

2ej



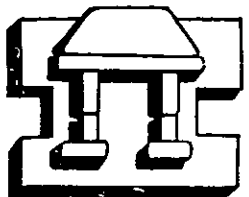
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

CAMPUS IZTACALA

“CONTENIDO DE SOLANIDINA, α-SOLANINA Y α-CHACONINA, EN TUBERCULO Y FOLLAJE DE PARENTALES Y RETROCRUZAS DE Solanum tuberosum, SELECCIONADOS POR SU CALIDAD Y RESISTENCIA A Phytophthora infestans”.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A :
ISRAEL AGUILAR RUEDA

ASESORES: DR. JORGE I. SARQUIS RAMIREZ
M. en C. NORMA CORIA GIL
DR. ANTONIO RIVERA PEÑA



IZTACALA
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TLALNEPANTLA, EDO. DE MEX.

1999

276864



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES IZTACALA  
JEFATURA DE LA CARRERA DE BIÓLOGIA

Los Reyes Iztacala, a 17 de marzo de 19 99

SOLICITUD PARA REVISION DE ESTUDIOS

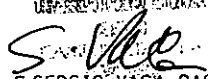
LIC. AMERICA LANDA ROMERO  
JEFE DE LA UNIDAD DE  
ADMINISTRACION ESCOLAR.  
P R E S E N T E .

Por medio de la presente comunico a Usted que el Pasante  
de Biología: ISRAEL AGUILAR RUEDA

ha concluido su trabajo de Tesis titulado: "Contenido de solani-  
nidina, alfa-solanina y alfa-chaconina, en tubérculo y folloje de parentales y  
retrocruzas de Solanum tuberosum, seleccionados por su calidad y resistencia a  
Phytophthora infestans".

habiendo entregado a esta Jefatura los votos aprobatorios.  
Se extiende la presente a fin de que procedan los trámites  
pertinentes para la realización de su examen profesional.

A t e n t a m e n t e  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

  
M EN C SERGIO VACA PACHECO

JEFE DE LA CARRERA DE BIOLOGIA

JEFATURA DE  
BIOLOGIA

## **Dedicatoria.**

**Es una buena oportunidad  
para decirte que te quiero mucho,  
gracias papá.**

**No existen palabras  
para agradecer tantas cosas  
que me has dado,  
gracias mamá.**

**A las mejores hermanas  
del mundo,  
Erika, Luisa y Mónica.**

**A mis sobrinos Tato y Sarahi y a sus papás.  
A toda mi familia.**

**Eli, tú eres parte de esto...  
y de muchas cosas que faltan, pero sólo  
a tu lado.**

**A la familia Vargas Lucas, por todas  
sus atenciones.**

**Gracias Doc. Jorge , a una excelente maestra, Norma.  
Gracias Martha, estimado Dr. Peters  
(Francisco).  
Carlita, gracias por tu amistad.**

**A mis amigos y amigas:  
Lena, Moni, Rocío, Ana, Elizabeth,  
Janeth, Dunia, Alejandra,  
Carlos, Iván, Luis, Alfredo, Carlos y Manuel.**

**A mis profesores de carrera.**

**Con especial agradecimiento a mis revisores.**

**A todos las personas que no mencione, pero que están presentes en mi pensamiento.**

## ÍNDICE.

	<i>Página.</i>
<b>I.-RESUMEN</b> .....	3
<b>II.-INTRODUCCIÓN</b> .....	6
<b>III.-ANTECEDENTES</b> .....	9
3.1.-El cultivo de papa.....	9
3.1.1.-Morfología de la planta de papa.....	9
3.1.2.-Origen y distribución de la papa.....	10
3.1.3.-Genética y reproducción de la papa.....	12
3.1.4.-Importancia de la papa en México.....	13
3.2.-El tizón tardío de la papa.....	14
3.2.1.-Descripción morfológica.....	14
3.2.2.-Variabilidad patogénica.....	15
3.2.3.-Síntomas.....	16
3.2.4.-Etiología.....	17
3.2.5.-Epifitología.....	17
3.2.6.-Manejo del tizón tardío.....	19
3.3.-El retrocruzamiento.....	20
3.3.1.-Métodos de mejoramiento en papa.....	21
3.3.2.-El retrocruzamiento convencional.....	22
3.4.-Glicoalcaloides en la planta de papa.....	24
3.4.1.-Estructura química.....	25
3.4.2.-Ubicación y distribución.....	25
3.4.3.-Biosíntesis.....	26
3.4.4.-Análisis.....	26
3.4.5.- Protección contra hongos e insectos.....	27
3.4.6.-Efecto tóxico en humanos.....	29
3.4.7.-Efecto de los glicoalcaloides sobre la membrana.....	31
3.4.8.-Actividad inhibitoria de la colinesterasa.....	32
3.4.9.-Factores que afectan el contenido de glicoalcaloides.....	32
<b>IV.-OBJETIVOS</b> .....	34
<b>V.-MATERIALES Y METODOS</b> .....	35
5.1.-Material de estudio.....	35
5.2.-Trabajo de campo.....	38
5.3.-Curvas patrón.....	40
5.4.-Extracción de la solanidina, $\alpha$ -solanina y $\alpha$ -chaconina.....	40
5.5.-Identificación de solanidina, $\alpha$ -solanina y $\alpha$ -chaconina.....	41
5.6.-Cuantificación de solanidina, $\alpha$ -solanina y $\alpha$ -chaconina.....	41
<b>VI.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	42
<b>VII.-CONCLUSIONES</b> .....	68
<b>VIII.-ANEXO</b> .....	70
<b>IX.-BIBLIOGRAFÍA</b> .....	71.

# INDICE DE FIGURAS, TABLAS Y GRÁFICAS

## FIGURAS

Página.

1.- Morfología de la planta de papa.....	10
2.- El tizón tardío de la papa.....	18
3.- Especies silvestres del género <i>Solanum</i> .....	21
4.- Esquema de retrocruzamiento en papa.....	23
5.- Estructura química de los glicoalcaloides.....	25
6.- Esquema de retrocruzamiento diseñado para las retrocruzas analizadas.....	37
7.- Diseño del campo experimental Valle de Toluca.....	39
8.- Cromatografía de los estándares.....	42
9.- Cromatografía de los Ga's presentes en <i>Solanum iopetalum</i> .....	50
10.-Cromatografía de los alcaloides detectados en una muestra de follaje.....	61

## TABLAS

1.- Glicoalcaloides presentes en especies tuberíferas.....	24
2.- Genealogía de los híbridos <i>S. Tuberosum</i> x <i>S. silvestres</i> .....	35
3.- Ubicación en campo de los materiales.....	38
4.- Valores de densidad integrados para solanidina, solanina y chaconina en dos curvas patrón.....	43
5.- Contenido de solanidina, $\alpha$ -solanina y $\alpha$ -chaconina, en tubérculo.....	57
6.- Contenido de solanidina, $\alpha$ -solanina y $\alpha$ -chaconina, en follaje.....	63

## GRÁFICAS

1.- Curva patrón obtenida para la solanidina.....	44
2.- Curva patrón obtenida para la $\alpha$ -solanina.....	45
3.- Curva patrón obtenida para la $\alpha$ -chaconina.....	44
4.- Diferencias en el contenido total de Ga's , tubérculo y follaje.....	46
5.- Relación entre el contenido de Ga's totales presente en tubérculo y follaje.....	47
6.- Contenido de glicoalcaloides en tubérculo.....	56
7.- Contenido de glicoalcaloides en follaje.....	62

## I.-RESUMEN.

La papa constituye uno de los principales alimentos de la humanidad. La calidad nutritiva de los tubérculos, la facilidad con que se cultiva y su alto rendimiento por hectárea, ha propiciado un incremento significativo en su consumo a nivel mundial.

Como en todo cultivo de interés agrícola, las enfermedades y plagas tienen efectos devastadores en la producción de alimentos, provocando inclusive períodos de hambruna.

El tizón tardío de la papa *Phytophthora infestans*, es actualmente la enfermedad más devastadora del cultivo en todo el mundo. Para controlar la enfermedad, se aplican constantemente fungicidas que dañan el ambiente e incrementan el costo de producción. Pero el problema no ha sido solucionado por completo con la utilización de estos agroquímicos, ya que el patógeno ha desarrollado resistencia a los fungicidas, además las mutaciones que ha sufrido para adquirir resistencia, también han provocado que el hongo sea más agresivo.

Los investigadores de todo el mundo han buscado alternativas que le permitan a la planta adquirir la resistencia genética contra el tizón tardío, la resistencia genética tiene costos mínimos y ningún impacto ambiental; se logra mediante el cultivo de variedades que han sido mejoradas en su resistencia durable al tizón tardío. La resistencia durable se observa en muchas especies silvestres de papa en América Latina, especialmente en México.

Al utilizar dichas especies en programas de mejoramiento genético en papa, también se corre el riesgo de crear variedades que heredan características indeseables.

Los tubérculos de papa sintetizan solanidina,  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina, estos alcaloides esteroideos provocan diversas alteraciones en la salud humana incluyendo la muerte. Las especies silvestres casi siempre contienen estos compuestos en niveles considerados un riesgo para la salud (más de 20 mg/100 g de T.F). La capacidad de sintetizar este tipo de compuestos es altamente heredable, se piensa que la disminución del contenido en las variedades comerciales fue resultado de la domesticación y selección continua.

Los glicoalcaloides (Ga's), como se conocen generalmente, se han interpretado como un factor de resistencia contra insectos y hongos, pero aún existen controversias al respecto.

En el presente trabajo se determinó la concentración de solanidina,  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina, en los tubérculos y follaje de quince híbridos (retrocruzas) provenientes de un esquema de retrocruzamiento para introducir resistencia durable a *Phytophthora infestans*, el contenido también fue determinado en los parentales.

El contenido de alcaloides en los tubérculos de las especies parentales silvestres *Solanum demissum* y *Solanum iopetalum* (70.4 y 76.2 mg/100 g de T.F respectivamente) excedió el límite permitido en un cultivo comercial (20 mg totales de glicoalcaloides/100 de T.F), con certeza podemos asegurar que el consumo de sus tubérculos podría provocar daños a la salud.

La concentración de alcaloides en las variedades comerciales Alpha y López promediaron en sus tubérculos niveles por debajo del límite permitido (15.8 y 14.8 mg/ 100 g de T.F respectivamente). Generalmente las variedades comerciales sintetizan niveles aceptables de Ga's.

El contenido de Ga's en la mayoría de los tubérculos de las retrocruzas fue aceptable:  $x=19$  mg totales/100 g de T.F. Se esperaba encontrar un contenido alto de Ga's en las retrocruzas, ya que los parentales silvestres acumularon grandes cantidades de estos compuestos; sin embargo, el retrocruzamiento de las F1, RC1, RC2 y RC3 con las variedades comerciales fue fundamental para disminuir el contenido de glicoalcaloides en las retrocruzas.

La resistencia de las retrocruzas al tizón tardío fue notable, no se observó daño alguno en los tubérculos, el follaje sólo presentó pequeñas manchas necróticas que no afectaron el desarrollo de los híbridos.

El contenido de glicoalcaloides en follaje fue significativamente mayor que en los tubérculos, es posible que el incremento esté relacionado con el metabolismo foliar y con la presencia de factores que inducen la síntesis de glicoalcaloides.



De acuerdo a los resultados obtenidos, podemos mencionar que la resistencia de los tubérculos al tizón tardío adquirida por este esquema de mejoramiento, no está relacionada con la acumulación de glicoalcaloides en la planta.

Se concluye, que el esquema de mejoramiento genético denominado retrocruzamiento, es un camino factible para introducir resistencia a *Phytophthora infestans*, en especies y variedades susceptibles con carácter comercial. El retrocruzamiento, permite disminuir considerablemente los contenidos altos de Ga's que se heredan fuertemente al cruzar *Solanum* silvestres con *Solanum* susceptibles; los tubérculos de las nuevas variedades se pueden consumir sin ningún problema.

## II.-INTRODUCCION.

Sin duda, la agricultura representa actualmente una de las actividades más importantes que el hombre desarrolla para obtener la mayor parte de los alimentos que consume; con el paso del tiempo esta actividad ha experimentado avances importantes, en parte debidas al desarrollo científico y tecnológico. Si bien la domesticación de las plantas fue importante para producir constantemente los alimentos, la selección de plantas cultivables con ciertos atributos y ventajas adaptativas, lo fue aún mas. La selección específica de aquellas plantas que poseen ciertas ventajas adaptativas permite desarrollar cultivos con mayor rendimiento, calidad apropiada , resistencia a plagas, enfermedades y estrés ambiental.

Además de la selección directa en poblaciones ya existentes, la selección vegetal en su nivel más elemental implica la hibridación deliberada de dos genotipos parentales, seguida de la selección de nuevos genotipos recombinantes que adicione las características deseables.

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es un cultivo de gran importancia en todo el mundo, únicamente es superado en cuanto a consumo y producción total por el trigo, arroz y maíz. (Ross, 1986). Los tubérculos de papa tienen un excepcional rendimiento por hectárea (40 toneladas/ hectárea), muchas veces mayores que los que se obtienen en un cultivo de cereales (Burton, 1969). Ya que la papa es un alimento de buena calidad nutritiva, muchos investigadores, productores y mejoradores genéticos conjuntan esfuerzos para obtener variedades que proporcionen mayor rendimiento, calidad, facilidad en el procesamiento, mayor resistencia a plagas, enfermedades y estrés ambiental; para ello recurren a especies silvestres y a las diversas técnicas de mejoramiento genético clásico y biología molecular.

El género *Solanum* posee una gran cantidad de especies silvestres, se conocen alrededor de 235, cada una de ellas presenta diferentes grados de poliploidia. Tales especies se encuentran distribuidas por los distintos países del continente americano y poseen una gran diversidad de adaptación ecológica, lo que constituye una gran ventaja para su utilización en programas de mejora genética por cruzamientos (Dominic, Sears y Stapleton, 1997).

Las especies silvestres del género *Solanum* son frecuentemente utilizadas en el mejoramiento genético de papa para transferir resistencia a patógenos, insectos o estrés fisiológico, sin embargo su empleo también puede implicar el riesgo de que se hereden características que no benefician precisamente el rendimiento, la resistencia y la calidad de los tubérculos; la capacidad de sintetizar altos niveles de glicoalcaloides es una de ellas (Van Gelder y Scheffer, 1991).

Los glicoalcaloides son compuestos potencialmente tóxicos producto del metabolismo secundario de plantas que pertenecen principalmente a la familia de las Solanáceas. Se consideran importantes en la calidad de la papa debido a su toxicidad; se ha calculado que una dosis de 2-5 mg/kg. de peso en una persona, provoca los síntomas de un envenenamiento, mientras que dosis mayores pueden provocar la muerte. Tales efectos se deben a que pueden inhibir la actividad enzimática de la colinesterasa y a la capacidad que tienen para combinarse con las membranas celulares y provocar su lisis (Morris y Lee, 1984).

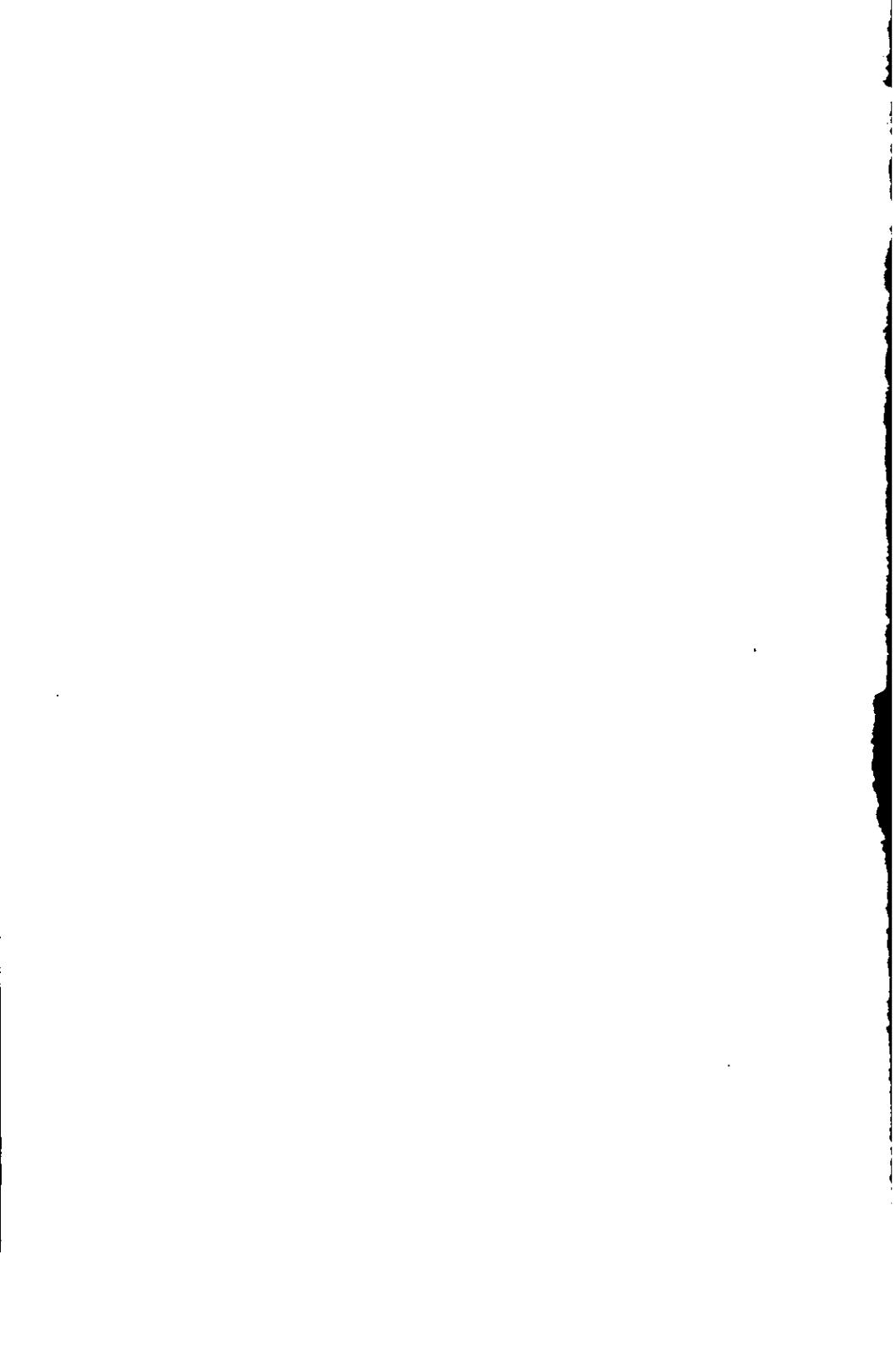
Algunas especies de interés para los mejoradores contienen niveles extremadamente altos de glicoalcaloides totales (Ga's T) y de tipos no muy frecuentes de glicoalcaloides con propiedades tóxicas o teratógenas mal definidas o desconocidas (Gregory, 1984).

$\alpha$ -Solanina y  $\alpha$ -Chaconina son los principales glicoalcaloides (Ga's) encontrados en los tubérculos de papa (95 %), se sintetizan por la ruta del mevalonato, vía colesterol; están formados por un núcleo esteroidal común llamado solanidina, ésta es glicosilada con solatriosa y chacotriosa, respectivamente para la formación de uno u otro glicoalcaloide (Stapleton, 1991).

Existe la posibilidad de que los glicoalcaloides se encuentren relacionados con los factores de resistencia que la planta de papa desarrolla para evadir los daños causados por hongos e insectos, las pruebas realizadas *in vitro* demuestran que inhiben el desarrollo y producción de esporas en diversos hongos, evitan el desarrollo larval y el consumo de hojas y tubérculos por insectos; sin embargo existen aún controversias acerca de la importancia que puedan tener en la resistencia observada en campo (Deahl, 1991; Fewell y Roddick, 1993).

A pesar de que la cantidad de glicoalcaloides está determinada genéticamente en cada especie o variedad, diversos factores pueden inducir su síntesis; la exposición de los tubérculos a la luz directa, un almacenamiento prolongado, el daño mecánico durante la comercialización, lesiones por insectos o patógenos, exceso de fertilización durante el ciclo de cultivo, entre otros, pueden propiciar que el contenido se incremente significativamente, provocando que los tubérculos no sean adecuados o seguros para el consumo humano (Maga, 1980; Woolfe, 1987).

Debido a que el contenido y la síntesis de glicoalcaloides es altamente heredable, es importante que los fitomejoradores eviten incorporar nuevas variedades con contenidos altos o con capacidad de sintetizar gran cantidad de glicoalcaloides, utilizando especies silvestres adecuadas y verificando frecuentemente el contenido de los glicoalcaloides en los híbridos (van Gelder, 1990).



### **III.-ANTECEDENTES.**

#### **3.1.-EL CULTIVO DE PAPA.**

La papa pertenece al género *Solanum* de la familia de las Solanáceas, dentro de la cual se incluye al jitomate, chile y tabaco. Este género es muy extenso, pero de las 2,000 especies que aproximadamente lo forman sólo 200 tuberizan y constituyen la sección tuberarium (*Solanum tuberosum*) (Hawkes, 1990).

##### **3.1.1.-Morfología de la planta.**

La papa es clasificada como dicotiledónea anual, aunque puede persistir en el campo vegetativamente en forma de tubérculo de una estación a otra. La planta es de tipo arbustiva o herbácea, con una altura de 60 a 90 cm, provista de un sistema caulinar aéreo y otro subterráneo de naturaleza rizomática. Las hojas son de tipo compuesto, con varios foliolos opuestos y un foliolo grande terminal. Los tallos aéreos son herbáceos y erectos, vellosos y con ramificaciones no muy desarrolladas. La raíz de la planta es de tipo adventicio, en la mayoría de los suelos de textura franca y alto contenido de materia orgánica se encuentra en los primeros 40 cm, en los suelos arcillosos profundizan menos que en los arenosos. La inflorescencia típica de la papa es una cima terminal, aunque en algunas variedades excepcionalmente es una umbela; tiene largos pedúnculos y puede ser simple o compuesta. La flor está compuesta por cinco pétalos que se fusionan formando un tubo floral. Los frutos son redondos y suaves, con un diámetro de 2 cm aproximadamente, las semillas son pequeñas y aplastadas. En los tallos subterráneos se producen hinchamientos o tubérculos de forma oval, redondeada o claviforme, en ellos se almacenan los carbohidratos en forma de almidón, también se pueden observar a simple vista unas escamitas en cuyas axilas se encuentran yemas de crecimiento que se llaman ojos y que se disponen en espiral sobre la superficie del tubérculo (fig. 1).

**Fig. 1.-Morfología de la planta de papa *Solanum tuberosum* L.**



### **3.1.2.-Origen y distribución.**

Indudablemente la papa es originaria de América del Sur, fue domesticada en los Andes, probablemente entre la región central de Perú y la región central de Bolivia, fue cultivada aproximadamente 7,000 años antes de nuestra era según lo indica los descubrimientos arqueológicos en la costa peruana de la cultura pre-Inca. Cerámicas antiguas encontradas en Perú demuestran que el cultivo también fue conocido ampliamente al inicio de la era cristiana. Existen algunas controversias acerca de una segunda área independiente de domesticación, la isla Chiloé al sur de Chile.

La papa fue introducida de América del Sur a Europa en el siglo XVI, algunos años después del descubrimiento y conquista de Perú. Salaman (1954) sugiere que las primeras introducciones posiblemente pudieron provenir de Perú o del puerto de Cartagena en la costa norte de Colombia. Juzepczuk y Bukasov (1929) sugieren que las primeras introducciones provinieron del Sur de Chile. Salaman (1954) argumenta que el primer viaje directo de Chile a Europa vía el estrecho de Magallanes se realizó en 1579.

De Europa se extendió a Norte América, India, China, Japón y partes de Africa en el siglo XVII. Actualmente la papa se distribuye en latitudes de 55° N a 50° S y en altitudes que van desde el nivel del mar hasta los 4,000 m.

Algunas especies de *S. stenotomum* muy similares a ciertas especies silvestres, pudieron haber sido las primeras en domesticarse. Posiblemente *Solanum leptophyes* fue la especie silvestre antecesora y la región del lago Titicaca el área de domesticación. Otras especies diploides pudieron haber derivado de *S. stenotomum* por selección humana como *S. phureja* que presenta una madurez precoz y ausencia de dormancia en el tubérculo y *S. goniocalyx* de sabor agradable. El evento más importante en la evolución de la papa fue el origen de la especie tetraploide *S. tuberosum* subsp. *andigena*. Cadman (1942) propone el origen de una especie autotetraploide por cruza de gametos no reducidos de *S. stenotomum*. Hawkes (1956) propone el origen de un híbrido tetraploide, que implicó los gametos no reducidos de *S. stenotomum* y la especie diploide *S. sparsipilum*. Cribb y Hawkes (1986) proporcionan fuerte evidencia que soportan este origen allotetraploide. *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* proviene de subsp. *andigena* debido a una selección en la adaptación a fotoperíodo largos; las investigaciones han demostrado que este proceso de adaptación provocó diversos cambios morfológicos como el desarrolló de hojas largas con hojillas amplias, reducción de la altura de la planta y reducción de la floración (Dominic, Sears y Stapleton, 1997).



### 3.1.3.-Genética y reproducción de la papa.

El cultivo de papa que conocemos comúnmente es autotetraploide ( $4n=48$ ), muchas de las especies silvestres son diploides ( $2n=24$ ), pero se presentan diferentes niveles de poliploidia basados en un número haploide de 12, inclusive se han reportado especies hexaploides ( $6n=72$ ). La producción comercial de papa no hace uso de la semilla sexual o botánica, se aprovecha la reproducción vegetativa de los tubérculos (Everett, 1981), la reproducción es clonal y por lo tanto existe una estabilidad genética en las mutaciones y variación clonal (Shepard, 1980), generalmente los clones son susceptibles a la transmisión de enfermedades que el tubérculo madre pueda presentar, dichas enfermedades son reducidas con el empleo de la semilla sexual, además de que reduce costos de almacenamiento, transporte y reducción de hectáreas para la producción de semilla.

La producción de flores y formación de frutos en variedades comerciales es innecesaria, pero son esenciales desde el punto de vista genético. En la mayoría de las variedades del grupo *tuberosum* hay poca producción de frutos lo cual se atribuye a esterilidad del polen. Generalmente la esterilidad que ocurre en las variedades se debe al polen y no al óvulo. También se presenta esterilidad como resultado de cruzamientos entre especies de diferentes números de cromosomas, como se observa en híbridos triploides y pentaploides. Howard (1969) ha sugerido que la esterilidad del polen puede deberse a un gene dominante sencillo, a genes recesivos o a interacciones citoplasmáticas (Ross, 1986).

La genética y reproducción de la papa es una cuestión complicada, algunos de los problemas a los que se enfrenta el mejorador genético en campo, es el nivel de poliploidía (tetraploide para *Solanum tuberosum*), la gran variabilidad que se presenta debido a los efectos ambientales y la dificultad en la evaluación fenotípica de las introgresiones y recombinaciones. (Dominic, Sears y Stapleton, 1997).

La papa es muy abundante en fuentes genéticas , estas son relativamente fáciles de incorporar en los cultivos, las fuentes de variación incluyen especies silvestres ubicadas en la región Andina del sur de América y la región de América central; se reconocen claramente dos centros de diversidad: uno en la región central de México y otro en Perú, Bolivia y Argentina, México cuenta con 36 especies silvestres, Bolivia con 39 y Perú con 100.

#### **3.1.4.-Importancia de la papa en México.**

México es uno de los dos centros de origen de la papa; hace 500 años antes de Cristo, fue alimento básico para los incas en los Andes; nuestros antepasados también se alimentaban de papas silvestres en el altiplano de México.

La papa es un cultivo de gran importancia; tiene mayor valor nutricional por unidad de superficie cosechada que muchos otros cultivos, posee proteína balanceada de alta calidad, con un alto contenido de lisina (aminoácido esencial), contiene cantidades substanciales de vitamina C y tres vitaminas del complejo B: niacina, tiamina y rivo flavina, es de fácil digestibilidad y la pueden consumir desde niños lactantes hasta los ancianos, es el cultivo que convierte más rápidamente el trabajo en capital y en alimento de buena calidad, es una buena fuente de trabajo en el campo, tiene uso en la industria de alcoholes y forrajes y en México existen áreas donde se pueden programar las siembras durante todo el año.

México es reconocido como uno de los dos centros de diversidad y cuenta con un gran número de especies silvestres, más de 36 (Dominic, Sears y Stapleton, 1997). Es por ello que investigadores mexicanos han creado material genético de papa que se ha aprovechado en la creación de variedades mejoradas y que son la base de la alimentación de varios países europeos.

A pesar de que México es uno de los centros de origen no se le ha dado la importancia socioeconómica que tiene y no figura como alimento básico en los patrones alimenticios de nuestro país, su utilización es mínima, se usa principalmente como verdura y se tiene un consumo aproximado per cápita de 9.6 kg, además no cuenta con los apoyos necesarios de crédito, investigación, comercialización y asistencia técnica que permitan su desarrollo (Amaya, 1982).

### **3.2.-EL TIZON TARDIO DE LA PAPA.**

La planta de papa es atacada severamente por una enfermedad causada por el hongo *Phytophthora infestans*, que provoca lesiones en hojas, tallos y tubérculos. Este daño se manifiesta relativamente tarde en el ciclo de la planta, por lo que recibe el nombre de tizón tardío. El tizón tardío es hoy en día la enfermedad fungosa más destructiva en el cultivo de la papa, por tal motivo su control representa un desafío técnico-económico al que tienen que enfrentarse productores y técnicos que se dedican a la producción de papa (Fig. 2).

El tizón tardío originario del Valle de Toluca, apareció casi simultáneamente en Europa y Estados Unidos en la década de 1830-1840 causando severos daños a la papa, particularmente en Irlanda. Desde entonces continúa siendo un problema serio en las zonas productoras de papa con clima fresco y húmedo; el problema se incremento en la década de 1970-1980 en que la migración del grupo de compatibilidad A2 presente en México se detectó en Estados Unidos y Europa. Se han detectado nuevas variantes de tizón aún más agresivas y con tolerancia a fungicidas sistémicos convencionales (Romero, 1988).

#### **3.2.1.-Descripción morfológica**

El micelio es liso poco ramificado, las hifas son cenocíticas y miden en promedio 9.2  $\mu\text{m}$  de diámetro. El micelio de este hongo produce esporangióforos ramificados de crecimiento indeterminado.

En las puntas de las bifurcaciones de éstos, se forman esporangios papilados y deciduos que tienen la forma de un limón con un tamaño promedio de 29 X 19 µm.

Los gametangios constan de un oogonio liso, globoso y activo, su tamaño promedio es de 40µm; el anteridio es anfigino y pasivo; las oosporas son lisas de paredes gruesas, esféricas y appleróticas con un diámetro promedio de 30 µm (Romero, et.al).

*Phytophthora infestans* es un hongo heterotálico, es decir requiere dos individuos para que ocurra reproducción sexual, a los dos tipos de individuos se les conoce como grupos de compatibilidad A1 y A2 y debido a que sólo uno de ellos estaba presente en la mayoría de los países (hasta la década de los 70's), la fase sexual de estos hongos rara vez se había observado. Sin embargo en México ambos tipos de reproducción se encuentran ampliamente distribuidos y las oosporas del hongo son muy comunes. (Agrios, 1991).

### **3.2.2.-Variabilidad patogénica.**

Giddings y Berg (1919), de la Universidad de Virginia del Oeste, fueron los primeros en notar que *P. infestans* es muy susceptible para variar patogénicamente. Estos autores observaron que los aislamientos de papa atacan ligeramente al tomate, pero los de este cultivo atacan severamente a ambos hospedantes. Más tarde se observó que también este organismo adquiriría progresivamente más virulencia mediante transferencias sucesivas en variedades resistentes. El mismo fenómeno lo observaron Mills en 1940 y De Bruyn en 1951, trabajando con tubérculos de variedades resistentes. Por un tiempo sus observaciones fueron interpretadas como una respuesta de adaptación al sustrato, pero estudios posteriores sugirieron que la patogenicidad de *P.infestans* puede mutar fácilmente.

Lo anterior fue demostrado a plenitud por Black (1953) cuando logró completar una serie de diferenciales para la identificación de razas fisiológicas. Dicha serie fue generada a partir de cruza entre *Solanum demissum* y variedades comerciales, después de descubrir que en algunos clones de la primera (*S. demissum*) existen genes de resistencia al tizón heredables en forma independiente.

Con la serie de diferenciales del Dr. Black, en 1956 se completó en México el reconocimiento de 16 razas fisiológicas, número mayor al registrado en cualquier otro país del mundo. La razón parecía obvia: esta variación del patógeno en México no podía deberse únicamente a la mutación, sino a otro mecanismo: la hibridación, muy posiblemente al encontrarse en el campo los dos grupos de compatibilidad. La comprobación llegó en 1967, cuando Romero y Erwin, al cruzar un aislamiento raza 0 por otro aislamiento raza 1.2.3.4, obtuvieron una progenie de cultivos mono-oospóricos con genotipos muy variados (raza 0, raza 1, raza 2, etc.) indicativos de la capacidad de *P. infestans* para generar nuevos biotipos por hibridación.

### **3.2.3.-Síntomas.**

Los síntomas iniciales en un lote de papa, provienen de inóculo primario, es decir de tubérculo, el daño avanza sistemáticamente hasta alcanzar la base de tallos los cuales se tornan de color negro, con abundante humedad relativa y temperatura fresca la lesión se cubre de un fieltro de color blanco que son los esporangios del hongo.

Síntomas secundarios: normalmente los más desastrosos se ven en hojas y brotes tiernos como manchas de color café púrpura normalmente en los bordes o ápices de las hojas, al crecer cubren toda la hoja; por el envés de ésta las manchas se cubren de un vello blanquecino, compuesto por las fructificaciones del hongo. De las hojas, la infección avanza hacia el pecíolo y luego al tallo, el cual muestra una pudrición café oscura, al principio, y después superficialmente blanquecina provocada por el desarrollo de micelio, esporangióforos y esporangios, que en conjunto dan esta tonalidad.

Las hojas y tallos de las variedades susceptibles son rápidamente invadidas por el patógeno y las deja como si hubieran sido presas del fuego, a lo que alude el nombre de tizón con que se conoce la enfermedad. En las variedades resistentes, las manchas necróticas crecen lentamente y el hongo esporula poco, por lo que no llegan a morir. En las variedades inmunes, el hongo penetra, pero debido a una reacción de hipersensibilidad, las células infectadas mueren rápidamente y con ellas el hongo también perece dejando solamente una huella diminuta o punto necrótico.

Cuando el tiempo es lluvioso, los tubérculos están expuestos a pudriciones por inoculo que el agua de lluvia acarrea de las hojas y tallos hacia el suelo. En estos órganos, las lesiones son café purpúreas, firmes, relativamente superficiales e inodoras si no hay invasión de bacterias u otros organismos saprófitos (Romero 1988, et.al, International Potato Center, 1983).

#### **3.2.4.-Etiología.**

El hongo se mantiene latente en forma de micelio en los tubérculos de papa infectados; este micelio se propaga en los tejidos de los tubérculos de papa y por último llega a unos cuantos brotes que se formaron a partir de los tubérculos infectados utilizados como semilla, así como las plantas voluntarias desarrolladas a partir de tubérculos enfermos abandonados en el campo, o bien puede llegar a los brotes que se han formado por las papas infectadas que fueron depositadas en basureros o en montones de desechos.

Después de que la planta emerge, el hongo invade algunos de los brotes en desarrollo y esporula siempre que las condiciones de humedad sean favorables, produciéndose así el inoculo primario. Una vez realizada la infección primaria, la diseminación se realiza por medio de los esporangios que son transportados por el agua y por el viento. (Agrios, 1991 y Ames, 1980).

#### **3.2.5.-Epifitología.**

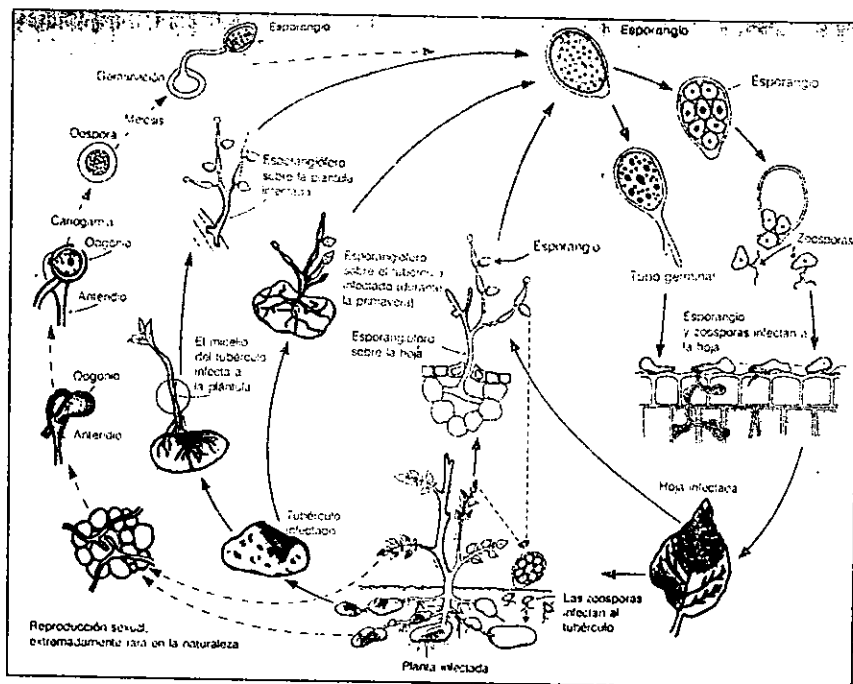
El desarrollo epidémico del tizón tardío depende en gran parte del efecto que tiene la humedad y la temperatura sobre las distintas etapas del ciclo de vida del hongo. Este último muestra una mayor esporulación en una humedad relativa de 100 % (o un valor que se le aproxime) y a temperaturas comprendidas entre 16 y 22°C. Los esporangios pierden su viabilidad al cabo de 3 a 6 horas a humedades relativas por debajo de 80 %.

La germinación de los esporangios sólo se produce cuando hay rocío o un cierto volumen de agua sobre las hojas de las plantas y, dentro del rango de temperatura comprendido entre 10 y 15°C, puede concluir al cabo de media hora o dos como máximo.

Una vez que los esporangios han germinado, se requiere un período de 2 a 2.5 horas a una temperatura que va desde 15 a 25°C. Para que se produzca la penetración de los tubos germinales en los tejidos del hospedero.

Después de haber penetrado en los tejidos, el micelio del hongo se desarrolla con mayor rapidez dentro del rango de temperatura de 17 a 21°C, el cual es también óptimo para que puedan esporular. Las temperaturas mayores a los 30°C inhiben el desarrollo del hongo en el campo pero no lo destruyen, de ahí que pueda esporular de nuevo cuando la temperatura sea favorable, pero siempre y cuando la humedad relativa sea lo suficientemente alta (Fig. 2) (Agrios, 1991).

Fig. 2.-El tizón Tardío de la papa.



### **3.2.6.-Manejo del tizón tardío.**

El control de las enfermedades de las plantas resulta más eficiente y económico cuando se toma en cuenta toda la información pertinente y disponible respecto al cultivo, sus patógenos, las condiciones del medio ambiente que se espera predominen, la localidad, la disponibilidad de materiales, costos, etc., a fin de desarrollar un control adecuado. El tizón de la papa puede controlarse satisfactoriamente mediante la combinación de varias medidas sanitarias, variedades resistentes y aspersiones con compuestos químicos aplicadas adecuadamente a la temporada; sin embargo las aplicaciones de fungicidas para controlar el tizón tardío de la papa encarecen el cultivo y afectan al medio ambiente.

En 1994 los productores de papa del mundo gastaron más de 4,000 millones de dólares en fungicidas para controlar la enfermedad.

Actualmente, se aplican más agroquímicos a la papa que a cualquier otro cultivo alimenticio. La alternativa más promisoría para reducir el uso de agroquímicos consiste en sembrar variedades con resistencia durable al hongo.

Los científicos de todo el mundo han buscado durante más de 100 años la resistencia genética al tizón tardío. Sus esfuerzos se han frustrado por la agresividad y la variabilidad del hongo causante de la enfermedad, el cual ha traspasado la estrecha base genética de que se disponía. La solución a este problema que afecta a la producción de papa en el mundo, está en la incorporación de resistencia genética durable al tizón tardío, de los biotipos 1 y 2, en los nuevos cultivares de papa. Durante las pasadas décadas esta resistencia durable ha sido identificada y utilizada, primero por los mejoradores de papa en México y recientemente, en otros países.

Esta valiosa resistencia durable se observa en muchas especies silvestres de papa en América Latina, especialmente en México. Al utilizar la resistencia durable, los fitomejoradores desarrollan nuevas variedades que prometen una tolerancia más estable al tizón. La resistencia genética tiene costos mínimos y ningún impacto ambiental.



Se logra mediante el cultivo de variedades mejoradas en su resistencia durable al tizón tardío (Holliday, 1980; PICTIPAPA; A.C.).

### **3.3.-EL RETROCRUZAMIENTO; MÉTODO PARA INTRODUCIR RESISTENCIA A PLAGAS Y PATÓGENOS.**

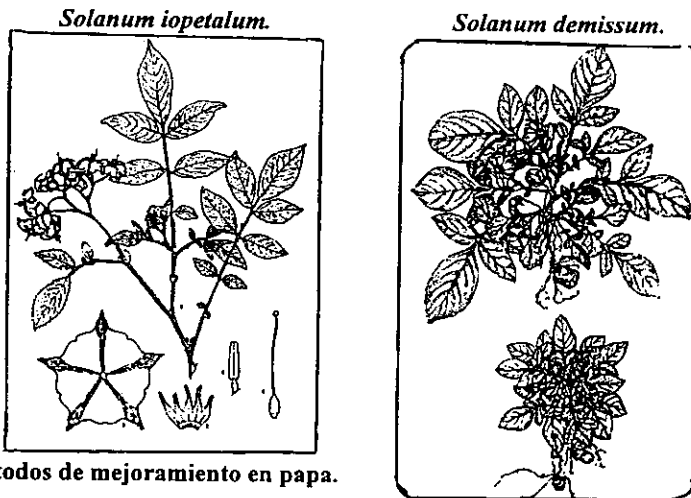
Uno de los problemas más importantes de la agricultura es contar con variedades de plantas, capaces de resistir los daños causados por las enfermedades, los insectos y los factores ecológicos adversos. Las variedades resistentes juegan un papel muy importante, pues el éxito o fracaso de un cultivo dependen frecuentemente de su modo de reaccionar frente a un patógeno determinado, el ataque de un insecto, o la acción de las elevadas temperaturas, de las heladas o de la sequía. En lo que se refiere especialmente a las enfermedades e insectos, el modo más eficaz de evitar sus daños es el cultivo de variedades que puedan resistirlos en suficiente grado.

En ciertos casos, existen métodos que permiten prevenir o combatir las enfermedades o los insectos, pero se requieren gastos que aumentan considerablemente el costo de producción, exige el empleo de equipo y materiales que en ocasiones es difícil de adquirir y obliga al agricultor a un aprendizaje casi siempre complicado para él; el empleo de variedades resistentes elimina a todas estas necesidades y permite obtener las cosechas con menor costo.

No es fácil la obtención de variedades resistentes; evidentemente existen en la naturaleza, dentro de las especies cultivadas o de especies muy afines a cada una, tipos inmunes o resistentes a distintos agentes patógenos, pero casi siempre estos tipos carecen de cualidades productivas o cualitativas satisfactorias y no es posible su empleo directo para una producción agrícola económicamente favorable. Por lo tanto es indispensable , en la mayoría de los casos , crear variedades dotadas de resistencia y de características económicas útiles, por medio de métodos genéticos adecuados.

Existen especies silvestres dentro del género *Solanum* que presentan cierta resistencia a insectos y patógenos que atacan el cultivo de papa; los genes que determinan la resistencia se han podido introducir en variedades comerciales. A este respecto pueden mencionarse, entre otros, los trabajos de Reddick, en los Estados Unidos, quien utilizó para los cruzamientos líneas de la especie *Solanum demissum*, inmunes al tizón tardío (*Phytophthora infestans*), pero incapaces de formar tubérculos de tipo comercial. Después de cuatro generaciones, Reddick pudo obtener una variedad que unía a la inmunidad de *S. demissum* las características hortícolas y culinarias de las variedades comerciales, fig.3 (De la Loma, 1963).

**Fig. 3.-Especies silvestres del género *Solanum* aprovechables por su resistencia a insectos y hongos.**



### 3.3.1.-Métodos de mejoramiento en papa.

Los métodos de mejoramiento genético utilizados en papa, pueden ser asexuales y sexuales:

Asexuales: La selección clonal no ha probado ser un método de mejoramiento efectivo en papa, a pesar de que se presentan ocasionalmente algunas mutaciones. Se ha mencionado que la estabilidad de la papa bajo propagación asexual se acerca a la línea pura derivada de cultivos de autopolinización. La selección clonal es principalmente un método para mantener una variedad pura y con un alto grado sanitario.

Sexuales: los métodos sexuales de mejoramiento se basan en cruzamientos, selección de líneas autofecundadas, cruzamientos entre líneas autofecundadas o hibridaciones interespecíficas. Para efectuar el mejoramiento sexual no sólo hay que elegir a los padres si no que es necesario efectuar pruebas de progenies y de habilidad combinatoria.

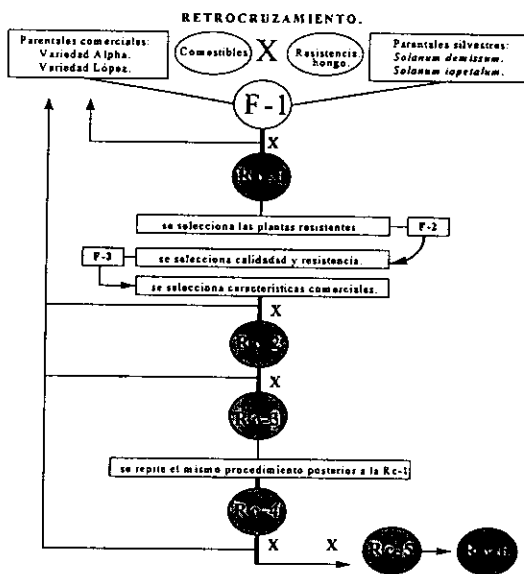
Es importante mencionar que la papa que generalmente se cultiva es autotetraploide ( $2n=4x=48$  cromosomas), es un organismo altamente heterocigótico y cuando está sujeta a reproducción sexual, los individuos que conforman la progenie segregan ampliamente para varias características.

### **3.3.2.-El retrocruzamiento convencional.**

El retrocruzamiento es un método preciso y confiable para mejorar variedades que poseen una calidad apropiada para el consumo humano, pero que carecen de ciertas ventajas que ofrecen las especies silvestres, el método se utiliza especialmente para incorporar resistencia a patógenos e insectos. El retrocruzamiento puede ocurrir de manera natural, pero cuando se manipula artificialmente, se hace cruzar una especie con características comerciales con una especie silvestre que done el gen o los genes de resistencia R, la generación resultante (F1) es cruzada nuevamente con el parental recurrente o variedad comercial, la generación resultante es llamada retrocruza uno; se seleccionan las plantas que son resistentes al patógeno o insecto, estas plantas son autofecundadas, sus semillas son utilizadas para producir la generación F2, de esta generación se seleccionan aquellas plantas que presentan resistencia y características de calidad, las plantas que han sido seleccionadas son autofecundadas para producir la F3; se lleva a cabo una nueva selección de plantas con características comerciales, las plantas son cruzadas nuevamente con el parental recurrente, la generación resultante es llamada retrocruza dos, se realiza nuevamente una retrocruza con el parental comercial o recurrente, se genera entonces el ciclo de retrocruzamiento tres; de este último ciclo se seleccionan aquellas plantas que heredaron la resistencia del parental silvestre, se obtienen las semillas sexuales se siembran y se selecciona las plantas que presentan calidad y resistencia.

Aquellas que fueron seleccionadas son autofecundadas para obtener una generación más, se practica otra selección para rescatar las plantas que produzcan tubérculos de buena calidad, las plantas que han sido seleccionadas se utilizan para los siguientes ciclos de retrocruzamiento 4, 5, y 6 que se realizan sucesivamente, por último se selecciona las plantas que presentan resistencia y calidad apropiada; al finalizar el esquema de retrocruzamiento se obtiene un híbrido con la misma adaptación, rendimiento y calidad que caracteriza al progenitor recurrente, pero con la resistencia al patógeno o insecto que caracteriza al parental silvestre (Fig. 4) (Briggs y Knowles, 1967; Allard, 1960).

Fig. 4.-Esquema de retrocruzamiento en papa.



### 3.4.-GLICOALCALOIDES EN LA PLANTA DE PAPA.

Los glicoalcaloides son compuestos potencialmente tóxicos, producto del metabolismo secundario de plantas que pertenecen principalmente a la familia de las *Solanáceas*.

Existen diferentes tipos de glicoalcaloides producidos por los miembros de esta familia que incluye al tabaco, jitomate y chile; sin embargo los únicos que provocan la muerte en el humano son los que sintetiza la planta de papa (tabla 1) (Morris y Lee, 1984; Rayburn, Friedman y Bantle, 1994).

En 1820 Desfosses reportó el descubrimiento de una base orgánica a la que llamó solanée, aislada de las bayas de belladona (*Solanum nigrum* L.), cien miligramos de este compuesto administrados oralmente a un perro causaban considerable vómito y pérdida de la conciencia; un compuesto similar fue encontrado en *Solanum tuberosum* L. y fue llamado solanina; 130 años después de su descubrimiento en 1954, Kuhn y Low demostraron que la solanina era en realidad un compuesto de dos glicoalcaloides:  $\alpha$ - solanina y  $\alpha$ - chaconina y que ambas estructuras comparten una misma aglicona: la solanidina. Desde 1820, al menos 90 estructuras diferentes de alcaloides esteroideos han sido aisladas y caracterizadas en 350 especies de la familia Solanáceas y Liliáceas (van Gelder, 1990, Jadhav y Salunkhe, 1975).

Tabla 1. Glicoalcaloides presentes en especies tuberíferas de *Solanum* spp. (Woolfe, 1987).

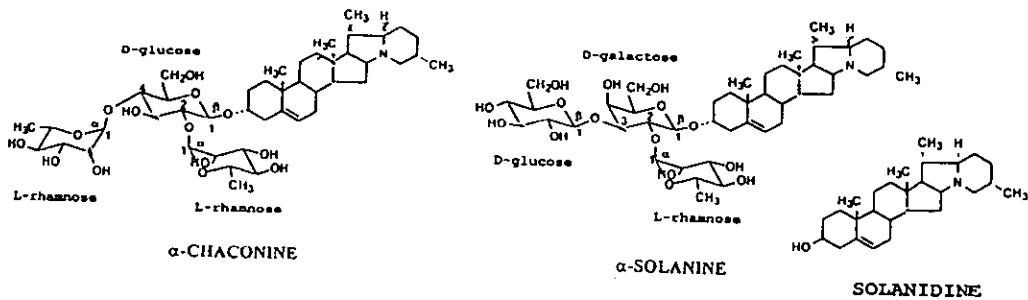
AGLICONA.	GLICOALCALOIDE.	CARBOHIDRATO
Solanidina	$\alpha$ -Solanina.	Solatriosa.
	$\alpha$ -Chaconina.	Chacotriosa.
Demisidina.	Demisina.	Licotetrosa.
	Comersonina.	Comertetrosa.
Acetil-leptidina.	Leptina I.	Chacotriosa.
	Leptina II.	Solatriosa.

Tomatidenol.	$\alpha$ -Solamarina. $\beta$ -Solamarina.	Solatriosa. Chacotriosa.
Tomatidina.	$\alpha$ -Tomatina.	Licotetrosa.

### 3.4.1.-Estructura química.

La solanidina pertenece a una de las cinco familias estructurales de esteroides que comparten como esqueleto común, al colestano (C<sub>27</sub>), la solanidina es la estructura química que tienen en común la  $\alpha$ - solanina y  $\alpha$ - chaconina, a diferencia de estos últimos glicoalcaloides, la solanidina no posee incorporado algún tipo de glucósido. En la mayoría de los cultivos comerciales aproximadamente el 95 % de los alcaloides presentes se encuentran glucosilados; el grupo hidróxilo del átomo de carbono 3 de la solanidina es substituido enzimáticamente por un trisacárido; *bis*- $\alpha$ -L-ramnopiranosil- $\beta$ -D- glucopiranososa (chacotriosa) en  $\alpha$ - chaconina y  $\alpha$ -L-ramnopiranosil- $\beta$ -D-glucopiranosil- $\beta$ -galactopiranososa (solatriosa) en  $\alpha$ - solanina.

Fig. 5.-Estructura química de los alcaloides.



### 3.4.2.-Ubicación y distribución.

Los glicoalcaloides pueden ser encontrados en todos los tejidos de la planta de papa, hojas, tubérculos, tallos, brotes, raíces, flores y frutos, sin embargo las concentraciones son particularmente elevadas en las regiones meristemáticas tales como, los brotes y hojas jóvenes, los niveles son generalmente altos en los tubérculos inmaduros, pero disminuyen a medida que el tubérculo crece.

Los glicoalcaloides se sintetizan en el parénquima de la peridermis y corteza de los tubérculos, se distribuyen de mayor a menor concentración, de afuera (corteza) hacia adentro (región central); poco o casi nada se encuentra en la región central y muy pocas cantidades están presentes en la región intermedia, se ha observado que un almacenamiento prolongado puede provocar que los glicoalcaloides se transporten de la periferia a la región central (Woolfe, 1987, Jadhav y Salunkhe, 1975).

#### **3.4.3.-Biosíntesis ( solanidina, $\alpha$ -solanina y $\alpha$ -chaconina ).**

El punto de inicio para la formación de los glicoalcaloides es el colesterol que se forma por la ruta del ácido meválonico, la ruta es responsable de la formación de los esteroides en general; el colesterol no se acumula en las plantas, si no que es convertido completamente a otras sustancias. El acetato y coenzima A forman los intermediarios del ácido meválonico: escualeno, lanosterol, cicloartenol y finalmente colesterol, el camino exacto para la formación de la solanidina después del colesterol no ha sido completamente demostrada, pero se cree que los posibles intermediarios que se forman son: dormantinol, dormantinona, verazina, etiolina, teimina y finalmente solanidina. El átomo de nitrógeno incorporado proviene principalmente de la arginina. El paso final en la síntesis de los glicoalcaloides es la unión de la serie de carbohidratos al átomo de carbono tres de la solanidina, la unión es llevada a cabo por glucosiltransferasas (Jadhav y Salunkhe, 1975).

#### **3.4.4.-Análisis.**

El descubrimiento de diversos tipos de alcaloides y su relación con algunas alteraciones en la salud humana, ha propiciado que se desarrollen métodos cada vez más eficientes para determinar la cantidad y tipo de alcaloide en una muestra. El análisis implica tres pasos; el primero consiste en la extracción de los alcaloides de interés, el segundo en la eliminación de los compuestos que dificulten el análisis, y por último se determina la cantidad presente.

Otros métodos de análisis pueden requerir de la derivatización o hidrólisis previa (Deahl y Sinden, 1987; Bushway, 1983; Bushway, Bureau y Stickney, 1985; Jellema, Elema y Malingre, 1982; Coxon y Geraint Jones, 1981; Fitzpatrick, Mackenzic y Gregory, 1978).

La extracción requiere de la homogenización del tejido con solventes polares como: etanol, metanol, cloroformo, ácido acético, etc.; para purificar los glicoalcaloides se hacen precipitar con hidróxido de amonio o se separan por partición con soluciones acuosas de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  o butanol.

Se han utilizado varias técnicas de análisis para determinar el contenido y tipo de alcaloides presentes en una muestra de tubérculo o follaje, algunas son mas sencillas, rápidas y baratas que otras; la cromatografía en papel, en capa fina, líquida y de gases, la espectrofotometría de masas, los inmunoensayos y la colorimetría son ejemplo de las técnicas que se han utilizado hasta ahora (Cadle, Stelzig, Harper y Young, 1978; Carman, Kuan, Ware, Francis, Jr y Kirschenheuter, 1986; Plhak y Sporns, 1992, 1994; Abell y Sporns, 1996).

#### **3.4.5.-Protección contra hongos e insectos.**

Se han realizado estudios *in vitro* que demuestran que los glicoalcaloides inhiben el crecimiento y producción de esporas de diversos hongos patógenos y no patógenos, el efecto fungitóxico depende de la concentración y pH del medio; la actividad de  $\alpha$ -chaconina es mayor que la de  $\alpha$ -solanina, pero en combinación presentan un importante sinergismo que aumenta considerablemente la toxicidad.

Es importante en la resistencia o susceptibilidad de determinado cultivo, el sinergismo que pueda establecerse *in vivo*. De igual forma no se puede olvidar la importancia de los mecanismos que el patógeno pueda desarrollar para evadir los efectos fungitóxicos, entre los cuáles se pueden encontrar: la secreción de enzimas hidrolíticas, cambios de pH ó modificación de rutas metabólicas (Fewell y Roddick, 1993; Hanners, Bean y Patterson, 1982).



A pesar de que se ha demostrado el efecto adverso en el crecimiento y producción de esporas de diversos hongos, la mayoría de las investigaciones concluyen que los glicoalcaloides contribuyen muy poco en la protección contra este tipo de patógenos; Mc Kee (1959) observó que la solanina presentaba efectos tóxicos *in vitro* en *Fusarium* spp. y *Phytophthora infestans*, sin embargo concluye que los Ga's contribuyen muy poco en la resistencia que la planta ofrece en campo.

Diversos estudios se han concentrado en *P. infestans*, y no se ha encontrado relación entre la resistencia y el contenido de glicoalcaloides en tubérculos y hojas. Corsiniy y Pavek (1980) observaron que no existe una correlación entre el contenido de glicoalcaloides y la resistencia a *Fusarium*. Morrow y Caruso (1983) reportaron que los niveles de Ga's no están relacionados con la resistencia a *Rhizoctonia solani*. Olsson (1987, 1989) llevó a cabo un estudio en el que observó que ciertos genotipos con alto contenido de Ga's presentaban poca resistencia contra *Fusarium* y *Phoma fungi*, en comparación con otros que contenían pocos Ga's.

Al parecer también el contenido de Ga's tiene poca relación con la resistencia de la planta a diversos tipos de bacterias. Mac Kee (1959) menciona que en pruebas realizadas *in vitro*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Erwinia* spp. y *Pseudomonas* spp. no fueron afectadas por concentraciones elevadas de solanina. Paquin y Lachance (1964) reportaron que  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chacina presentan propiedades bacteriostáticas en cultivos de *Corynebacterium sepedonicum*; pero un estudio posterior ( Paquin, 1966 ) demostró que no existe relación entre el contenido de Ga's y la resistencia de la planta (Friedman y McDonald, 1997).

Mientras que los glicoalcaloides no parecen importantes en la resistencia contra hongos y bacterias, la función protectora es más notoria contra insectos, posiblemente porque el sabor característico que los glicoalcaloides en concentraciones altas le da al follaje es muy amargo. Las primeras evidencias de los efectos pesticidas surgieron en Europa al observar que especies silvestres particularmente *Solanum chacoense* y *Solanum demissum* exhibían una gran resistencia al escarabajo de la papa *Leptinotarsa decemlineata* Say; y que a diferencia de especies susceptibles contenían altos niveles de glicoalcaloides en sus hojas y tubérculos (Tingey, 1984; Sinden. et al, 1991).

Estudios *in vitro* más detallados han demostrado que un incremento significativo en el nivel de los glicoalcaloides disminuye el desarrollo larval, e incrementa de manera importante el índice de mortalidad de diversos insectos (Deahl, 1991).

Sanford observó que después de siete generaciones de selección continua a la resistencia contra la cigarrita de la papa *Empoasca fabae* (Harris), el grado de infestación que se presentaba era 57 % más bajo en las poblaciones identificadas como resistentes que en las poblaciones no seleccionadas; la diferencia entre ambas poblaciones fue el contenido de solanidina foliar, que incrementó de 40 mg/ 100 g de tejido fresco a 60 mg/100 g tf en las poblaciones resistentes (Sanford. et al, 1990; Tingey, 1978).

Posiblemente la resistencia o susceptibilidad de una progenie de papa está determinada por la efectividad del sinergismo, los mecanismos de destoxificación en el patógeno y la participación de otro tipo de fitoalexinas que incrementen el efecto de los glicolcaloides observado *in vitro* (Allen y Kuc, 1968; Kuc, 1984).

#### **3.4.6.-Efecto tóxico en humanos.**

Se ha observado por muchos años que la ingestión de papas brotadas, dañadas, verdes o enfermas; así como otras partes de la planta principalmente hojas y frutos, pueden causar enfermedades e inclusive la muerte a los organismos que las consumen.

Harris y Cockburn (1918) reportaron un caso que afectó a 61 personas con síntomas de envenenamiento, incluyendo la muerte de un niño de cinco años de edad, tras haber consumido papas que iniciaban la brotación.

Las personas que no las comieron no fueron afectadas. Hansen (1925) reportó la muerte de dos mujeres después de haber comido papas verdes. Willimott (1933) describió un caso en el que 60 personas enfermaron al haber consumido hojas de papa hervidas, un niño murió. Terbruggen (1936) y Ruhl (1951) documentaron el caso de un niño moribundo, debido a que ingirió los frutos de una planta de papa. Ripakh y Kim (1958) reportaron y describieron los síntomas clínicos de 382 casos de envenenamiento en Corea del Norte, debido a papas que contenían altos niveles de solanina.

Wilson (1959) estudió un caso de envenenamiento en una familia que acostumbraba a comer papas durante la cena, debido a que por accidente consumieron papas enfermas.

Un reporte en el Canadá Diseases Weekly Report (Anon., 1984) menciona que alrededor de 60 a 109 alumnos y maestros, mostraron señales de envenenamiento después de comer papas cocidas, las papas tenían un alto contenido de solanina. Gonmori y Yoshioka (1993) describieron los síntomas que presentó una mujer que enfermó después de ingerir jugo de papa como supuesto remedio casero. El caso más sobresaliente, es el reportado por McMillan y Thompson (1979), en el cual 78 alumnos de 11 y 13 años, enfermaron al haber ingerido durante el descanso, papas que se guardaron durante el período vacacional y que en mal estado se utilizaron para el desayuno de los alumnos; 17 de los niños requirieron hospitalización inmediata, la condición era crítica en tres de ellos. Los síntomas que presentaron fueron náusea, vómito, diarrea, y dolor abdominal, la mayoría tuvo fiebre y presentó debilitamiento, en los casos críticos, el pulso fue débil, la respiración se dificultó, la fiebre fue alta y la presión sanguínea fue baja, algunos de ellos perdieron el conocimiento; los síntomas disminuyeron después de dos semanas; también se notó que los niveles de colinesterasa en el plasma eran extremadamente bajos. Algunas muestras de papa que provocaron este incidente, fueron analizadas y se encontró que contenían alrededor de 330 mg/kg. de glicoalcaloides.

Al parecer los humanos son mucho más susceptibles a los efectos tóxicos que otros organismos; los síntomas que se manifiestan después de unas horas son: vómito, diarrea, dolor abdominal, dolor de cabeza, escalofrío, agotamiento, náuseas, fiebre, alucinaciones, y estado de coma.

Los primeros estudios acerca de los efectos tóxicos fueron realizados con prisioneros a los cuáles se les administró dosis de 2 mg/kg. de peso, la dosis administrada provocó los síntomas clásicos de envenenamiento.

De los casos que se mencionan anteriormente es posible calcular la dosis de glicoalcaloides que provoca el envenenamiento, para ello se considera la concentración de Ga's, la cantidad de tubérculos que se consumieron y el peso de la persona afectada; los datos que se tienen permiten calcular también la dosis letal, **una cantidad de 2-5 mg/kg. de peso es tóxica para el consumo humano, mientras que 3-6 mg/kg. de peso resultan ser letales.**

Estas cantidades podrían ser menores si la síntesis es inducida por diversos factores; las concentraciones son comparables a otros compuestos tóxicos bien conocidos, como el arsénico (8 mg/kg.). Es importante considerar el grado de sensibilidad de cada individuo en el proceso tóxico; Harris y Cockburn 1918, Hansen 1925, Willimott 1933, MacMillan y Thompson 1979, mencionan que en una misma población las personas pueden presentar diferentes grados de sensibilidad al envenenamiento provocado por solanina, debido posiblemente a la colinesterasa presente en el suero (Morris y Lee; 1984). Hellenas (1992) en un estudio realizado con voluntarios, determinó que  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina tienen una vida media en el suero sanguíneo de 10.7 y 19.1 hrs respectivamente, encontrando el máximo nivel de 4-8 hrs después del tratamiento. La concentración en plasma fue de 3-11 ng/ml. para  $\alpha$ -solanina y de 6-21 ng/ml para  $\alpha$ -chaconina; la solanidina detectada se encontró en niveles bajos (4 ng/ml) (Friedman y McDonald, 1997).

#### **3.4.7.-Efecto de los glicoalcaloides sobre la membrana celular.**

La mayor parte de las alteraciones que se observan por la ingestión de papas con niveles excesivos de glicoalcaloides (vómito, dolor de cabeza, hemorragias internas y externas, etc.), son provocadas por la unión de los alcaloides a las membranas celulares.

Se han realizado estudios con liposomas, eritrocitos y embriones de rana que demuestran la interacción entre esteroides de la membrana y diferentes tipos de alcaloides de la papa; tal interacción provoca cambios en la estructura y alteraciones en su fisiología, se han observado cambios importantes en el potencial eléctrico de membrana y en el potencial osmótico de la misma; el resultado final de estos cambios es la lisis celular (Roddick, Rijnenberg y Weissenberg, 1990, 1992; Roddick y Rijnenberg, 1986; Blankemeyer, et al, 1992).

La presencia, naturaleza y disposición de los carbohidratos en las formas glicosiladas, juegan un papel determinante en el desarrollo de la toxicidad, se ha demostrado que cuando se elimina o se cambia de posición progresivamente un carbohidrato del trisacárido de la  $\alpha$ -chaconina, la toxicidad disminuye considerablemente. Así mismo el tipo de carbohidrato presente en la cadena, modifica significativamente el grado de toxicidad.

Tal vez la baja toxicidad de la solanidina es debida a la ausencia de carbohidratos en la estructura (Rayburn, Bantle y Friedman, 1994; Keukens, et al,1995).

Se ha observado que el ácido fólico disminuye significativamente la toxicidad de los Ga's y evita las malformaciones en los embriones de rana *Xenopus*; este punto se ha estudiado muy poco a pesar de la importancia que puede tener en el desarrollo de medicamentos (Friedman, Burns, Butchko y Blankemeyer, 1997).

#### **3.4.8.-Actividad inhibitoria de la colinesterasa.**

Los síntomas de envenenamiento asociados con el sistema nervioso central como: delirio, estado de coma, pulso y respiración débil o acelerada, están relacionados con la capacidad de los Ga's de inhibir la actividad de la colinesterasa, un factor importante en la transmisión de señales y estímulos (Friedman y McDonald, 1997).

#### **3.4.9.-Factores que afectan el contenido de glicoalcaloides.**

La concentración total de alcaloides en una especie o variedad está determinada genéticamente, a pesar de ello ciertos factores ambientales y ciertas prácticas agrícolas pueden provocar variaciones en el contenido total de Ga's; se ha demostrado que situaciones adversas a las condiciones óptimas de crecimiento en un cultivo, pueden ocasionar que el contenido promedio de alcaloides se incremente significativamente; las sequías, temperaturas altas o demasiado frías y exceso de humedad entre otras, pueden provocar una sobre expresión de los genes que participan en la síntesis de estos compuestos.

La aplicación de cierto tipo de fertilizantes puede provocar un incremento o disminución de los Ga's, el tipo de suelo y la aplicación de fungicidas e insecticidas influyen en menor proporción sobre el contenido, el efecto de este tipo de prácticas agrícolas sobre el contenido total aún no es del todo claro y requiere de más investigación (Friedman y McDonald, 1997; Mondy y Munshi, 1993).

Aún después de que los tubérculos han sido cosechados, diversos factores pueden inducir la síntesis de estos compuestos por ejemplo, la exposición de los tubérculos a la luz natural o artificial, además de provocar el enverdecimiento de los tubérculos, también incrementa el contenido de alcaloides (Dao y Friedman, 1994; Dale, Griffiths, Bain y Todd, 1993; Maine, Bain y Joyce, 1987). Las condiciones y tiempos prolongados de almacenamiento también son determinantes en el contenido de Ga's, las temperaturas de almacenamiento bajas (menores a 3°C) y altas (mayores a 10°C) provocan un incremento en el contenido total de alcaloides ( Fitzpatrick, Herb, Osman y McDermott, 1977). Inclusive las lesiones (golpes, cortes, etc.) provocadas antes y después de la comercialización incrementan significativamente el contenido de Ga's. Debido a que las condiciones ambientales no son las mismas en cada ciclo de cultivo es necesario evaluar constantemente el contenido de Ga's (Friedman y McDonald, 1997).

#### **IV.-OBJETIVOS.**

##### ***Objetivo general:***

- Determinar el contenido de solanidina,  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina presente en los tubérculos y follaje de los parentales, clones avanzados e híbridos de los ciclos de retrocruzamiento 2, 3, y 4 seleccionados por su calidad y resistencia a *Phytophthora infestans*.

##### ***Objetivos particulares:***

- Comparar el contenido total de Ga's presente en los tubérculos, con el contenido en follaje.
- Comparar los niveles de solanidina,  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina, presentes en cada material de estudio.
- Describir la segregación de los Ga's en los híbridos (retrocruzas) a través de los ciclos de retrocruzamiento.
- Determinar si existe relación entre la resistencia a *Phytophthora infestans* y el contenido total de Ga's presente en tubérculo y follaje.

## V.-MATERIALES Y METODOS.

### 5.1.-Material de estudio.

El material analizado comprende los tubérculos y follaje de dos especies silvestres: *Solanum demissum* y *Solanum iopetalum* empleadas como donadoras de resistencia a *Phytophthora infestans*, dos variedades de *Solanum tuberosum* L: Alpha y López, variedades de calidad comercial susceptibles al hongo; dos clones avanzados IRERI y 78-199-33, híbridos con resistencia a *Phytophthora infestans* y cinco diferentes híbridos de los ciclos de retrocruzamiento 2,3 y 4 (Tabla 2, Fig.6). El material de estudio fue proporcionado por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) de Toluca, Edo. de México.

Tabla 2.-Genealogía de los Híbridos *Solanum tuberosum* x *Solanum* silvestres.

Grupo RC2.	L= López, iop= iopetalum y dms= demissum.
1.-E-91-64-1 iop = (RC1-177 x 77-69-43) = (321 x López)-3 x López)-1 x 77-69-43	
2.-E-91-80-6 dms = (RC1-87 x Granola) = (246 x López)-6 x López)-1 x Granola	
3.-E-91-20-6 dms = (RC1-65 x 77-1A-11) = (258 x López)-7 x López)-1 x 77-1A-11	
4.-E-91-32-5 dms = (RC-17 x 77-1A-11) = (209 x López)-5 x López)-1 x 77-1A-11	
5.-E-91-78-1 iop = (RC1-224 x Granola) = (266 X López)-3 x López)-3 x Granola	
Grupo RC3.	
6.-E-92-17-50 dms = (E-91-30-6 x López) = (RC1-66 x 77-1A-11) x López) = (258 x L)-7 x L)-1) x 77-1A-11) x López.	
7.-E-92-17-28 dms = (E-91-30-6 x López) = (RC1-66 x 77-1A-11) x López) = (258 x L)-7 x L)-1) x 77-1A-11) x López.	
8.-E-92-10-10 dms = (E-91-71-5 x López) = (RC1-15 x 77-1A-11) x López) = (209 x L)-5 x L)-1) x 77-1A-11) x López.	
9.-E-92-18-5 iop. = (E-91-5-5 x López) = (BRA-745 x 77-69-43) x López) = RC1.	
10.-E-92-7-14 iop. = (E-91-37-5 x López) = (RC1-184 x López) x López) = (322 x L)-1 x L)-1) x López) x López.	



**Grupo RC4.**

11.-E-94-8-10 iop = (E-92-14-5 x ASN-69-1) = (E-91-36-5 x L) x ASN) = (RC1-224 X L) x L) x ASN) = ((266 x L)-3 x L)-3 x L) x ASN-69-1.

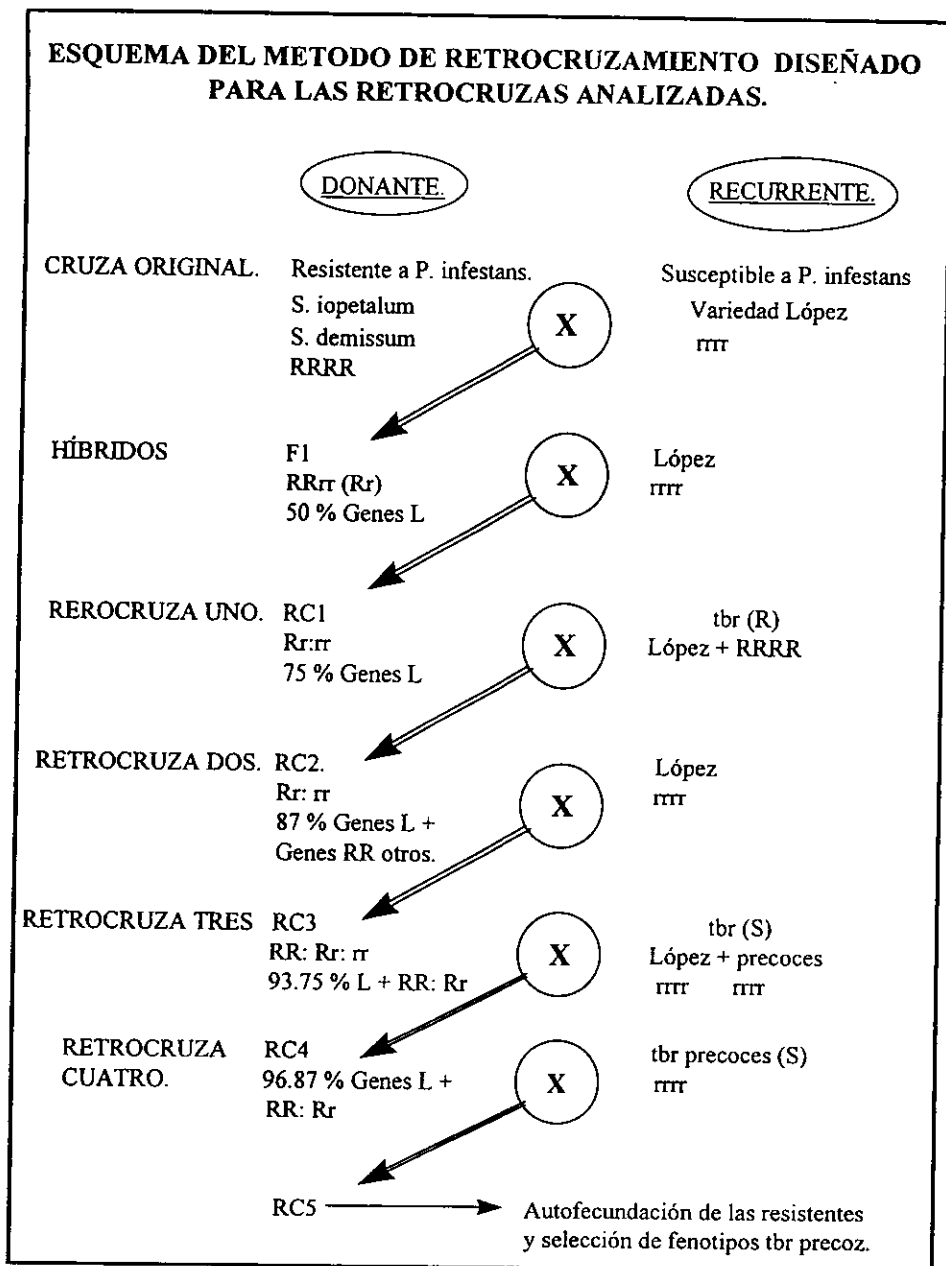
12.-E-94-10-34 iop = (Michoacán x E-92-14-49) = Mich x (E-91-36-5 x L) = Mich x (RC1-224 x L) x L = Mich x (266 x L)-3 x L)x L) x L.

13.-E-94-16-41 iop = (Cruza 114 x E-92-16-20) = C-114 x (E-91-35-1 x L) = C-114 x (RC1-175 x 720055) x L = C-114 x (321 x L)-3 x L) x 720055) x L.

14.-E-94-26-16 dms = (E-92-13-5 x 77-18-335) = E-91-15-5 x L) x 77-18-335) = (RC1-122 x 212-91) x L) x 77-18-335 = (73 x L)-4 x L) x 212-91) x 77-18-335).

15.-E-94-31-26 dms = (E-92-10-9 x 77-18-335) = (E-91-71-5 x L) x 77-18-335) = RC1-111 x Granola) x L) x 77-18-335 = (299 x L)-2 x L) x Granola) x L) x 77-18-335.

Fig. 6.-Esquema de retrocruzamiento diseñado para las retrocruzas.



## 5.2.-Trabajo de campo.

Los tubérculos de cada material se sembraron en el campo experimental Valle de Toluca-INIFAP, Toluca, Edo. de México durante el ciclo primavera-verano el 2 de junio de 1997, el campo se caracteriza por mantener de forma activa y latente el hongo del Tizón tardío *Phytophthora infestans*. El área experimental fue dividida en 10 tablas o secciones, cada sección contó a su vez con 14 lotes; los lotes se dividieron en 22 surcos cada uno, se colocaron los tubérculos de cada material en un lote y surco seleccionados al azar separados a una distancia de 30 cm, en cada surco se sembró una planta de la variedad Alpha como control (Tabla 3, Fig.7). El muestreo se realizó el día 10 de septiembre de 1997 (quince días después del inicio de la floración, etapa que marca la maduración de los tubérculos), al realizar el muestreo se tomaron todos los tubérculos de la planta y el follaje de la parte superior; se tomaron muestras de la parte inicial, intermedia y final del surco (tabla 3). No se aplicó ningún tipo de fungicida y fertilizante a las retrocruzas y parentales silvestres. Se aplicó fungicida en los clones avanzados y el parental Alpha. Los tubérculos y follaje se almacenaron en un cuarto oscuro a 6°C hasta que se realizó la extracción, identificación y cuantificación de los alcaloides individuales.

**Tabla 3.-Ubicación en campo de los materiales.**

#	CLAVE DEL MATERIAL.	CICLO DE RETROCRUZA.	TABLA.	LOTE.	SURCO.
1	E-91-80-6 dms.	2	4	13	3
2	E-91-20-6 dms	2	4	13	19
3	E-91-32-5 dms.	2	4	13	9
4	E-91-64-1 iop.	2	4	13	4
5	E-91-78-1 iop.	2	4	13	14
6	E-92-17-50 dms.	3	4	14	1
7	E-92-17-28 dms.	3	4	13	10
8	E-92-10-10 dms.	3	4	14	21
9	E-92-18-5 iop.	3	4	14	4

10	E-92-7-14 iop.	3	4	14	19
11	E-94-26-16 dms.	4	7	14	3
12	E-94-31-36 dms.	4	8	1	4
13	E-94-8-10 iop.	4	7	10	1
14	E-94-10-34 iop.	4	7	10	13
15	E-94-16-41 iop.	4	7	12	20
16	S. demissum.	Parental silvestre.	Invernadero.		
17	S. iopetalum.	Parental silvestre.	Invernadero.		
18	Alpha	Parental comercial	Lote individual.		
19	López	Parental comercial	3	18	7
20	IRERI	Clon avanzado.	2		16
21	78-199-33	Clon avanzado.	1		7

Fig. 7.-Diseño del campo experimental Valle de Toluca (INIFAP) Toluca Edo. de Méx.

Tabla 1	Tabla 2	Tabla 3	Tabla 4	Tabla 5	Tabla 6	Tabla 7	Tabla 8	Tabla 9	Tbl 10
Lote 1	20 surcos	20 surcos	20 surcos	20 surcos	20 surcos	20 surcos	20 surcos	20 surcos	20 surcos
Lote 2									
Lote 3									
Lote 4									
Lote 5									
Lote 6									
Lote 7									
Lote 8									
Lote 9									
Lote 10									
Lote 11									
Lote 12									
Lote 13									
Lote 14									

## **Cuantificación de solanidina, $\alpha$ - chaconina y $\alpha$ -solanina.**

### **5.3.-Curvas Patrón.**

Para poder determinar la cantidad de Ga's individuales en cada muestra, se elaboró una curva patrón para solanidina,  $\alpha$ -chaconina y  $\alpha$ -solanina. En una placa cromatográfica (Sílica gel 60/F254, Merck, activada a 100°C durante 30 min.) se colocaron con capilar 40, 60, 80 y 100  $\mu$ l de cada alcaloide (solanidina,  $\alpha$ -chaconina y  $\alpha$ -solanina de Sigma Chemicals), la cromatografía se desarrollo en un sistema de solventes cloroformo-metanol-hidróxido de amonio (3 %) 35:35:2.1 v/v, durante 6 hrs. Posteriormente la cromatoplaça fue revelada con 10 ml de sulfato cérico amoniaco (anexo 1) que se aplicaron en la placa con un aspersor a una distancia aproximada de 60 cm, la placa se calentó a 100°C durante 10 min. y después se dejo reposar a temperatura ambiente durante 10 min.

Utilizando el densitómetro de un analizador digital de imágenes Alpha Imager™ 2,000 de Alpha Inotech se obtuvo el valor de densidad integrado (VDI) para cada concentración de alcaloide, el VDI es la suma integrada de la densidad asignada a cada punto (pixel) que conforma el área de interés, la densidad se basa en una escala de grises que parte del blanco a negro. A los valores obtenidos se les aplicó un análisis de regresión lineal.

### **5.4.-Extracción de solanidina, $\alpha$ -solanina y $\alpha$ -chaconina en tubérculo y hoja.**

#### **Tubérculo:**

Tres tubérculos de cada material se cortaron en pequeños cubos de 3 mm aproximadamente, se mezclaron muy bien y se tomó una muestra de 10 g, la muestra se homogenizó (homogenizador Ultra turrax de Tekmar) con 50 ml de metanol absoluto (Me OH abs.), el homogenizado se filtró, se tomó el líquido y se centrifugó a 9,072 x g durante 10 min.; posteriormente el sobrenadante fue concentrado a un volumen de 15 ml en un rotavapor (Buchi CH-9230).

Los alcaloides fueron precipitados con hidróxido de amonio 30 % ajustando el pH del sobrenadante a 11.5, el sobrenadante fue incubado en baño María a 70°C durante 30 min., se dejó enfriar a temperatura ambiente y se mantuvo a 4°C durante 24 hrs. Una vez concluido el tiempo de reposo, el sobrenadante se centrifugó a 21,773 x g durante 1 hr, la pastilla se resuspendió en 1 ml de MeOH abt., las extracciones se mantuvieron en refrigeración a 5°C para su posterior análisis. Modificado de Bushway (1985).

Hoja:

Para la extracción de los glicoalcaloides en follaje se pesó una muestra de 5 g de hojillas y se procesaron de igual forma que los tubérculos, pero se realizó una doble filtración después de evaporar la muestra, con ello se elimina cierta cantidad de pigmentos que intervienen en la TLC (Cromatografía en capa fina).

#### **5.5.-Identificación de los alcaloides individuales en cada muestra.**

Se realizó una cromatografía en capa fina colocando en una placa activada (Silica gel 60/F254, Merck, precalentada a 100°C durante 1 h) 100 µl de extracto de cada muestra; la cromatografía se desarrolló en un sistema de solventes: cloroformo-MeOH abt-Hidróxido de amonio (3 %) 35: 35: 2.1 v/v, durante 6 hr. Posteriormente la placa fue revelada con 10 ml de sulfato cérico amoniaco, cada glicoalcaloide se identificó comparando su Rf con los de estándares comerciales (solanidina, α-solanina y α-chaconina de Sigma Chemicals) modificado de Cadle (1978).

#### **5.6.-Cuantificación de los alcaloides en las muestras.**

Una vez que la cromatoplaque es revelada, la imagen de cada una es capturada en el analizador de imágenes (Alpha Imager™2,000) y los valores de IDV obtenidos para cada alcaloide son interpolados en las rectas de regresión para obtener los µg de alcaloide/µl de muestra, los valores fueron transformados a mg/100 g de tejido fresco.

## VI.-ANÁLISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS.

### Curvas patrón.

En algunos trabajos, se ha utilizado la cromatografía en capa fina y el análisis por densitometría para determinar el tipo y la cantidad de glicoalcaloides presentes en una muestra (Cadle, Stelzig, Harper y Joung, 1978), la combinación de ambas técnicas facilita la identificación y cuantificación rutinaria de muchas muestras, además de que permite reducir el costo y tiempo de análisis por muestra.

La cromatografía de las muestras estándar aplicadas a diferentes concentraciones, se observa en la figura 8; en este cromatograma se puede notar el cambio gradual en tamaño y densidad de cada alcaloide como resultado del incremento en concentración ( $\mu\text{g}$ ). Este mismo comportamiento se expresa en los valores de densidad integrados (VDI) que se obtuvieron para cada concentración en dos curvas patrón (tabla 4). Por medio de un análisis de regresión lineal se calcularon los coeficientes de correlación ( $r$ ): solanidina  $r=0.9955$ ,  $\alpha$ -solanina  $r=0.9931$  y  $\alpha$ -chaconina  $r=0.9796$ , esta correlación altamente significativa puede observarse en las gráficas 1,2 y 3, cada una de ellas muestra la desviación estándar entre dos valores de VDI (tabla 4); las curvas son reproducibles bajo las mismas condiciones.

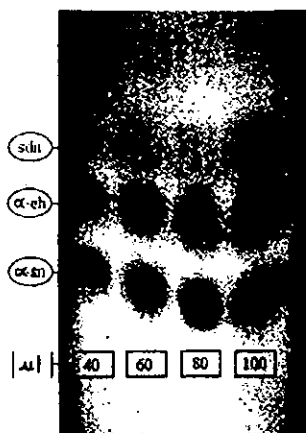
**Fig. 8.-Cromatografía en placa fina de los estándares de solanidina,  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina a diferentes concentraciones.**

Sd= solanidina.

Sn=  $\alpha$ -solanina.

Ch=  $\alpha$ -chaconina.

1  $\mu\text{l}/\mu\text{g}$ .



**Tabla 4.- Valores de densidad integrados (VDI) para solanidina,  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina en dos curvas patrón.**

$\mu\text{g}$ de estándar (solanidina).	VDI. Curva I.	VDI. Curva II.	Desviación estándar.
40 $\mu\text{g}$	61529	67844	3157
60 $\mu\text{g}$	90932	93249	1158
80 $\mu\text{g}$	120334	118653	840
100 $\mu\text{g}$	149737	144058	2839

$\mu\text{g}$ de estándar ( $\alpha$ -solanina).	VDI. Curva I.	VDI. Curva II.	Desviación estándar.
40 $\mu\text{g}$	35704	36587	442
60 $\mu\text{g}$	60084	60038	23
80 $\mu\text{g}$	84463	83488	488
100 $\mu\text{g}$	108843	106939	952

$\mu\text{g}$ de estándar ( $\alpha$ -chaconina)	VDI. Curva I.	VDI. Curva II.	Desviación estándar.
40 $\mu\text{g}$	43653	47922	2134
60 $\mu\text{g}$	74593	74196	199
80 $\mu\text{g}$	105532	100469	2531
100 $\mu\text{g}$	136472	126743	4864



Gráfico 1.-Curva patrón obtenida para la solanidina ( $r= 0.9955$ ).

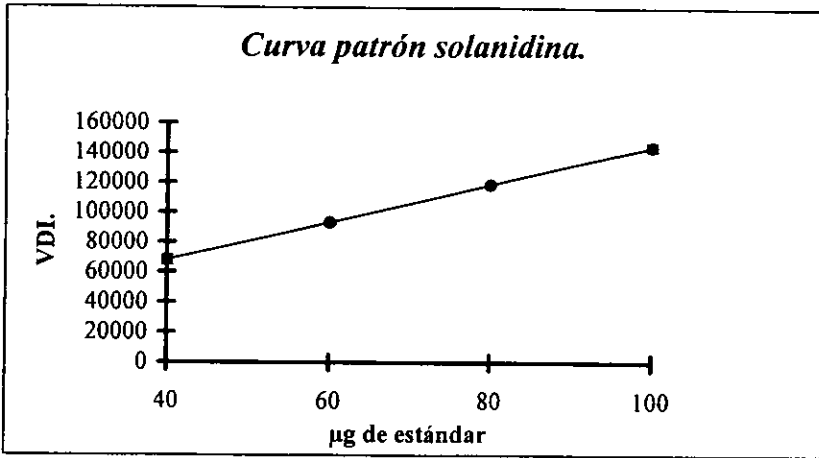


Gráfico 2.-Curva patrón obtenida para la  $\alpha$ -chaconina ( $r= 0.9796$ ).

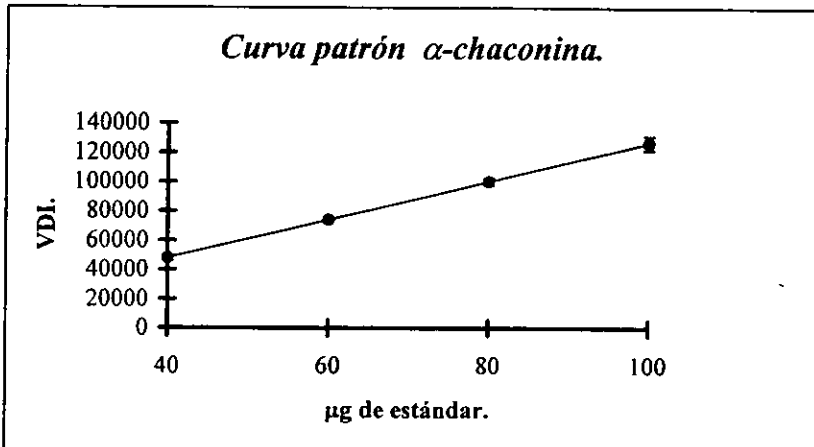
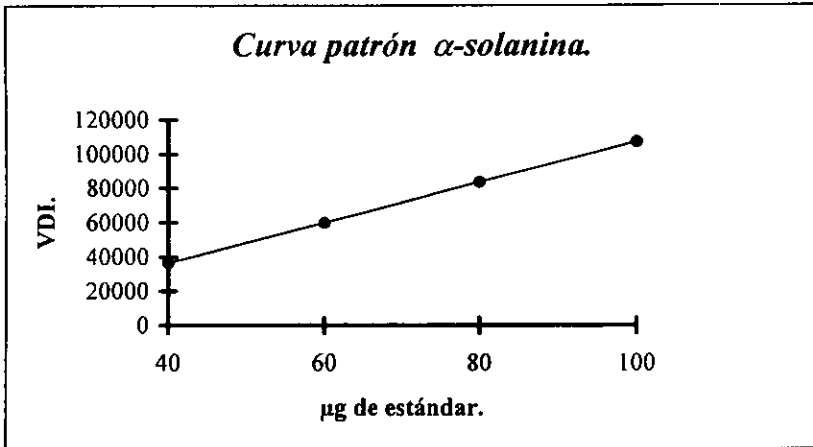


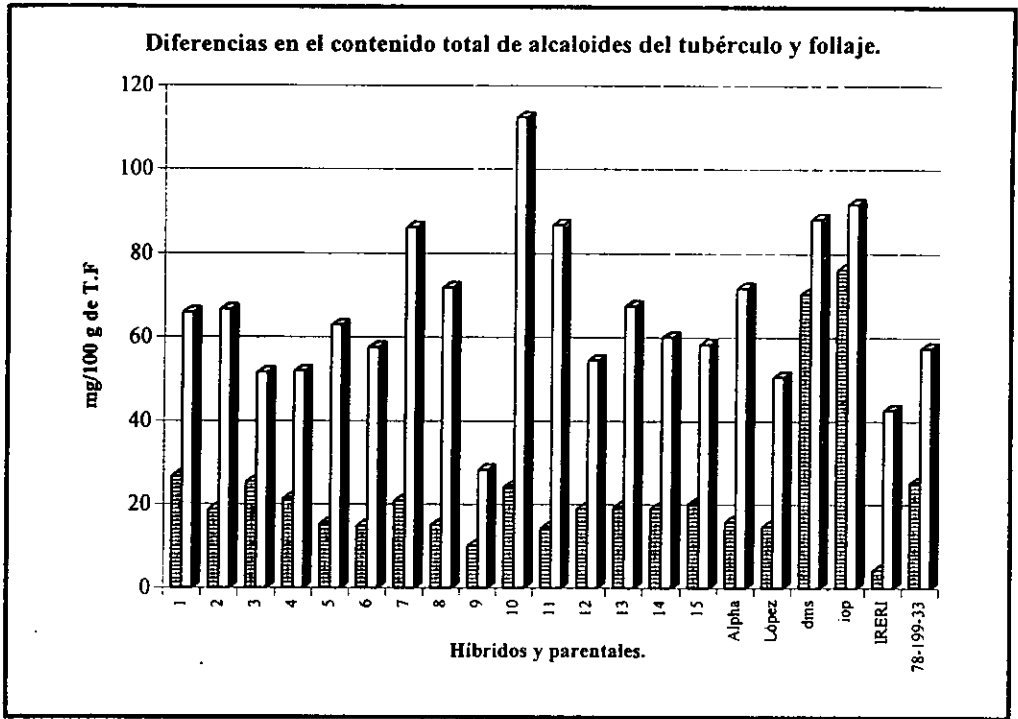
Gráfico 3.-Curva patrón obtenida para  $\alpha$ -solanina ( $r= 0.9931$ ).



#### Comparación del contenido total de glicoalcaloides entre follaje y tubérculo.

La mayoría de las investigaciones en relación al contenido de Ga's, coinciden en que la parte foliar sintetiza mucho más alcaloides que la parte comestible, (Phillips, Hughes, Phillips, JC, Walters, Anderson y Tahourdin, 1996). El análisis de variación demuestra que existe diferencias significativas en el contenido de Ga's totales presente en los tubérculos y follaje, (anexo 2). El contenido de Ga's en los tubérculos, al menos se duplica o se triplica en su parte foliar, Gráfico 4. Pueden existir varias razones a este incremento, una de ellas está relacionada con el metabolismo; se ha observado que las partes con mas actividad metabólica como: los brotes, las flores y las hojas, sintetizan con mayor intensidad este tipo de compuestos (Jadhav y Salunkhe, 1975; Woolfe, 1987). Es precisamente la parte foliar, la que frecuentemente se expone a factores que inducen la síntesis de alcaloides tales como: intensidad luminosa, temperaturas extremas y humedad entre otras; estos factores propician un incremento significativo en el contenido de Ga's, además de su acumulación en el tejido. El análisis de regresión lineal demuestra que no existe relación entre el contenido de glicoalcaloides detectado en los tubérculos de las muestras y el contenido en follaje de las mismas ( $r= -0.4768$ ) (Gráfico 5).

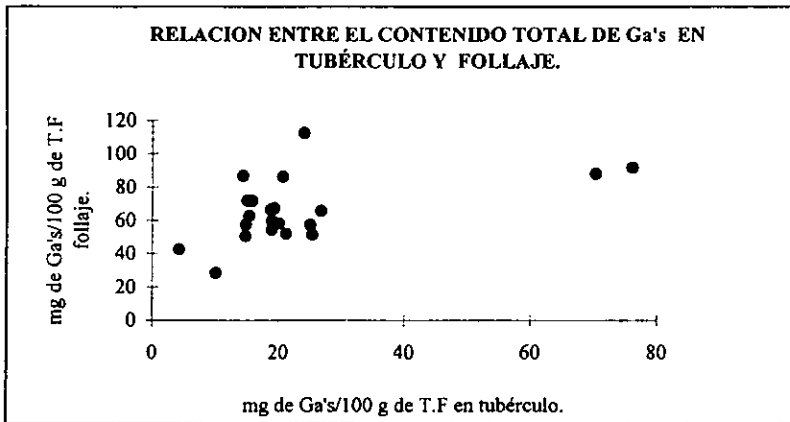
**Gráfico 4.-Diferencias en el contenido total de alcaloides, tubérculo y follaje.**



**Clave de identificación.**

1.-E-91-64-1 Rc-2 IOP	6.-E-92-17-50 Rc-3 IOP	11.-E-94-8-10 Rc-4 IOP
2.-E-91-80-6 Rc-2 dms	7.-E-92-17-28 Rc-3 dms	12.-E-94-10-34 Rc-4 iop
3.-E-91-20 6 Rc-2 iop	8.-E-92-10-10 Rc-3 dms	13.-E-94-16-41 Rc-4 iop
4.-E-91-32-5 Rc-2 dms	9.-E-92-18-5 Rc-3 iop	14.-E-94-26-16 Rc-4 dms
5.-E-91-78-1 Rc-2 iop	10.-E-92-7-14 Rc-3 iop	15.-E-94-31-26 Rc-4 iop

**Gráfico 5.-** Relación entre el contenido total de glicoalcaloides presente en tubérculo y follaje ( $r = -0.4768$ ).



#### **Contenido de solanidina, $\alpha$ -solanina y $\alpha$ -chaconina en tubérculo.**

Los programas de mejoramiento genético de papa producen constantemente híbridos que deben ser evaluados en su contenido total de glicoalcaloides, el principal objetivo es asegurar que los tubérculos puedan consumirse sin provocar daños a la salud. Lo ideal es que se determine el contenido de alcaloides en las especies parentales, antes de que éstas sean utilizadas como donadoras o receptoras de cierta característica. Si no es así, es conveniente asegurarse de que los nuevos híbridos mantengan niveles aceptables de Ga's.

#### **Alcaloides detectados.**

Los alcaloides que se detectaron invariablemente en todas las muestras de tubérculo, fueron la  $\alpha$ -solanina y la  $\alpha$ -chaconina. La solanidina se detectó únicamente en Alpha, en el clon avanzado 78-199-33 y en las retrocruzas 4, 5, 8, 9 y 10 (tabla 4 y 5). El no haber detectado solanidina en los demás parentales y retrocruzas, no significa que no la sinteticen, ya que la solanina y la chaconina se forman por glicosilación de la solanidina.

### Concentración de los alcaloides individuales.

El contenido de solanidina en los tubérculos fue muy bajo, en comparación con las formas glicosiladas y sólo representó el 4.95 % del total de alcaloides. La  $\alpha$ -solanina y la  $\alpha$ -chaconina representaron el 57.02 % y el 38.03 % respectivamente, ambos alcaloides constituyen el 95.05 % del total presente en el tubérculo, frecuentemente estos porcentajes se reportan para las especies que sintetizan este tipo de alcaloides entre ellas *Solanum tuberosum* L (van Gelder, 1990). El contenido de  $\alpha$ -solanina en los tubérculos, fue mayor en casi todas las retrocruzas, parentales y clones avanzados. La retrocruza E-92-18-5 y Alpha tuvieron el mayor contenido de  $\alpha$ -chaconina; la proporción de los tres alcaloides puede no ser siempre la misma, en algunos casos el alcaloide que más predomina es  $\alpha$ -chaconina. Casi siempre las formas glicosiladas de la solanidina constituyen más del 95 % del total de los alcaloides, tal vez porque la presencia del trisacárido juega un papel importante en el desarrollo de la toxicidad (Zimowski, 1991).

### Contenido de alcaloides totales en líneas parentales silvestres.

Generalmente las especies de *Solanum* con resistencia a determinados patógenos o insectos, son especies silvestres. Los tubérculos que producen son muy pequeños, de poca calidad culinaria y tienen niveles de Ga's considerados peligrosos para la salud humana.

El contenido total de alcaloides de *Solanum demissum* y *Solanum iopetalum* (70.4 y 76.2 mg/100 g de T.F respectivamente) (Fig. 9) supera considerablemente el límite permitido en un cultivo comercial (20 mg/100 g de T.F) y el consumo de sus tubérculos podría significar un riesgo para la salud humana (Gráfico 6).

A pesar de que el contenido total de alcaloides en *Solanum demissum* y *Solanum iopetalum* es demasiado alto, existen especies silvestres dentro del mismo género, que superan por mucho el contenido de *Solanum demissum* y *Solanum iopetalum*; por ejemplo, *Solanum vernei* especie silvestre resistente al nemátodo de la papa, contiene en promedio 157 mg de solanidina,  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina/100 g de T.F. Se ha observado que las especies o variedades con niveles altos de Ga's tienen más probabilidad de heredar a sus descendientes dicha característica (van Gelder, 1990).

*Solanum demissum* y *Solanum iopetalum* se consideran originarias de México; se conocen en diversas partes del mundo por su notable resistencia a *Phytophthora Infestans* y han sido utilizadas en programas de mejoramiento genético para introducir resistencia a este hongo (Holliday, 1980; PICTIPAPA; A.C.).

A pesar de que diversas especies silvestres conservan varias características aprovechables en el mejoramiento de la papa, su utilización también puede provocar que una variedad mejorada no sea apropiada para el consumo humano.

La principal causa de que nuevas variedades no sean liberadas comercialmente, es por su excesivo contenido de glicoalcaloides (solanidina,  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina) responsables de diversas alteraciones en la salud humana, incluyendo la muerte.

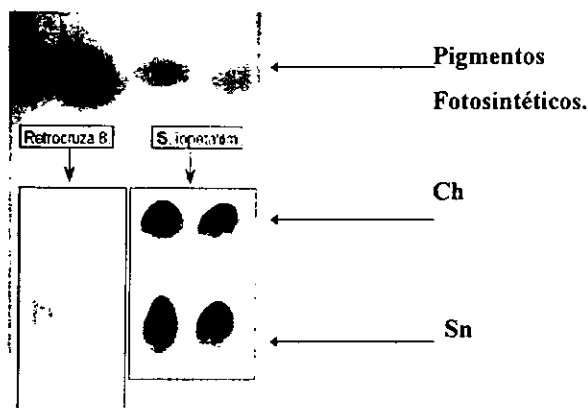
El análisis de Ga's no se considera hasta el momento, en los esquemas de mejoramiento de papa realizados en México. El contenido y tipo de glicoalcaloides no puede ser determinado directamente en campo, se requiere de un análisis de laboratorio que sólo realizan algunas unidades de investigación. Es posible que sin un análisis previo del contenido de Ga's en los parentales, incremente el riesgo de generar híbridos con un contenido alto de estos compuestos o introducir nuevos alcaloides con propiedades tóxicas desconocidas o mal definidas.

Fig. 9.- Cromatografía de los Ga's presentes en *S. iopetalum*.

Sd= solanidina.

Sn=  $\alpha$ -solanina.

Ch=  $\alpha$ -chaconina.



Retrocruza 8: 100  $\mu$ l aplicados a la placa.

*S. iopetalum*: 50  $\mu$ l aplicados a la placa.

Contenido de alcaloides totales en líneas parentales comerciales.

Las variedades Alpha y López promediaron niveles por debajo del rango aceptable (15.9 y 14.8 mg de alcaloides totales/100 g de T.F, respectivamente) (gráfico 4). Los niveles de alcaloides totales detectados en Alpha y López se encuentran dentro del rango que se reporta para diversas variedades comerciales y no representan un riesgo a la salud humana (Sinden, 1984; Woolfe, 1987). Cabe mencionar que los tubérculos y follaje de Alpha que se analizaron no fueron afectados por el hongo ya que el muestreo se realizó en un lote bajo control químico.

Alpha es una variedad que explota la industria de la fritura, mientras que López es una variedad que se consume principalmente en fresco. Debido a la calidad y a su importancia en la industria alimentaria, se han desarrollado programas de mejoramiento y selección continúa, que permiten obtener el máximo rendimiento y calidad en sus tubérculos.

La susceptibilidad al tizón tardío es un factor que limita el rendimiento y la calidad, pero al igual que en otros países, México aprovecha la gran cantidad de recursos genéticos con que cuenta este cultivo.

Contenido de glicoalcaloides en las retrocruzas.

Se conoce poco acerca de la herencia de los Ga's, se ha mencionado que la herencia, en cuanto al contenido es poligénica y fuertemente heredable a sus descendientes (Sanford y Sinden, 1972). Debido a esta característica, cualquier híbrido de una craza entre una especie silvestre y una comercial, tiene la posibilidad de heredar la expresión de contenidos altos de Ga's.

Lo más importante en cuanto al contenido total de glicoalcaloides en las retrocruzas analizadas, es que la mayoría de ellas contiene niveles aceptables de Ga's (en promedio 19 mg totales de alcaloides/100 g de T.F) y por lo tanto sus tubérculos pueden consumirse sin ningún riesgo. De acuerdo a los resultados obtenidos, es posible inferir que el esquema de retrocruzamiento desarrollado para adicionar resistencia al tizón tardío en las variedades Alpha y López, permite obtener tubérculos de calidad aceptable, con resistencia al hongo, y con bajos contenidos de Ga's. La comparación estadística a través de un análisis de varianza (anexo 2), demuestra que existe diferencias significativas en el contenido total de Ga's de las retrocruzas. La variación podría deberse a que cada material es distinto en su genealogía (tabla 2).



Cada material del grupo RC2 consiste en los siguientes cruzamientos: resistente X susceptible = (F1) X susceptible = (RC1) X susceptible + resistente (híbrido) = RC2.

El grupo RC2 (tabla 2), tuvo un promedio de 21.58 mg de alcaloides totales/100 g de T.F (tubérculo), más cantidad de alcaloides que los grupos 3 y 4. En este grupo existe más número de retrocruzas que exceden los 20 mg/100 g de T.F, pero es posible seleccionar híbridos con niveles bajos de Ga's (Gráfico 6).

Los tubérculos que exceden el límite permitido, no deberían de ser consumidos, pues se corre el riesgo de provocar los síntomas que caracterizan a un envenenamiento.

Tal vez el retrocruzamiento con el híbrido *Solanum* susceptible X especie resistente, aumenta la probabilidad de heredar genes que expresan contenidos altos de Ga's. En un esquema de retrocruzamiento convencional, no se utiliza la especie silvestre, en los ciclos de retrocruzamiento; en este caso si se utilizó por segunda vez para generar el híbrido que se utilizó en el retrocruzamiento uno.

Cada material del grupo RC2 ha sido retrocruzado al parental recurrente o comercial tres veces, contando al híbrido López X especie resistente. Es muy probable que el número de retrocruzamientos con el parental susceptible o recurrente, afecte el contenido de Ga's, entre más retrocruzamientos con Alpha o López, existe más probabilidad de que se fijen sus genes, incluyendo a los que intervienen en la síntesis de glicoalcaloides (contenidos bajos). Es factible pensar en completar el esquema de retrocruzamiento en las retrocruzas del grupo RC2, para disminuir el contenido en los materiales que exceden los 20 mg/100 g de T.F.

Cada material del grupo RC3 consiste en los siguientes cruzamientos: resistente X susceptible = (F1) X susceptible = (RC1) X susceptible + resistente (híbrido) = (RC2) X susceptible = RC3. El grupo RC3 es muy característico, si observamos el gráfico 6, podemos identificar claramente tres materiales que contienen niveles de Ga's muy parecidos a los de Alpha y López.

El promedio de Ga's totales del grupo RC3, es de 17.02 mg/100 g de T.F, el más bajo de los tres grupos. El número de retrocruzamientos con los parentales recurrentes aumenta a cuatro, uno más que en el grupo RC2, es decir que aumenta el aporte genético de la variedad comercial; por lo tanto se incrementa la posibilidad de heredar más genes que expresan bajos contenidos de Ga's.

El grupo RC3 incluye el material (hablando de retrocruzas) que tiene más bajo contenido de Ga's: E-92-18-5 iop con 10.1 mg de alcaloides totales/100 g de T.F; si observamos la genealogía de este material (tabla 2) tiene una diferencia con los demás materiales del grupo; la diferencia es que la RC1 no fue retrocruzada con un híbrido de *Solanum* susceptible X *Solanum* resistente, esto significa que dicho material, sólo ha sido cruzado con un parental silvestre una vez. Es curioso observar que este material no sintetizo  $\alpha$ -solanina, el alcaloide más abundante en las demás muestras.

Podemos mencionar que del grupo RC3, se pueden hacer selecciones de materiales que expresan buena resistencia a *Phytophthora* y bajos contenidos de Ga's en tubérculo, pero altos contenidos en follaje (Gráfico 6 y 7). En el trabajo realizado por Sanford y colaboradores (1990), se concluye que la resistencia al escarabajo colorado de la papa, está relacionada con un incremento en el contenido foliar de glicoalcaloides y sugieren que los Ga's foliares podrían ser un factor importante en la resistencia a dicho insecto.

Cada material del grupo RC4 consiste en los siguientes cruzamientos: resistente X susceptible = (F1) X susceptible = (RC1) X susceptible + resistente (híbrido) = (RC2) X susceptible = (RC3) X susceptible + susceptible precoz = RC4.

El grupo RC4 tuvo un promedio de 18.4 mg de alcaloides totales/100 g de T.F, como se puede observar en la genealogía de este grupo, el número de retrocruzamientos con el parental comercial o recurrente aumenta, se habla de que los híbridos poseen un 96.86 % de genes que pertenecen a Alpha o López, las retrocruzas a pesar de ser diferentes en su genealogía, se mantienen con niveles de Ga's muy parecidos entre sí, tal vez porque a medida que se va completando el esquema de retrocruzamiento, se va obteniendo homocigosis para ciertas características, entre ellas la expresión de bajos contenidos de Ga's (gráfico 6).

Como podemos observar, el retrocruzamiento es un factor importante que contribuye a disminuir el contenido de glicoalcaloides en los tubérculos. Complementando el esquema con selección continúa, se pueden obtener variedades que resisten al hongo, que presentan niveles de Ga's aceptables y que tienen características comerciales (buena textura, sabor, rendimiento, forma y tamaño).

La expresión de contenidos altos de glicoalcaloides se hereda con mucha facilidad, las cruzas *Solanum tuberosum* x *Solanum* silvestres producen en su mayoría, híbridos F1 con niveles excesivos de Ga's. Se estima que el porcentaje de herencia de los Ga's, en un programa de mejoramiento con especies tetraploides *Solanum tuberosum*, es relativamente alto 86-89 %. Es decir, que si se utiliza en el cruzamiento con *S. tuberosum*, especies con bajo contenido de glicoalcaloides, la mayoría de los híbridos sintetizará bajos niveles de Ga's; si se hicieran cruzas con especies que sintetizan altos contenidos de Ga's, la mayoría de los híbridos producirá niveles excesivos de Ga's. El riesgo de generar híbridos con alto contenido de glicoalcaloides, puede disminuirse si se lleva a cabo un nuevo cruzamiento con una especie de bajo contenido de Ga's (Sinden, Sanford y Webb, 1984).

En un estudio realizado por Sanford (1996, 1998), se determinó el contenido de leptinas,  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina, en los híbridos F1 de la cruce *Solanum chacoense* x *Solanum tuberosum* y en los híbridos del retrocruzamiento F2 x *Solanum tuberosum*.

Las leptinas I y II, son formas acetiladas de la  $\alpha$ -solanina y la  $\alpha$ -chaconina, pero se encuentran únicamente en el follaje.

El contenido de leptinas disminuyó notablemente desde el primer cruzamiento de *Solanum chacoense* x *Solanum tuberosum*; *Solanum chacoense* tuvo en su follaje 1482 mg totales de leptinas/100 g de T.F, mientras que la F1 promedio 113 mg totales/100 g de T.F.

Los híbridos F2 x *Solanum tuberosum* (retrocruzamiento uno), tuvieron un promedio de 44 mg totales de leptinas/100 g de T.F, mucho menos que *S. chacoense* y la F2 (línea obtenida por autofecundación de la F1).

El contenido de  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina en los tubérculos, también disminuyó considerablemente con un ciclo de retrocruzamiento, de 52 mg totales/100 g de T.F en la F2 a 27 mg totales/ 100 g de T.F en las retrocruzas.

En el retrocruzamiento, los fitomejoradores determinan a través de evaluaciones en campo y pruebas de laboratorio, la resistencia que adquiere cada híbrido a determinado insecto o patógeno; la selección debe de incluir las características de calidad de la variedad o especie que es mejorada. En el proceso de selección es difícil que se determine el contenido de glicoalcaloides y se seleccione solamente los tubérculos que tienen bajos niveles. La selección de características de calidad propicia un incremento en la contribución genética de las variedades comerciales, lo que ocasiona también la selección indirecta de genotipos que expresan bajo contenido de glicoalcaloides.

Contenido de Ga's totales en los clones avanzados:

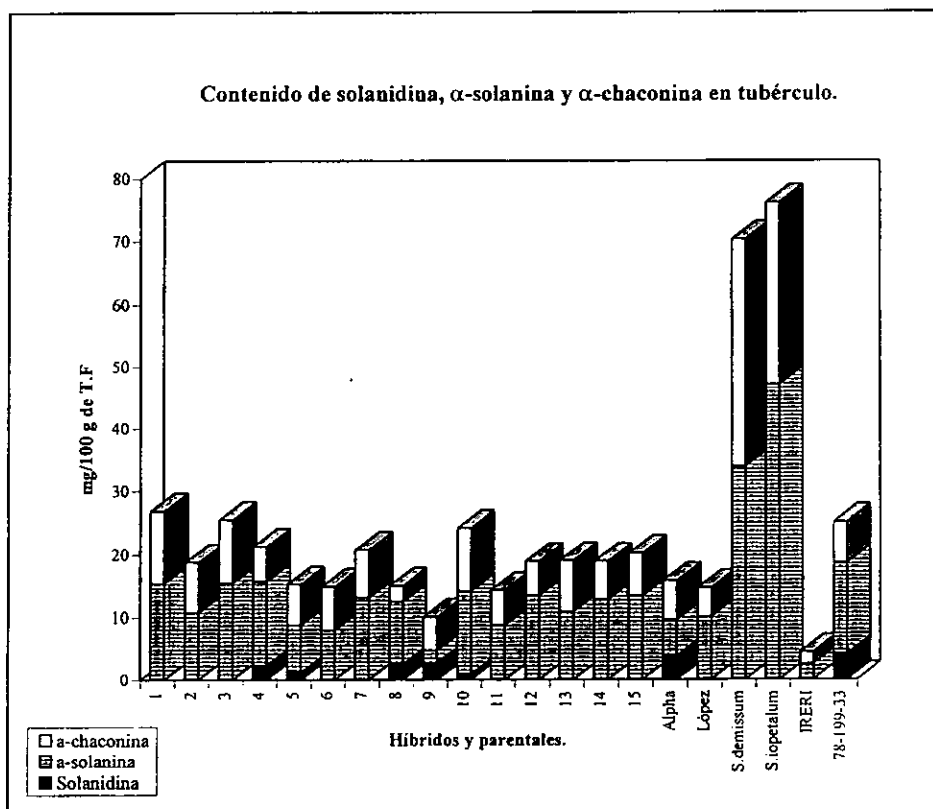
El clon avanzado IRERI, fue el material que tuvo más bajo contenido de glicoalcaloides totales en tubérculo, 4.3 mg/100 g de T.F (gráfico 6). Anteriormente se mencionó que se aplicó un fungicida como control químico a IRERI, esto no provocó que el contenido de Ga's en los tubérculos representara un peligro para la salud; se piensa que los insecticidas y fungicidas pueden tener cierto efecto en la síntesis de glicoalcaloides (Friedman y McDonald, 1997).

IRERI se caracteriza por la resistencia adquirida a *Phytophthora infestans* y por su calidad en sus tubérculos. El contenido de Ga's en los tubérculos no es problema para que esta nueva variedad sea liberada comercialmente.

El clon 78-199-33 tuvo un promedio de 25.2 mg/100 g de T.F, en este caso no podría decirse que los tubérculos son seguros para el consumo humano. Se recomienda que se practiquen evaluaciones continuas para verificar su contenido y determinar con certeza si se pueden consumir sus tubérculos. Si los contenidos altos se verifican, tal vez es conveniente practicar más retrocruzamientos con las variedades comerciales.

Los materiales avanzados se proporcionan a los agricultores para recolectar información acerca de su calidad y resistencia al hongo, pero aún no son liberados comercialmente. Es conveniente que dichas evaluaciones incluyan un análisis de glicoalcaloides.

**Gráfico 6.-Contenido de solanidina,  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina en tubérculo**



**Clave de identificación.**

1.-E-91-64-1 Rc-2 IOP	6.-E-92-17-50 Rc-3 IOP	11.-E-94-8-10 Rc-4 IOP
2.-E-91-80-6 Rc-2 dms	7.-E-92-17-28 Rc-3 dms	12.-E-94-10-34 Rc-4 iop
3.-E-91-20 6 Rc-2 iop	8.-E-92-10-10 Rc-3 dms	13.-E-94-16-41 Rc-4 iop
4.-E-91-32-5 Rc-2 dms	9.-E-92-18-5 Rc-3 iop	14.-E-94-26-16 Rc-4 dms
5.-E-91-78-1 Rc-2 iop	10.-E-92-7-14 Rc-3 iop	15.-E-94-31-26 Rc-4 iop

**Tabla 5.-**Contenido de solanidina,  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina en tubérculo, de los ciclos de retrocruzamiento 2, 3 y 4, parentales y clones avanzados. (ND= No detectado, T.f= Tejido fresco).

No. de muestra	Material.	Ciclo de retrocruza.	mg/100 g de tf. de solanidina.	mg/100 g de tf. de chaconina.	mg/100g de tf $\alpha$ -solanina.	Total. mg/100 g.	Promedio. mg/100 g de tf	Coefficiente de variación. (%)
1	E-91-64-1 iop.	2	ND.	8.98	9.63	18.61		
2	E-91-64-1 iop.	2	ND.	12.57	17.45	30.02		
3	E-91-64-1 iop.	2	ND.	12.75	19.24	31.99		
							26.9	26.8
1	E-91-80-6 dms	2	ND.	9.16	12.72	21.88		
2	E-91-80-6 dms	2	ND.	6.96	8.87	15.83		
3	E-91-80-6 dms	2	ND.	8.13	10.62	18.75		
							18.82	16.04
1	E-91-20-6 iop.	2	ND.	9.8	14.7	24.5		
2	E-91-20-6 iop.	2	ND.	9.6	15.1	24.7		
3	E-91-20-6 iop.	2	ND.	10.7	16.6	27.3		
							25.5	21
1	E-91-32-5 dms	2	2.1	6.6	12.7	21.4		
2	E-91-32-5 dms	2	2.9	7.6	11.3	21.8		
3	E-91-32-5 dms	2	2.0	2.5	16.2	20.7		
							21.3	2.6
1	E-91-78-1 iop.	2	1.46	8.8	8.6	18.9		
2	E-91-78-1 iop.	2	1.10	5.8	5.6	12.5		
3	E-91-78-1 iop.	2	1.11	4.9	8.7	14.7		
							15.4	
1	E-92-17-50 dms.	3	ND.	5.6	5.7	11.3		
2	E-92-17-50 dms.	3	ND.	6.3	8.9	15.2		
3	E-92-17-50 dms.	3	ND.	8.8	9.4	18.2		

							14.9	23
1	E-92-17-28 dms.	3	ND.	9.1	9.9	19		
2	E-92-17-28 dms.	3	ND.	7.8	13.8	21.6		
3	E-92-17-28 dms.	3	ND.	6.2	15.7	21.9		
							20.8	7.7
1	E-92-10-10 dms.	3	1.3	2.21	5.71	9.29		
2	E-92-10-10 dms.	3	3.44	2.58	11.61	17.63		
3	E-92-10-10 dms.	3	2.86	2.97	12.56	18.39		
							15.1	33
1	E-92-18-5 iop.	3	2.03	5.75	5.98	13.76		
2	E-92-18-5 iop.	3	3.06	6.75	ND.	9.80		
3	E-92-18-5 iop.	3	3.21	3.48	ND.	6.69		
							10.1	35
1	E-92-7-14 iop.	3	ND.	10.49	13	23.51		
2	E-92-7-14 iop.	3	ND.	13.07	16.39	29.5		
3	E-92-7-14 iop.	3	2.69	6.52	10.48	19.7		
							24.2	20
1	E-94-8-10 iop.	4	ND.	8.5	11	19.5		
2	E-94-8-10 iop.	4	ND.	3.0	6.1	9.1		
3	E-94-8-10 iop.	4	ND.	5.2	9.3	14.5		
							14.4	36
1	E-94-10-34 iop	4	ND.	5.9	13.8	19.7		
2	E-94-10-34 iop	4	ND.	6.	14.3	20.3		
3	E-94-10-34 iop	4	ND.	4.7	12.3	17		
							19.0	9
1	E-94-16-41 iop	4	ND.	8.5	10.3	18.8		
2	E-94-16-41 iop	4	ND.	9.1	11.3	20.4		

3	E-94-16-41 iop	4	ND.	7.8	11.2	19		
							19.4	4
1	E-94-26-16 dms.	4	ND.	8.6	16.8	25.4		
2	E-94-26-16 dms.	4	ND.	6.6	13.3	19.9		
3	E-94-26-16 dms.	4	ND.	3.5	8.2	11.7		
							19.0	36
1	E-94-31-26 dms.	4	ND.	7.76	12.26	20.02		
2	E-94-31-26 dms.	4	ND.	6.53	14.65	21.18		
3	E-94-31-26 dms.	4	ND.	6.22	13.28	19.5		
							20.2	4
1	RPH-62 S. demissum.	Parental silvestre.	ND.	34.1	38.2	72.3		
2	RPH-62 S. demissum.	Parental silvestre.	ND.	38.73	29.69	68.42		
							70.4	3
1	S. iopetalum.	Parental silvestre.	ND.	25.75	43.13	68.88		
2	S. iopetalum.	Parental silvestre.	ND.	32.28	51.27	83.55		
							76.2	14
1	Variedad Alpha.	Parental comercial.	3.6	6.22	5.81	15.63		
2	Variedad Alpha.	Parental comercial.	4.22	6.38	6.16	16.76		
3	Variedad Alpha.	Parental comercial.	3.83	6.12	5.36	15.31		
							15.9	5
1	Variedad Lopez.	Parental comercial.	ND.	5.63	10.24	15.9		
2	Variedad Lopez.	Parental comercial.	ND.	5.78	13.98	19.8		
3	Variedad Lopez.	Parental comercial.	ND.	2.47	6.17	8.6		
							14.8	38



1	IRERI	Clon avanzado	ND.	2	2.6	4.6		
2	IRERI	Clon avanzado	ND.	1.5	2.5	4		
3	IRERI	Clon avanzado	ND.	2.3	1.9	4.2		
							4.3	7
1	78-199-33	Clon avanzado	7.3	7.3	16.6	31.2		
2	78-199-33	Clon avanzado	3.2	5.4	12.8	21.4		
3	78-199-33	Clon avanzado	2.1	6.8	14	22.9		
							25.2	21

### Contenido de solanidina, $\alpha$ -solanina y $\alpha$ -chaconina en follaje.

Todos los tejidos y órganos de la planta de papa sintetizan glicoalcaloides, pero las regiones con mayor actividad metabólica como: las hojas, acumulan en gran cantidad este tipo de compuestos (Fig. 10) (Jadhav y Salunkhe, 1975).

En el follaje de las muestras, se detectó constantemente la  $\alpha$ -solanina y la  $\alpha$ -chaconina. La solanidina fue detectada en Alpha, López, *S. demissum*, *Solanum iopetalum*, IRERI, el clon 78-199-33 y en algunas retrocruzas (tabla 6). La concentración de las formas glicosiladas (solanina+chaconina) constituye el 87.21 % del total de alcaloides presente en el follaje (43.69 %  $\alpha$ -solanina y 43.52 %  $\alpha$ -chaconina). La solanidina constituye el 12.79 % del total; podemos observar un incremento en el porcentaje de solanidina con respecto al porcentaje en tubérculo (4.95 %), tal vez este incremento este relacionado con la tasa de síntesis (más alta para follaje) y con la transformación a sus formas glicosiladas.

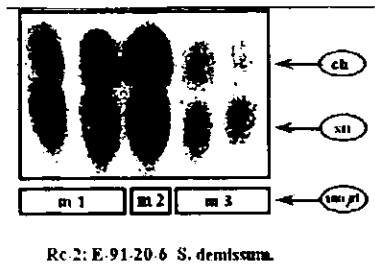
El análisis de variación de los contenidos totales de Ga's obtenidos de la parte foliar en todas las muestras, indica que existe diferencias significativas (anexo 3).

*S. demissum* y *S. iopetalum* registraron el nivel más alto de Ga's foliares (88.19 mg/100 de T.F y 91.8 mg/100 de T.F respectivamente), Alpha y López también acumularon Ga's relativamente altos (71.78 mg/100 g de T.F y 50.57 mg/100 g de T.F respectivamente) (gráfico 7).

El grupo RC3, que se distinguió por su contenido de Ga's ligeramente más bajo que los grupos RC2 y RC4, tuvo el promedio más alto de Ga's totales en el follaje (71.34 mg/100 g de T.F). El grupo RC2 que tuvo mayor contenido de Ga's en tubérculo, tiene el promedio más bajo de glicoalcaloides en follaje (59.8 mg totales/100 g de T.F) (gráfico 7).

Es importante destacar que la retrocruza E-92-18-5, que registró el más bajo contenido de Ga's en los tubérculos (10.1 mg de Ga's totales/100 g de T.F), también presentó el nivel más bajo de Ga's en follaje (28.49 mg de Ga's totales/100 de T.F). Lo mismo ocurrió con el clon avanzado IRERI (Gráfico 4); también existen retrocruzas que tienen bajos contenidos de Ga's en los tubérculos, pero altos contenidos en follaje (E-92-10-10).

**Fig. 10.-Cromatografía de los alcaloides detectados en una muestra de follaje.**

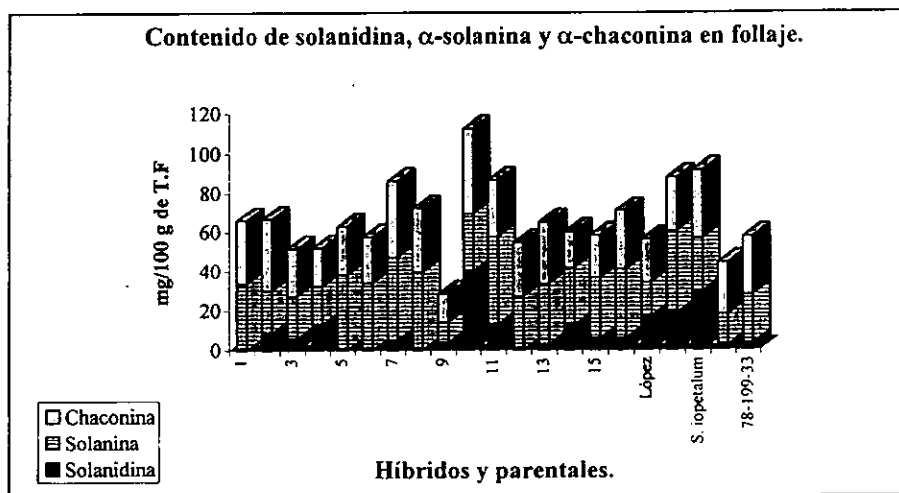


A pesar de que no existe ninguna relación entre las concentraciones de Ga's del tubérculo y follaje, es posible seleccionar materiales que se caractericen por su bajo contenido en tubérculo y alto en follaje, esta selección podría ser conveniente si los glicoalcaloides contribuyen en la protección de otro tipo de hongos o insectos que atacan la parte foliar (Sinden, Sanford y Webb, 1984.)

El retrocruzamiento no tuvo un efecto muy marcado en la concentración de glicoalcaloides del follaje, como se observó en los tubérculos. Los tubérculos de las retrocruzas tuvieron 65.13 % menos glicoalcaloides totales que *S. demissum* y *S. iopetalum*, mientras que el follaje sólo tuvo 15.7 % menos Ga's totales que sus parentales silvestres.

El contenido de glicoalcaloides en Alpha y López fue relativamente alto (71.78 mg totales/100 g de T.F y 50.57 mg totales/100 g de T.F respectivamente), el contenido de Ga's en los parentales silvestres, también es muy alto. Por lo tanto es de esperarse que también las retrocruzas sinteticen en su parte foliar cantidades excesivas de glicoalcaloides.

**Gráfico 7.-Contenido de solanidina,  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina en follaje.**



Clave de identificación.

GRUPO RC2	GRUPO RC3	GRUPO RC4	
1.-E-91-64-1 IOP	6.-E-92-17-50 DMS	11.-E-94-8-10 IOP	17.-ALPHA
2.-E-91-80-6 dms	7.-E-92-17-28 dms	12.-E-94-10-34 iop	18.-López
3.-E-91-20-6 iop	8.-E-92-10-10 dms	13.-E-94-16-41 iop	19.-S. demissum
4.-E-91-32-5 dms	9.-E-92-18-5 iop	14.-E-94-26-16 dms	20.-S. iopetalum
5.-E-91-78-1 iop	10.-E-92-7-14 iop	15.-E-94-31-26 dms	21.-IRERI

**Tabla 6.-** Contenido de solanidina,  $\alpha$ -solanina y  $\alpha$ -chaconina en follaje, de los ciclos de retrocruzamiento 2, 3 y 4, parentales y clones avanzados. (ND= No detectado, tf= Tejido fresco).

No. de muestra	Material.	Ciclo de retrocruza.	mg/100 g de tf. de solanidina.	mg/100 g de tf. de chaconina.	mg/100g de tf $\alpha$ -solanina.	Total. mg/100 g.	Promedio. mg/100 g de tf
1	E-91-64-1 iop.	2	ND.	34.86	31.33	66.19	
2	E-91-64-1 iop.	2	ND.	28.77	33.41	62.18	
3	E-91-64-1 iop.	2	ND.	32.78	36.53	69.31	
							65.9
1	E-91-80-6 dms	2	4.48	50.15	10.99	65.62	
2	E-91-80-6 dms	2	16.13	23.10	24.21	63.44	
3	E-91-80-6 dms	2	5.92	36.01	28.9	70.83	
							66.63
1	E-91-20-6 iop.	2	2.94	19.41	18.46	40.81	
2	E-91-20-6 iop.	2	4.81	18.83	20.73	44.37	
3	E-91-20-6 iop.	2	10.27	34.05	25.19	69.51	
							51.6
1	E-91-32-5 dms	2	17.96	24.89	25.9	68.75	
2	E-91-32-5 dms	2	8.62	10.71	11.35	30.68	
3	E-91-32-5 dms	2	12.56	23.08	20.82	56.46	
							51.96
1	E-91-78-1 iop.	2	ND.	23.65	35.44	59.09	
2	E-91-78-1 iop.	2	ND.	28.23	41.92	70.15	
3	E-91-78-1 iop.	2	ND.	22.17	37.28	59.45	
							62.89
1	E-92-17-50 dms.	3	ND.	19.91	34.56	54.47	
2	E-92-17-50 dms.	3	ND.	27.58	34.3	61.88	
3	E-92-17-50 dms.	3	ND.	23.22	33.18	56.4	

							57.58
1	E-92-17-28 dms.	3	3.98	40.03	42.18	86.19	
2	E-92-17-28 dms.	3	5.27	36.09	38.93	80.29	
3	E-92-17-28 dms.	3	5.98	41.35	45.32	92.15	
							86.21
1	E-92-10-10 dms.	3	ND.	39.73	44.92	84.65	
2	E-92-10-10 dms.	3	ND.	26.31	38.29	64.9	
3	E-92-10-10 dms.	3	ND.	32.27	35.13	66.4	
							71.9
1	E-92-18-5 iop.	3	5.12	17.8	10.71	33.63	
2	E-92-18-5 iop.	3	3.72	11.52	10.13	25.37	
3	E-92-18-5 iop.	3	3.22	13.38	9.86	26.46	
							28.49
1	E-92-7-14 iop.	3	44.95	46.47	29.16	120.58	
2	E-92-7-14 iop.	3	36.12	43.22	30.21	109.55	
3	E-92-7-14 iop.	3	39.05	40.21	28.17	107.43	
							112.52
1	E-94-8-10 iop.	4	9.54	27.23	33.19	69.98	
2	E-94-8-10 iop.	4	14.3	26.43	60.07	100.8	
3	E-94-8-10 iop.	4	15.17	33.67	40.69	89.53	
							86.77
1	E-94-10-34 iop	4	ND.	32.29	21.45	53.74	
2	E-94-10-34 iop	4	ND.	24.74	33.94	58.68	
3	E-94-10-34 iop	4	ND.	25.21	26	51.21	
							54.54
1	E-94-16-41 iop	4	3.18	34.02	31.6	68.8	
2	E-94-16-41 iop	4	2.64	35.27	30.02	67.9	

3	E-94-16-41 iop	4	3.21	32.38	30.22	65.8	
							67.5
1	E-94-26-16 dms.	4	9.44	20.58	30.96	60.98	
2	E-94-26-16 dms.	4	10.19	18.16	25.99	54.34	
3	E-94-26-16 dms.	4	18.25	16.15	30.46	64.76	
							60.03
1	E-94-31-26 dms.	4	6.23	19.92	32.15	58.3	
2	E-94-31-26 dms.	4	4.92	23.25	30.13	58.3	
3	E-94-31-26 dms.	4	7.39	21.99	28.92	58.3	
							58.3
1	RPH-62 S. demissum.	Parental silvestre.	18.46	26.26	43.28	88	
2	RPH-62 S. demissum.	Parental silvestre.	19.11	29.13	40.13	88.37	
							88.19
1	S. iopetalum.	Parental silvestre.	31.86	32.93	23.49	88.28	
2	S. iopetalum.	Parental silvestre.	27.92	37.12	30.28	95.32	
							91.8
1	Variedad Alpha.	Parental comercial.	9.35	30.94	45.14	85.43	
2	Variedad Alpha.	Parental comercial.	8.57	29.19	38.29	76.05	
3	Variedad Alpha.	Parental comercial.	ND.	32.43	21.44	53.87	
							71.78
1	Variedad Lopez.	Parental comercial.	20.96	21.04	7.02	49.02	
2	Variedad Lopez.	Parental comercial.	12.05	19.29	ND.	31.39	
3	Variedad Lopez.	Parental comercial.	18.68	25.42	27.2	71.3	
							50.57

1	IRERI.	Clon avanzado	2.53	32.08	18.17	52.78	
2	IRERI.	Clon avanzado	ND.	16.21	14.21	30.42	
3	IRERI.	Clon avanzado	ND.	30.71	14.18	44.89	
							42.7
1	78-199-33	Clon avanzado	3.53	30.48	23.94	57.95	
2	78-199-33	Clon avanzado	2.75	27.07	24.48	54.29	
3	78-199-33	Clon avanzado	3.28	31.22	25.73	60.23	
							57.49

### Resistencia a *Phytophthora infestans* y su relación con el contenido total de Ga's.

Las condiciones ambientales que prevalecieron en el Valle de Toluca durante el ciclo primavera-verano de 1997, permitieron el desarrollo óptimo del tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans*), siendo particularmente más agresivo que en ciclos pasados. A pesar de ello las retrocruzas resistieron sin mucha dificultad los ataques del patógeno, el follaje de cada retrocruza sólo presentó pequeñas lesiones que no representaron mayor problema para la producción de tubérculos. La resistencia de las retrocruzas fue notable, se observó un 100 % de sobrevivencia y un promedio aceptable de producción de tubérculos por planta. El control, es decir la variedad susceptible Alpha, fue afectada severamente por el tizón tardío, provocando en el follaje lesiones de consideración que acabaron por matar a la planta. Siempre y cuando las condiciones ambientales lo permitan, el tizón tardío puede infectar a las plantas en etapas iniciales del desarrollo e impedir la producción de estolones, como ocurrió con Alpha (Agris, 1991).

Como se ha mencionado anteriormente, también los tubérculos pueden ser afectados por esta enfermedad; a pesar de la presencia latente del tizón en el suelo del campo experimental Valle de Toluca, los tubérculos de las retrocruzas no fueron afectados por el hongo. La resistencia de cada retrocruza fue variable aún entre plantas del mismo material, pero siempre comparables a la resistencia de *Solanum demissum* y *Solanum iopetalum*.

De acuerdo a la resistencia de las retrocruzas observada en campo y a sus contenidos relativamente bajos de Ga's (si son comparados con los niveles obtenidos en las especies silvestres), podemos mencionar que en este caso no hubo relación de contenidos altos de Ga's en tubérculo, con la resistencia a *Phytophthora infestans*. Resultados semejantes han sido obtenidos en estudios con *Phytophthora*, *Fusarium* y *Phoma*, en ellos se concluye que no existe relación entre la resistencia y el contenido de Ga's, inclusive algunos genotipos que fueron mucho más resistentes al hongo, tuvieron menor cantidad de glicoalcaloides que los que fueron más susceptibles (Olsson, 1987).

En cuanto al follaje, no podemos asegurar que el contenido total de Ga's significativamente mayor que en los tubérculos, tenga que ver con la resistencia a *Phytophthora infestans*, ya que en el tubérculo no se encontró relación, a pesar de que también el hongo está presente en el suelo.



## VII.-CONCLUSIONES.

La importancia de los glicoalcaloides radica en las alteraciones que provocan en la salud humana, los constantes estudios han puesto de manifiesto su potencial tóxico.

Las especies silvestres del género *Solanum* sintetizan generalmente altos contenidos de Ga's que pueden heredarse con facilidad en cruzamientos que se realizan natural o artificialmente. Es por ello que la utilización de especies silvestres en programas de mejoramiento genético, debe ser tomada con cautela.

De acuerdo al análisis de glicoalcaloides realizado en las retrocruzas, parentales y clones avanzados, podemos concluir lo siguiente:

Los tubérculos de *Solanum demissum* y *Solanum iopetalum*, no deben destinarse al consumo humano porque su contenido total de Ga's excede los 20 mg/ 100 g de T.F, además de que su calidad comercial no es buena.

Las variedades comerciales López y Alpha no tienen este problema, sus tubérculos tienen niveles de Ga's por debajo del límite permitido. Sin embargo el cultivo de estas variedades sin aplicación de fungicidas, puede ser afectado severamente por *Phytophthora infestans*.

Las retrocruzas fueron resistentes al tizón tardío, los tubérculos tienen niveles aceptables de glicoalcaloides; **el retrocruzamiento con los parentales recurrentes fue un paso importante para contrarrestar la introducción de genes que expresan contenidos altos de Ga's.**

El follaje acumuló mayor cantidad de glicoalcaloides que los tubérculos, en ambos casos la  $\alpha$ -solanina y la  $\alpha$ -chaconina fueron más abundantes que la solanidina. La resistencia del follaje fue notable, sólo se observó pequeñas lesiones que no dificultaron el desarrollo de la planta; los tubérculos de las retrocruzas no fueron afectados por el hongo. El control susceptible Alpha se vió muy afectado por la enfermedad después de los quince días de emergencia, no hubo producción de tubérculos.

El contenido total de Ga's de los tubérculos no está relacionado con su resistencia al tizón tardío, debido a que los niveles son muy bajos comparados con los niveles de *Solanum demissum* y *Solanum iopetalum*, la resistencia de las retrocruzas y las especies silvestres es semejante.

Por último, se concluye que el mejoramiento genético de la papa por medio de retrocruzamientos, permite introducir resistencia a *Phytophthora infestans* en especies susceptibles, permite mantener la calidad y rendimiento en los tubérculos y contribuye a producir nuevas variedades que acumulan niveles aceptables de glicoalcaloides.

*Sugerencias:* Ya que los glicoalcaloides pueden provocar diversas alteraciones e inclusive la muerte, se sugiere promover entre los mejoradores genéticos de México y otras partes del mundo, el análisis químico de los Ga's en las nuevas variedades que tienen la posibilidad de ser liberadas como un cultivo comercial.

Se sugiere que se lleve acabo un nuevo análisis de Ga's en las retrocruzas analizadas, pero en condiciones distintas, ya que se ha observado variaciones en el contenido de Ga's de localidad a localidad, así como variaciones ocasionadas por las condiciones climáticas.

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

## VIII.-ANEXO.

### 1.- Sulfato cerico amoniacal.

Para preparar 10 ml, se pesa 0.31 g de sulfato cerico amoniacal  $((\text{NH}_4)_4\text{Ce}(\text{SO}_4)_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O})$ , se disuelven en agitación con 9.11 g de hielo, después de 10 min se agrega 0.58 ml de ácido sulfúrico concentrado y se deja en agitación 20 min. El reactivo es fotosensible, se tiene que mantener en recipientes oscuros.

### 2.-Análisis de variación de las retrocruzas (tubérculo). Diseño de bloques aleatorios.

FUENTE:	GRADOS DE LIBERTAD.	SUMA DE CUADRADOS.	CUADRADOS MEDIOS
Bloques	2	3	
Tratamientos	14	864.58	61.76
Residuo	28	458.61	16.4
Total	44	1326.19	
F observado	3.8		
F requerido (14,28)	(.05) 2.06	(.01) 2.8	

\*F observado mayor al requerido = diferencias significativas.

### 3.-Análisis de variación del contenido total de glicocalcoides del follaje. (todas las muestras). Diseño de bloques aleatorios.

FUENTE:	GRADOS DE LIBERTAD.	SUMA DE CUADRADOS.	CUADRADOS MEDIOS
Bloques	2	171.63	
Tratamientos	20	21004.58	1050.23
Residuo	38	3305.57	86.99
Total	60	24481.78	
F observado	12.07		
F requerido (14,28)	(.05) 1.85	(.01) 2.4	

\*F observado mayor al requerido = diferencias significativas.

## BIBLIOGRAFÍA.

**Abell, D. C. y Sporns, P.** Rapid quantitation of potato glycoalkaloids by matrix-assisted laser desorption/ ionization time-of-flight mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 44:2292-2296, 1996.

**Agrios, N. G.** Fitopatología. Ed. LIMUSA, México. pp 250-257, 1991.

**Allen, E. H. y Kuc, J.**  $\alpha$ -Solanine and  $\alpha$ -chaconine as fungitoxic compounds in extracts of Irish potato tubers. *Phytopathology*, 58: 776-781, 1968.

**Allard, W. R.** Principles of plant breeding. Wiley International Edition., pp. 485, 1960.

**Amaya, U. M.** Papa, alimento base del pueblo mexicano. 1982.

**Ames, de I.T.** Compendio de enfermedades de la papa (Traducción). Centro Internacional de la papa. Lima Perú., pp 60, 1980.

**Blankemeyer, J. T.,Stringer, B. K., Rayburn, J. R., Bantle, J. A. y Friedman, M.** Effect of potato glycoalkaloids  $\alpha$ -chaconine and  $\alpha$ -solanine on membrane potential of frog embryos. *J. Agric. Food Chem.*, 40: 2022-2026, 1992.

**Briggs, F. N., Knowles.** Introduction to plant breeding. Reinhold Publishing Corporation. pp, 162-175, 1967.

**Burton, W. G.** Potato. In: *Encyclopaedia Britannica*, Volume 18, pp. 95-134. Benton, Chicago etalibi. 1197 pp.

**Bushway, R. J.** Sources of alkaloid and glycoalkaloid standards for potato breeding programs and other research. *Am. Potato J.*, 60: 793-797, 1983.

**Bushway, R. J., Bureau, J. L. y Stickney, M. R.** A new efficient method for extracting glycoalkaloids from dehydrated potatoes. *J. Agric. Food Chem.*, 33: 45-46, 1985.

**Cadle, L. S., Stelzig, D. A., Harper, K. L. y Young, R. J.** Thin-layer chromatographic system for identification and quantification of potato tuber glycoalkaloids. *J. Agric. Food Chem.*, 26: 1453-1454, 1978.

**Carman, A. S., Jr., Kuan, S. S., Ware, G. M., Francis, O. J., Jr. y Kirschenheuter, G. P.** Rapid HPLC determination of the potato glycoalkaloids  $\alpha$ -solanine and  $\alpha$ -chaconine. *J. Agric. Food Chem.*, 34: 279-282, 1986.

**Coxon, D: T. y Jones, P. G.** A rapid screening method for the estimation of total glycoalkaloids in potato tubers. . *J. Agric. Food Chem.*, 32: 366-370, 1981.

**Crawford, L. y Myhr, B.** A preliminary assessment of the toxic and mutagenic potential of steroidal alkaloids in transgenic Mice. *Fd. Chem toxic.* 33: 191-194, 1995.

**Dale, M. F. B., Griffiths, D. W., Bain, H., y Todd, D.** Glycoalkaloid increase in *Solanum tuberosum* on exposure to light. *Ann. Appl. Biol.*, 123: 411-418, 1993.

**Dao, L. y Friedman, M.** Chlorophyll, chlorogenic acid, glycoalkaloids, and protease inhibitor content on fresh and green potatoes. *J. Agric. Food Chem.*, 44: 633-639, 1996.

**De la Loma.** Genética general y aplicada. De. Uteha, México D.F; pp. 596-601. 1963.

**Deahl, K. L. y Sinden, S. L.** A technique for rapid detection of leptine glycoalkaloids in potato foliage. *Am. Potato J.*, 64: 285-290, 1987.

**Deahl, K. L., Cantelo, W. W., Sinden, S. L., y Sanford, L. L.** The effect of light intensity on Colorado potato beetle resistance and foliar glycoalkaloid concentration of four *Solanum chacoense* clones. *Am. Potato J.*, 68: 659-666, 1991.

**Dominic, F., Sears, L., Stapleton, P.** "Biodiversity in trust". Conservation and use of plant genetic resources in CGIAR centres. Cambridge University Press. pp.371, 1997.

**Fewell, A. M. y Roddick, J. G.** Interactive antifungal activity of the glycoalkaloids  $\alpha$ -solanine and  $\alpha$ -chaconine. *Phytochemistry*, 33: 323-328, 1993.

**Friedman, M.** Composition and safety evaluation of potato barriers, potato and tomato seeds, potatoes and potato alkaloids. In: *Assessment of Food Safety*, Finley, J. W., Robinson, S. F., y Armstrong, A., Eds., American Chemical Society, Washington, D. C., 1992, ACS Symposium Series, 484, 429-462.

**Fitzpatrick, T. J., Herb, S. F., Osman, S. F. y McDermott, J. A.** Potato glycoalkaloids: increases and variations of ratios in aged slices over prolonged storage. *Am. Potato J.*, 54: 539-544, 1977.

**Fitzpatrick, T. J., Mackenzie, J. D. y Gregory, P.** Modifications of the comprehensive method for total glycoalkaloid determination. *Am. Potato J.*, 55: 247-248, 1978.

**Friedman, M. y Henika, P. R.** Absence of genotoxicity of potato alkaloids  $\alpha$ -chaconine,  $\alpha$ -solanine and solanidine in the Ames Salmonella and adult and foetal erythrocyte micronucleus assays. *Food Chem. Toxicol.*, 30: 689-694, 1992.

**Friedman, M., Henika, P. R. y Mackey, B. E.** Feeding of potato, tomato, and eggplant alkaloids effects food consumption and body and liver weights in mice. *J. Nutr.*, 126: 989-999, 1996.

- Friedman, M., Burns, C. F., Butchko, C. A. y Blankemeyer, J. T.** Folic acid protects against potato glycoalkaloid  $\alpha$ - chaconine- induced disruption of frog embryo cell membranes and developmental toxicity. *J. Agric. Food Chem.*, 45: 3991-3994, 1997.
- Gregory, P.** Glycoalkaloid composition of potatoes: diversity and biological implications. *Am. Potato J.*, 61: 115-122, 1984.
- Holliday, P.** Fungus diseases of tropical crops. Cambridge University, pp. 354-355, 1980.
- Hawkes, J. K.** The potato, evolution biodiversity and genetic resources. London G. B Belhaven. Press. pp. 257, 1990.
- International Potato Center.** Major potato diseases, insects, and nematodes. Internacional Potato Center, lima Perú. pp.95, 1983.
- Jadhav, S. J. y Salunkhe, D. K.** Formation y control of chlorophyll and glycoalkaloids in tubers of *Solanum tuberosum* L. and evaluation of glycoalkaloid toxicity. *Adv. Food Res.*, 21: 307-354, 1975.
- Jellema, R., Elema, E. T. y Malingre, T. M.** A rapid quantitative determination of the individual glycoalkaloids in tubers and leaves of *Solanum tuberosum* L. *Potato Res.*, 25: 247-255, 1982.
- Jonasson, T. y Olsson, K.** The influence of glycoalkaloids, chlorogenic acid and sugars on the susceptibility of potato tubers to wireworm. *Potato Res.*, 37: 205-216, 1994.
- Keukens, E. A. J., de Vrije, T., van den Boom, C., de waard, P., Plasman, H. H., Thiel, F., Chupin, V., Jonjen, W. M. F. y de Kruijff, B.** Molecular basis of glycoalkaloid induced membrane disruption. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1240: 216-228, 1995.
- Kuc, J.** Steroid glycoalkaloids and related compounds as potato quality factors. *Am. Potato J.*, 61: 123-139, 1984.
- Maga, J.** Potato glycoalkaloids. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 12: 371- 405, 1980.
- Maine, M. J., Bain, H. y Joyce, A. L.** Changes in the total tuber glycoalkaloid content of potato cultivars on exposure to light. *J. agric. Sci.* 3: 57-58, 1987.
- Mondy, N. I. y Munshi, C. B.** Effect of soil and foliar application of molybdenum on the glycoalkaloid and nitrate concentration of potatoes. *J. Agric. Food Chem.*, 41: 256-258, 1993.
- Moore, L. D. y Orcutt, D. M.** Free sterol and total lipids in stems and resistant tobacco cultivars colonized by *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. *Physiology and Biochemistry*, 72: 1048- 1051, 1982.

**Morgan, M. R. A., McNerney, R., Coxon, D. T. y Chan, H. W. S.** Comparision of the analysis of total potato glycoalkaloids by immunoassays and conventional methods. En: *Immunoassays in Food Analysis*. Morris, B. A. y Clifford, M. N., Eds., Elsevier, London, 187-195, 1985.

**Morris, S. C. y Lee, T. H.** The toxicity and teratogenicity of Solanaceae glycoalkaloids, particularly those of the potato (*Solanum Tuberosum*). *Food Technol. Australia*, 36: 118-124, 1984.

**Nes, W. D., Hanners, P. K., Bean, G. A. y Patterson, G. W.** Inhibition of growth and sitosterol-induced sexual reproduction in *Phytophthora cactorum* by steroidal alkaloids. *Physiology and Biochemistry*, 72: 447-450, 1982.

**Niederhauser, J. S.** Genetic studies of *Phytophthora infestans* and *Solanum* species in relation to late-blight resistance in the potato. *University of Toronto Press Canada*, 491-497, 1961.

**Olsson, K.** The influence of glycoalkalois and impact damage on resistance to *fusarium solani* var. *coereruleum* and *Phoma exigua* var. *foveata* in potato tubers. *J. Phytopathol.*, 118: 347-357, 1987.

**Phillips, B. J., Hughes, J. A., Phillips, J. C., Walters, D. G., Anderson, D. y Tahourdin, C. S. M.** A study of the toxic hazard that might be associated with the consumption of green potato tops. *Food and Chemical toxicology*, 34: 439-448, 1996.

**Plhak, L. C. y Sporns, P.** Enzyme immunoassay for potato glycoalkaloids. *J. Agric. Food Chem.*, 40: 2533-2540, 1992.

**Plhak, L. C. y Sporns, P.** Development and production of monoclonal antibodies for the measurement of solanidine potato glycolakaloids. *Am. Potato J.*, 71: 297-313, 1994.

**Rayburn, J. R., Bantle, J. A. y friedman, M.** Role of carbohydrate side chains of potato glycoalkaloids in developmental toxicity. *J. Agric. Food Chem.*, 42: 1511-1515, 1994.

**Roddick, J. G., Rijnenberg, A. L.** Effect of steroidal glycoalkaloids of potato on the permeability of liposome membranes. *Physiol. Plantarum.*, 68: 436-440, 1986.

**Roddick, J. G., Rijnenberg, A.L. y Weissenberg, M.** Membrane-disrupting properties of the steroidal glycoalkaloids solasonine and solamargine. *Phytochemistry*, 29: 1513-1518, 1990.

**Roddick, J.G., Rijnenberg, A.L. y Weissenberg, M.** Alterations to the permeability of liposome membranes by solasodine-based glycoalkaloids solasonine and solamargine. *Phytochemistry*, 31: 1951-1954, 1992.

- Romero, C. S.** Hongos fitopatógenos. *Univ. Aut. Chapingo*. pp 74-78, 1988.
- Ross, H.** Potato breeding-problems and perspectives. *Adv. In Plant Breeding*. Supplement 13 to Journal of Plant Breeding. Paul Parey, Berlin and Hamburg. 132 pp, 1986.
- Sanford, L. L. y Sinden, S.L.** Inheritance of potato glycoalkaloids. *Am. Potato J.*, 49: 209-217, 1972.
- Sanford, L. L., Deahl, K. L., Sinden, S.L. y Ladd; T.L. Jr.** Foliar solanidine glycoside levels in *Solanum tuberosum* populations selected for potato leafhopper resistance. *Am. Potato J.*, 67: 461-466, 1990.
- Sanford, L. L., Kobayashi, R. S., Deahl, K. L. y Sinden, S. L.** Segregation of leptines and other glycoalkaloids in *Solanum Tuberosum* (4X) X *S. Chacoense* (4X) crosses. *Am. Potato J.*, 73: 21-33, 1996.
- Sanford, L. L., Kowalski, S. P., Ronning, C. M. y Deahl, K. L.** Leptines and other glycoalkaloids in tetraploid *Solanum Tuberosum* X *Solanum Chacoense* F2 hybrid and backcross families. *Potato Res.*, 75: 167-172, 1998.
- Sinden, S. L., Sanford, L. L. y Webb, R. E.** Genetic and environmental control of potato glycoalkaloids. *Am. Potato J.*, 61: 141-156, 1984.
- Sinden, S. L.** Potato glycoalkaloids. *Horticulturae Food Crops*, 207: 41-47, 1987.
- Sinden, S. L., Sanford, L.L. y Deahl, K.L.** Allelochemically mediated host resistance to the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Mem. Ent. Soc. Can.*, 159: 19-28, 1991.
- Stapleton, A., Allen, P. V., Friedman, M., y Belknap, W. R.** Purification and characterization of solanidine glucosyltransferase from the potato (*solanum tuberosum*). *J. Agric. Food Chem.*, 39: 1187-1203, 1991.
- Tingey, W. M.** Total foliar glycoalkaloids and resistance of wild potato species to *Empoasca Fabae* (Harris). *Am. Potato J.*, 55: 577-585, 1978.
- Tingey, W. M.** Glycoalkaloids as pest resistance factors. *Am. Potato J.*, 61: 157-167, 1984.
- van Gelder, W. M. J.** Chemistry, toxicology, and occurrence of steroidal glycoalkaloids: potential contaminants of the potato (*Solanum tuberosum*. L.) In: *Poisonous Plants contaminating Edible Plants*. Rizk, A-F. M., De., CRC Press, Boca Raton, Florida, 117-156, 1990.
- Van Gelder, W. M. J. y Scheffer, J. J. C.** Transmission of steroidal glycoalkaloids from *Solanum vernei* to the cultivated potato. *Phytochemistry*, 30: 165-168, 1991.



**Woolfe, J. A.** The potato in the human diet. *Cambridge University Press*, Cambridge, England, 1987.

**Zimowski, J.** Specificity and some other properties of cytosolic and membraneous UDPGlc: 3 $\beta$ -Hidroksisteroid glukosyltransferases from *Solanum Tuberosum* leaves. *Phytochemistry*, 30: 1827-1831, 1991.