 | -- | -1 | -- | -- | -- | -- | -- | 1 | -- | -- | -- | -- | -- | -- | 2 | | | | | |
| | -- | -52.5 | -- | -- | -- | -- | -- | 45.23 | -- | -- | -- | -- | -- | -- | | 7.24 | 5.68 | 27.12 | 30.27 | NS |
| 4 | 1 | -13 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 182 | | | | | |
| | 88.44 | -682 | 83.4 | 32.97 | 67.56 | 61.69 | 86.02 | 45.23 | 115.4 | 51.92 | 66.74 | 106.7 | 79.39 | 90.13 | | 293.45* | 54.2 | 258.7 | 288.8 | Sig. 1% |

2. En relación a las principales variedades mexicanas.

| Ens | Lpz | Alpha | Murca | Pue | Nort | Mich | Juan | Tollo | Marc | Rosi | Mont | Irerí | Atz | S.J. | n | C | Sc | S.05 | S.01 | Resultado |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|--------|------|-------|-------|-----------|
| | 88.44 | 52.47 | 83.4 | 32.97 | 67.56 | 61.69 | 86.02 | 45.23 | 115.4 | 51.92 | 66.74 | 106.7 | 79.39 | 90.13 | | | | | | |
| 1 | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | 1 | 1 | -3 | -- | -- | -- | 1 | 12 | | | | | |
| | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | 45.23 | 115.4 | -156 | -- | -- | -- | 90.13 | | 94.95* | 13.9 | 66.43 | 74.15 | Sig. 1% |
| 2 | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | 1 | 1 | -2 | -- | -- | -- | -- | 6 | | | | | |
| | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | 45.23 | 115.4 | -104 | -- | -- | -- | -- | | 56.74* | 9.85 | 46.98 | 52.43 | Sig. 1% |
| 3 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | -12 | 1 | 1 | 1 | 1 | 156 | | | | | |
| | 88.44 | 0 | 83.4 | 32.97 | 67.56 | 61.69 | 86.02 | 45.23 | 115.4 | -623 | 66.74 | 106.7 | 79.39 | 90.13 | | 300.6* | 50.2 | 239.5 | 267.3 | Sig. 1% |

3. En relación a ciclo de cultivo (precoz, intermedio y tardío) ³.

| Ens | Lpz | Alpha | Murca | Pue | Nort | Mich | Juan | Tollo | Marc | Rosi | Mont | Irerí | Atz | S.J. | n | C | Sc | S.05 | S.01 | Resultado |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----|---------|------|-------|-------|-----------|
| | 88.44 | 52.47 | 83.4 | 32.97 | 67.56 | 61.69 | 86.02 | 45.23 | 115.4 | 51.92 | 66.74 | 106.7 | 79.39 | 90.13 | | | | | | |
| 1 | -- | -- | -- | -- | 1 | -- | -- | -- | -- | -2 | -- | -- | -- | 1 | 6 | | | | | |
| | -- | -- | -- | -- | 67.56 | -- | -- | -- | -- | -104 | -- | -- | -- | 90.13 | | 53.85* | 9.85 | 46.98 | 52.43 | Sig. 1% |
| 2 | -- | -- | -- | 1 | -- | -- | 1 | -5 | -- | -- | 1 | 1 | 1 | -- | 30 | | | | | |
| | -- | -- | -- | 32.97 | -- | -- | 86.02 | -226 | -- | -- | 66.74 | 106.7 | 79.39 | -- | | 145.69* | 22 | 105 | 117.2 | Sig. 1% |
| 3 | -- | 1 | -- | -- | -- | -- | -- | -1 | -- | -- | -- | -- | -- | -- | 2 | | | | | |
| | -- | 52.47 | -- | -- | -- | -- | -- | -45.2 | -- | -- | -- | -- | -- | -- | | 7.24 | 5.69 | 27.12 | 30.27 | NS |
| 4 | 1 | -- | 1 | -- | -1 | -1 | -- | -- | -- | 1 | -- | -- | -- | -1 | 6 | | | | | |
| | 88.44 | -- | 83.4 | -- | -67.6 | -61.7 | -- | -- | -- | 51.92 | -- | -- | -- | -90.1 | | 4.38 | 9.85 | 46.98 | 52.43 | NS |

4. En relación a resistencia a tizón tardío⁴.

| Ens | Lpz | Alpha | Murca | Pue | Nort | Mich | Juan | Tollo | Marc | Rosi | Mont | Irerí | Atz | S. J | Sck | C | Sc | S. 05 | S. 01 | Diferencia |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|--------|-------|-------|-------|------------|
| | 71.47 | 43.63 | 73.31 | 18.52 | 39.68 | 49.88 | 51.17 | 37.58 | 54.90 | 49.49 | 61.69 | 87.09 | 69.77 | 65.68 | | | | | | |
| 1 | — | — | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | -9 | 1 | 1 | 1 | 0 | 90 | | | | | |
| | | | 73.31 | 18.52 | 39.68 | 49.88 | 51.17 | 37.58 | 0 | -445 | 61.69 | 87.09 | 69.77 | 0 | | 43.28 | 38.14 | 181.9 | 203.1 | NS |
| 2 | 1 | -1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 2 | | | | | |
| | 71.47 | 43.63 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | | 27.84* | 5.69 | 27.12 | 30.27 | Sig. al 5% |
| 3 | — | — | — | — | — | 1 | — | -3 | — | — | — | 1 | 1 | — | 12 | | | | | |
| | | | | | | 49.88 | | -113 | | | | 87.09 | 69.77 | | | 94.0* | 13.93 | 66.43 | 74.15 | Sig. al 1% |
| 4 | — | — | — | — | — | -1 | — | — | — | — | — | 1 | — | — | 2 | | | | | |
| | | | | | | 49.88 | | | | | | 87.09 | | | | 37.21* | 5.69 | 27.12 | 30.27 | Sig. al 1% |
| 5 | — | — | — | — | — | — | — | 1 | — | — | — | -1 | — | — | 2 | | | | | |
| | | | | | | | | 37.58 | | | | -87.1 | | | | 49.51* | 5.69 | 27.12 | 30.27 | Sig. al 1% |
| 6 | — | — | — | — | — | — | — | 1 | — | — | — | — | -1 | — | 2 | | | | | |
| | | | | | | | | 37.58 | | | | | -69.8 | | | 32.19* | 5.69 | 27.12 | 30.27 | Sig. al 1% |
| 7 | — | — | — | — | — | -1 | — | 1 | — | — | — | — | — | — | 2 | | | | | |
| | | | | | | 49.88 | | 37.58 | | | | | | | | 12.30 | 5.69 | 27.12 | 30.27 | NS |
| 8 | — | -1 | — | — | — | — | — | 1 | — | — | — | — | — | — | 2 | | | | | |
| | | 43.63 | | | | | | 37.58 | | | | | | | | 6.05 | 5.69 | 27.12 | 30.27 | NS |

5. En relación al color, característica genética (blancas contra rojas).

| Ens | Lpz | Alpha | Murca | Pue | Nort | Mich | Juan | Tollo | Marc | Rosi | Mont | Irerí | Atz | S. J | Sck | C | Sc | S. 05 | S. 01 | Diferencia |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|--------|-------|-------|-------|------------|
| | 71.47 | 43.63 | 73.31 | 18.52 | 39.68 | 49.88 | 51.17 | 37.58 | 54.90 | 49.49 | 61.69 | 87.09 | 69.77 | 65.68 | | | | | | |
| 1 | — | — | 1 | 1 | — | — | — | -3 | — | — | — | — | — | 1 | 12 | | | | | |
| | | | 73.31 | 18.52 | | | | -113 | | | | | | 65.68 | | 44.78 | 13.93 | 66.43 | 74.15 | NS |
| 2 | — | — | 1 | 1 | — | — | — | — | — | -3 | — | — | — | 1 | 12 | | | | | |
| | | | 73.31 | 18.52 | | | | | | -148 | | | | 65.68 | | 9.04 | 13.93 | 66.43 | 74.15 | NS |
| 3 | — | — | — | 1 | — | -1 | — | — | — | — | — | — | — | — | 2 | | | | | |
| | | | | 18.52 | | 49.88 | | | | | | | | | | 31.36* | 5.69 | 27.12 | 30.27 | Sig. al 1% |
| 4 | 1 | — | — | — | — | -1 | — | — | — | — | — | — | — | — | 2 | | | | | |
| | 71.47 | | | | | 49.88 | | | | | | | | | | 21.59 | 5.69 | 27.12 | 30.27 | NS |
| 5 | 1 | -1 | 1 | 1 | -1 | -1 | 1 | -1 | 1 | -1 | 1 | -1 | -1 | 1 | 14 | | | | | |
| | 71.47 | 43.63 | 73.31 | 18.52 | -39.7 | 49.88 | 51.17 | 37.58 | 54.9 | -49.5 | 61.69 | -87.1 | -69.8 | 65.68 | | 19.63 | 15.04 | 71.76 | 80.09 | NS |

6. En relación a la región o zona geográfica de cultivo: sierras contra valles⁴.

| Ens | Lpz | Alpha | Murca | Pue | Nort | Mich | Juan | Tollo | Marc | Rosi | Mont | Irerí | Atz | S. J | Sck | C | Sc | S. 05 | S. 01 | Diferencia |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|-------|-------|-------|-------|------------|
| | 71.47 | 43.63 | 73.31 | 18.52 | 39.68 | 49.88 | 51.17 | 37.58 | 54.90 | 49.49 | 61.69 | 87.09 | 69.77 | 65.68 | | | | | | |
| 1 | 1 | -1 | 1 | — | -1 | — | 1 | -1 | — | 1 | — | -1 | — | — | 8 | | | | | |
| | 71.47 | 43.63 | 73.31 | | -39.7 | | 51.17 | 37.58 | | 49.49 | | -87.1 | | | | 37.46 | 11.37 | 54.24 | 60.54 | NS |
| 2 | 1 | — | 1 | — | — | — | 1 | — | — | -3 | — | — | — | — | 12 | | | | | |
| | 71.47 | | 73.31 | | | | 51.17 | | | -148 | | | | | | 47.48 | 13.93 | 66.43 | 74.15 | NS |
| 3 | — | -9 | — | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | — | 1 | — | 1 | 1 | 1 | 90 | | | | | |
| | | 392.6 | | 18.52 | 39.68 | 49.88 | 51.17 | 37.58 | | 49.49 | | 87.09 | 69.77 | 65.68 | | 76.21 | 38.14 | 181.9 | 203.1 | NS |

7. En relación a calidad para fritura.

| Ens | Lpz | Alpha | Murca | Pue | Nort | Mich | Juan | Tollo | Marc | Rosi | Mont | Irerí | Atz | S.J. | n | C | Sc | S.05 | S.01 | Resultado |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---|--------|------|-------|-------|-----------|
| | 88.44 | 52.47 | 83.4 | 32.97 | 67.56 | 61.69 | 86.02 | 45.23 | 115.4 | 51.92 | 66.74 | 106.7 | 79.39 | 90.13 | | | | | | |
| 1 | --- | --- | --- | --- | 1 | --- | --- | -1 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 2 | | | | | |
| | | | | | 67.56 | | | -45.2 | | | | | | | | 22.33 | 5.69 | 27.12 | 30.27 | NS |
| 2 | --- | 1 | --- | --- | --- | --- | --- | -1 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 2 | | | | | |
| | | 52.47 | | | | | | -45.2 | | | | | | | | 7.24 | 5.69 | 27.12 | 30.27 | NS |
| 3 | -1 | 1 | --- | --- | --- | --- | --- | 1 | --- | -1 | --- | --- | --- | --- | 4 | | | | | |
| | -88.4 | 52.47 | | | | | | 45.23 | | -51.9 | | | | | | 42.66* | 8.04 | 38.36 | 42.81 | Sig 0.5% |
| 4 | --- | --- | --- | -1 | 1 | --- | --- | 1 | --- | --- | --- | --- | --- | -1 | 4 | | | | | |
| | | | | -33 | 67.56 | | | 45.23 | | | | | | -90.1 | | -10.3 | 8.04 | 38.36 | 42.81 | NS |

8. En relación a susceptibilidad a heladas.

| Ens | Lpz | Alpha | Murca | Pue | Nort | Mich | Juan | Tollo | Marc | Rosi | Mont | Irerí | Atz | S.J. | n | C | Sc | S.05 | S.01 | Resultado |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----|--------|------|-------|-------|-----------|
| | 88.44 | 52.47 | 83.4 | 32.97 | 67.56 | 61.69 | 86.02 | 45.23 | 115.4 | 51.92 | 66.74 | 106.7 | 79.39 | 90.13 | | | | | | |
| 1 | 1 | -5 | --- | 1 | --- | 1 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 1 | 1 | 30 | | | | | |
| | 88.44 | -262 | | 32.97 | | 61.69 | | | | | | | 79.39 | 90.13 | | 90.27 | 22 | 105 | 117.2 | NS |
| 2 | 1 | -1 | --- | -1 | --- | 1 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | 1 | -1 | 6 | | | | | |
| | 88.44 | -52.5 | | -33 | | 61.69 | | | | | | | 79.39 | -90.1 | | 53.95* | 9.85 | 46.98 | 52.43 | Sig 1% |
| 3 | 1 | 1 | -1 | 1 | -1 | 1 | -1 | -1 | --- | -1 | -1 | --- | 1 | 1 | 12 | | | | | |
| | 88.44 | 52.47 | -83.4 | 32.97 | -67.6 | 61.69 | -86 | -45.2 | | -51.9 | -66.7 | | 79.39 | 90.13 | | 4.22 | 13.9 | 66.43 | 74.15 | NS |

EXPLICACIÓN ESTADÍSTICA DE LOS METODOS

B) METODO DE FRIEDMAN

Este método es ideal para cuando se trabaja con variables discretas, con mediciones cualitativas o semicuantitativas (método desarrollado por el economista Milton Friedman). La tabla de datos de Friedman es validada tanto por N filas y k columnas, las filas representan las variables y las columnas representan las diferentes condiciones.

Este análisis es equivalente al análisis de varianza ANOVA y se lleva a cabo por asignación de rangos, es decir, que de acuerdo a los resultados experimentales se asigna para cada repetición el valor de uno al valor mas bajo, y así sucesivamente dos, tres, hasta llegar al mas alto, si hubiese en una misma fila un empate se asigna el valor promedio de la suma de los números que les correspondan.

Después de haber asignado los rangos, se plantean las hipótesis de igualdad para ser comparadas con el valor de χ^2_r , de tal manera que si χ^2_r (obtenido) $> .05\chi^2_r$ (tablas), se dice que se rechaza la igualdad en base a la sig. formula.

$$\chi^2_r = 12 / (Nk(k+1)) * \sum R^2 - 3N(k+1) \quad \text{Valor de tablas } \chi^2 \text{ a comparar (tablas)}$$

N = No. de muestras

k = No. de tiempos

De tal forma que si χ^2_r es mayor a $.05\chi^2_r$ y $.005\chi^2_r$ se dice que son significativamente diferentes.