



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y**  
**AMBIENTALES**  
**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE PROTEÍNA RESIDUAL**  
**DE PAPA DE LAS VARIEDADES *S. tuberosum* L, *S. tuberosum* Vitelotte**  
**CONTRA HONGOS OBTENIDA MEDIANTE TRATAMIENTO TÉRMICO**

TRABAJO DE TITULACIÓN PARA OBTENER EL TÍTULO DE INGENIERO/A EN  
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

**AUTORA: GISSELLA SILVANA GUAPAS TARAPUEZ**

**DIRECTOR: Ing. SANTIAGO ZARATE BACA MSc.**

**NOVIEMBRE, 2020**



FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y  
AMBIENTALES

**CERTIFICACIÓN TRIBUNAL TUTOR TRABAJO DE  
TITULACIÓN**

Ibarra, 12 noviembre del 2020

Para los fines consiguientes, una vez revisado el documento en formato digital el trabajo de titulación: "EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE PROTEÍNA RESIDUAL DE PAPA DE LAS VARIETADES *S. tuberosum* L, *S. tuberosum* Vitelotte CONTRA HONGOS OBTENIDA MEDIANTE TRATAMIENTO TÉRMICO", de autoría del señor /ita GISELLA SILVANA GUAPAS TARAPUEZ estudiante de la Carrera de INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA el tribunal tutor CERTIFICAMOS que el/la autor/a o autores ha procedido a incorporar en su trabajo de titulación las observaciones y sugerencia realizadas por este tribunal.

Atentamente,

TRIBUNAL TUTOR

FIRMA

MSc. SANTIAGO ZARATE BACA  
DIRECTOR TRABAJO TITULACIÓN

MSc. GABRIEL CHIMBO  
MIEMBRO TRIBUNAL TUTOR TRABAJO DE TITULACIÓN

MSc. SANIA ORTEGA  
MIEMBRO TRIBUNAL TUTOR TRABAJO DE TRITULACIÓN

**Misión Institucional:**

Contribuir al desarrollo educativo, científico, tecnológico, socioeconómico y cultural de la región norte del país. Formar profesionales críticos, humanistas y éticos comprometidos con el cambio social.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE  
BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN  
A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO			
CÉDULA DE IDENTIDAD:	0401745112		
APELLIDOS Y NOMBRES:	Guapas Tarapuez Gissella Silvana		
DIRECCIÓN:	Ibarra, calle Marco Nicolalde y Miguel Buonaroti		
EMAIL:	gsguapast@utn.edu.ec		
TELEFONO FIJO:	3013-784	TELEFONO MOVIL:	0989766534

DATOS DE LA OBRA	
TITULO:	EVALUACION DE LA ACTIVIDAD BIOLOGICA DE PROTEINA RESIDUAL DE PAPA DE LAS VARIEDADES <i>S. tuberosum</i> L, <i>S. tuberosum</i> Vitelotte CONTRA HONGOS OBTENIDA MEDIANTE TRATAMIENTO TÉRMICO
AUTOR (ES):	Guapas Tarapuez Gissella Silvana
FECHA: DD/MM/AAAA	12 noviembre, 2020
SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO	
PROGRAMA:	<input checked="" type="checkbox"/> PREGRADO <input type="checkbox"/> OSGRADO
TITULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniera en Biotecnología
ASESOR /DIRECTOR:	Santiago Zarate Baca MSc.

2. CONSTANCIAS

El autor manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrollo, sin los derechos de autores terceros, por lo tanto, la obra es original y es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 12 días del mes de noviembre del 2020

EL AUTOR:

  
Gissella Silvana Guapas Tarapuez

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por permitirme estar aquí y realizar no solo este trabajo de titulación, sino también, varias labores de ayuda a otras personas. Luego, quiero agradecer a mis padres y familiares por el apoyo brindado y por creer en mí. También, quiero agradecer a mi tutor, a mis asesores por ser mis guías. De igual forma, agradezco a profesionales de otras instituciones por abrirme las puertas y ayudarme en momentos que necesite, y como no también agradecer a mis compañeros y amigos que con su ayuda se pudo sacar este trabajo adelante.

## **DEDICATORIA**

Esta obra de titulación va dedicada a Dios, por siempre cuidarme y ayudarme. También, va dedicada con mucho cariño a mis padres y a toda mi familia que me han apoyado incondicionalmente y a mis amigos que siempre estuvieron dándome ánimos.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTO .....	iv
DEDICATORIA.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS .....	viii
ÍNDICE DE TABLAS .....	ix
ÍNDICE DE ANEXOS .....	10
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Antecedentes .....	2
1.2 Planteamiento del problema.....	4
1.3 Justificación .....	5
1.4 Pregunta directriz.....	7
1.5 Objetivos.....	7
CAPÍTULO II.....	8
2. MARCO TEÓRICO.....	8
2.1 Descripción taxonómica de la papa .....	8
2.2 Producción de papa.....	9
2.3 Composición nutricional de la papa .....	9
2.4 Enfermedades que afectan a la papa.....	11
2.5 Género <i>Fusarium</i> .....	11
2.5.1 <i>Fusarium</i> en cultivo de papa.....	12
2.6 Métodos de control para plagas y enfermedades en papa .....	12
2.7 Propiedades biológicas de proteína de papa .....	13
2.8 Métodos de recuperación de proteínas .....	14
2.8.1 Extracción con sales.....	14
2.8.2 Precipitación con solventes.....	14
2.8.3 Coagulación por calor y precipitación ácida.....	14
2.9 MARCO LEGAL .....	15
Constitución de la República del Ecuador 2008.....	15
CAPÍTULO III .....	17
3. METODOLOGÍA .....	17
3.1.1 Descripción del área de estudio .....	17
Ubicación Política .....	17
3.2 Material biológico .....	18

3.3	Análisis proximal.....	18
3.4	Obtención de almidón.....	18
3.5	Extracción de proteína soluble de papa .....	19
3.6	Fraccionamiento de proteínas post tratamiento termico.....	20
3.7	Cuantificación de proteína por colorimetría .....	20
3.8	Electroforesis vertical SDS-PAGE de las fracciones proteicas.....	21
3.9	Evaluación de la actividad antifúngica de las fracciones proteicas.....	21
3.10	Análisis estadístico de datos .....	21
CAPÍTULO IV .....		23
4.	RESULTADOS .....	23
4.1	Análisis proximal.....	23
4.2	Composición del extracto de pulpa de papa .....	23
4.3	Caracterización de las fracciones proteicas post tratamiento térmico .....	24
4.4	Análisis de la actividad antifúngica de las fracciones proteicas post tratamiento térmico .....	26
4.5	Comparación del efecto inhibitorio entre variedades .....	29
CAPÍTULO V .....		31
5.	DISCUSIÓN.....	31
	Composición del extracto de pulpa de papa .....	31
	Cuantificación de proteína de papa por el método de Bradford .....	34
CAPÍTULO VI.....		37
6.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	37
6.1	Conclusiones.....	37
6.2	Recomendaciones .....	37
REFERENCIAS .....		38
ANEXOS .....		49

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Mapa de ubicación de área de muestreo .....	17
Figura 2 Caja de Petri dividida en ejes para pruebas inhibitorias .....	21
Figura 4 Contenido de proteína (mg) por tratamiento térmico y variedad.....	24
Figura 5 SDS-PAGE de proteínas de Súper Chola y Violeta. Violeta a temperatura de 50°C (VT1), Violeta 75°C (VT2), Violeta 100°C (VT3), Súper Chola 50°C (SPT1), Súper Chola 75°C (SPT2), Súper Chola 100°C (SPT3). .....	25
Figura 6 SDS-PAGE proteínas de papa filtradas con membrana. Violeta (V), temperatura (T), Súper Chola (SP). .....	25
Figura 7 Área de crecimiento de Fusarium sp. con respecto al tipo de proteína y las variedades Súper Chola (A) y Violeta (B).....	26
Figura 8 Diámetro del área de inhibición de Fusarium sp. día 1 .....	27
Figura 9 Diámetro del área de inhibición por Variedad contra Fusarium sp. en el día 3	27
Figura 10 Diámetro del área de inhibición por tipo de proteína contra Fusarium sp en el día 3 .....	27
Figura 11 Diámetro del área de inhibición con respecto a las variedades en el día 4 ....	28
Figura 12 Diámetro del área de inhibición con respecto al tipo de proteína en el día 4	28
Figura 13 Diámetro del área de inhibición de Fusarium sp. en el día 5 .....	28
Figura 14 Diámetro del área de inhibición con respecto al tipo de proteína en el día 5	29
Figura 15. Crecimiento del patógeno expuesto a temperaturas y variedades y proteína.	29
Figura 16 Cambios de coloración de Fusarium sp producido ante la presencia de proteína de Violeta (A) y Súper Chola (C), (B y D) es la vista anterior del hongo.....	30



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación taxonómica de especies de papa .....	8
Tabla 2 Composición nutricional de la papa con respecto a gramo comestible.....	10
Tabla 3 Agentes patógenos que afectan a cultivos de papa.....	11
Tabla 4 Enfermedades producidas por Fusarium y medidas de control.....	12
Tabla 5 Tipos de controles para plantaciones y semillas.....	13
Tabla 6 Propiedades biológicas de las proteínas de papa.....	14
Tabla 7 Resumen de métodos para recuperación de proteínas .....	15
Tabla 8 Niveles de los factores y tratamientos .....	22
Tabla 9 Composición proximal (g/g) de las variedades (base seca).....	23

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Preparación de las muestras de papa.....	49
Anexo 2 Extracción de proteína de las variedades .....	49
Anexo 3 Esquema del análisis de la varianza para el contenido proteico .....	50
Anexo 4 Esquema del análisis para la actividad antifúngica.....	50
Anexo 5 Supuestos para el contenido Proteico .....	50
Anexo 6 Supuestos para la actividad inhibitoria .....	51
Anexo 7 Análisis proximal INIAP. Informe del ensayo 19-042 .....	52
Anexo 8 Análisis de t de student para contenido de almidón.....	53
Anexo 9 Balance de masa de las variedades evaluadas.....	53
Anexo 10 Análisis de la varianza para el contenido (mg) de proteína .....	53
Anexo 11 Variables independientes incluidas en el análisis de regresión lineal .....	54
Anexo 12 Diagrama de dispersión de área de crecimiento sobre tiempo (en días), variedad y tipo de proteína. ....	54
Anexo 13 Análisis de la varianza día 1 .....	55
Anexo 14 Análisis de la varianza día 3 .....	55
Anexo 15 Análisis de la varianza día 4 .....	56
Anexo 16 Análisis de la varianza del día 5 .....	57

## RESUMEN

El cultivo de papa se encuentra dentro de las principales actividades agrícolas en la sierra andina del Ecuador. Es un tubérculo importante en la dieta de los ecuatorianos, debido a que, promueve la participación social y generación de ingresos para las familias productoras. En la provincia del Carchi, se cultivan semillas de Súper Chola y Violeta. El cantón Montufar durante el año 2017 obtuvo un rendimiento de 17.26 t/ha. La producción, se ve afectada por diferentes plagas y enfermedades como pudrición seca provocada principalmente por *Fusarium* sp. La presente investigación se enfocó en la búsqueda de un compuesto bioactivo de la biomasa de *Solanum tuberosum* capaz de presentar actividad inhibitoria frente a *Fusarium* sp. Se extrajo proteína residual del jugo de papa de Súper Chola y Violeta ajustando el jugo a un pH de 4 utilizando H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5M y sometiendo a diferentes temperaturas de aislamiento (50, 75, y 100°C). Se cuantificaron proteínas por colorimetría con el método de Bradford, posteriormente se identificó y estimó la masa molecular a través de SDS-PAGE. Finalmente, se dializó las proteínas obtenidas con membranas de corte de 20 kDa para evaluar su actividad biológica contra *Fusarium* sp., durante cinco días frente a proteína total, retenida ( $\geq 20$  kDa), y filtrada ( $< 20$  kDa). La interacción entre variedad y tipo de proteína, en el día tres difirió significativamente. Proteínas totales de Violeta presentaron menor área de crecimiento con respecto a Súper Chola y a proteínas filtrada y retenida. A 75°C en proteínas totales de Violeta el hongo presenta menor área de crecimiento. La estabilidad funcional a altas temperaturas y actividad antifúngica de proteínas muestra el posible potencial de esta fracción para su uso en industrias agrícolas ofreciendo nuevos productos. Promoviendo el desarrollo de una nueva fuente de ingresos a través de la producción de almidón de papa, evitando el desperdicio del jugo de papa.

**Palabras clave:** Tubérculos, Biorrefinería, Compuestos bioactivos, Proteína

## ABSTRACT

Potato cultivation is among the main agricultural activities in the Andean highlands of Ecuador. It is an important tuber in Ecuadorian diet because it promotes social participation and income generation for producing families. In the province of Carchi, Super Chola and Violeta seeds are grown. The Montufar canton during the year 2017 obtained a yield of 17.26 t/ha. The production is affected by different pests and diseases such as dry rot caused mainly by *Fusarium* sp. This research focused on the search for a bioactive compound of the biomass of *Solanum tuberosum* able to present inhibitory activity against *Fusarium* sp. Residual protein was extracted from potato juice of Super Chola and Violeta by adjusting the juice to a pH of 4 using 0.5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and subjected to different isolation temperatures (50, 75, and 100°C). The proteins were quantified by colorimetry with the Bradford method, then the molecular mass was identified and estimated through SDS-PAGE. Finally, proteins gotten were dialyzed with 20 kDa cutoff membranes to evaluate their biological activity against *Fusarium* sp., for five days was evaluated against total, retained ( $\geq 20$  kDa), and filtered ( $< 20$  kDa) proteins. The interaction between variety and type of protein, on day three differed significantly, total violet proteins smaller growth area with respect to Super Chola, filtered and retained proteins. At 75°C in total proteins of Violet the fungus gives less growth area. The functional stability at high temperatures and antifungal activity of proteins, shows the possible potential of this fraction for use in agricultural industries offering new products. It promotes the development of a new source of income through the production of potato starch to avoid wasting of potato juice.

**Key words:** Tubers, Biorefinery, Bioactive compounds, Protein

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

En términos de consumo humano la papa es el tercer cultivo más importante del mundo después del arroz y el trigo (Eraso-Grisales et al., 2019). Más de mil millones de personas en el mundo consumen papa regularmente (CIP, 2017). Niveles de producción que se genera a nivel mundial sobrepasa los 374 millones de toneladas métricas, siendo China el mayor productor mundial de papa, con más de 88 millones de toneladas al año (FAOSTAT, 2008). La superficie mundial de papa cultivada por los agricultores supera los 19 millones de hectáreas (CIP, 2017).

En Ecuador, el Ministerio de Agricultura y Ganadería (2018), durante el año 2017 se produjo 18.92 t/ha. Las provincias más productoras de papa son: Sucumbíos, Tungurahua y Carchi. Con un rendimiento de 30.0, 25.7 y 21.9 t/ha respectivamente (MAG, 2018). El cantón Montúfar, en la provincia del Carchi obtuvo 17.26 t/ha de rendimiento durante el mismo año (SIPA, 2018). En este sector se cultivan mayormente semillas de variedad Súper Chola por su conocido nivel de producción, resistencia a enfermedades y por su demanda en mercado (Solano, 2018).

Los cultivos de papa, se ven afectados por diferentes entes patógenos causantes de enfermedades como: enrollamiento de hoja por virus (PLRV), tizón tardío por *Phytophthora infestans* (CIP, 2004). Además, pueden ser portadoras de hongos patógenos, de los cuales los más importantes son: *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Verticillium* (Ministerio De la Agricultura, 2019). Para combatir enfermedades, el agricultor usa fungicidas como Benalaxil, Tiabendazol, Zoxamida algunos de ellos de alta toxicidad (Villacrés, 2014). Estos insumos, provocan enfermedades en los agricultores y contaminan el ambiente (Jiménez et al., 2016).

Las especies de *Fusarium* son causantes de una gran cantidad de enfermedades en cultivos de todo el mundo y generan importantes pérdidas económicas (Villa-Martínez et al., 2014). Están ampliamente distribuidas en los suelos de todas las zonas paperas del Ecuador, ocasionando la pérdida de semillas (Pumisacho, 2002). El control de fitopatógenos del suelo es difícil de lograr; para ello se han desarrollado prácticas

culturales, control biológico y químico, siendo este último el más utilizado por ser eficaz, en comparación con otras medidas (Villa-Martínez et al., 2014).

Para salvaguardar la integridad funcional de los ecosistemas y seres que se desarrollan en ellos, se propuso rescatar la proteína residual del jugo de papa de productos de desecho de la industria de almidón y probar actividad biológica contra *Fusarium* sp (Hernández et al., 2008).

La investigación se realizó en dos variedades de papa provenientes del Cantón Montúfar en la provincia del Carchi, como son: *Solanum tuberosum* L, *Solanum tuberosum* Vitelotte. Como fase inicial se extrajo la proteína residual de papa mediante tratamiento térmico, para cuantificar la proteína se aplicó el método colorimétrico. Luego se analizó la actividad biológica de la proteína contra *Fusarium* sp. y se comparó el efecto inhibitorio entre la proteína residual de las dos variedades evaluadas.

## **1.1 Antecedentes**

La papa (*Solanum tuberosum*) pertenece a la familia de las solanáceas de plantas con flores; la misma que se originó y fue domesticada por primera vez en las montañas de los Andes de Sudamérica (CIP, 2017). Además, es el tercer cultivo alimenticio más importante del mundo en términos de consumo humano después del arroz y del trigo, 1.4 mil millones de personas la consumen, generando una producción total mundial del cultivo que sobrepasa los 300 millones de toneladas métricas (CIP, 2015).

La proporción de producción de papas por región registradas del año 2014 al 2016 es de: Europa 31.6%, Oceanía 0.4%, África 6.7%, Américas 11.3%, Asia 50% (FAOSTAT, 2017). En América del sur el área cosechada de papas en el 2016 es de 911.999 ha, con una producción de 15.502.969 toneladas (FAOSTAT, 2017). A nivel nacional, se cuenta con una superficie de siembra de 32.188 ha, cosecha 29.532 ha, producción 377.243 Tm, mientras que de ventas 343.765 Tm (INEC, 2017).

Durante el ciclo productivo del año 2017, indican que el rendimiento objetivo promedio nacional de papa fue de 18.92 t/ha., Sucumbíos, Tungurahua, Carchi y Chimborazo, se ubican como las zonas productoras con mayor rendimiento en esta época, superando el promedio nacional en 11, 6.8, 2.9 y 0.3 t/ha respectivamente (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2018).

En los dos últimos años de estudio, se observó que Carchi y Sucumbíos son las provincias de mayor productividad del país por sus características de suelo y manejo agronómico (MAG, 2018). En el Carchi, se cultivan semillas de las variedades Súper Chola y Única, las cuales tienen un rendimiento de 23.1 y 17.7 t/ha respectivamente, con una superficie de cosecha de 5.644 ha (Salazar, 2017). Estas semillas superan el rendimiento nacional (18.92 t/ha), evidenciando la superioridad genética de la variedad Súper Chola (MAG, 2018). A nivel cantonal se registra que en el 2016 el cantón Montufar perteneciente a la provincia del Carchi tuvo un rendimiento promedio de 20.3 t/ha (Monteros Guerrero, 2016). Mientras que de la variedad Violeta no se registran superficies de siembra ni rendimientos.

La papa es destinada para consumo inmediato, y al igual que otros cultivos de interés comercial es afectado por plagas y enfermedades (FAO, 2011). Son atacados por diferentes microorganismos causantes de diversas enfermedades como: enrollamiento de la hoja, causada por virus (PLRV), tizón tardío por hongo, pierna negra por una infección bacteriana (CIP, 2004). La papa, puede ser portadora exterior o interiormente por hongos causantes de enfermedades, de los cuales los más importantes son: *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Verticillium* (Carlos Moscardi, 1975).

Las condiciones favorables para la aparición de estas enfermedades son: campos infestados por microorganismos patógenos, heridas en los tubérculos, almacenamiento inadecuado (falta de ventilación) (FAO, 2016). Las fases donde el tubérculo es más propenso, es en etapas tempranas de siembra y en almacenamiento (Kroschel, Cañedo, Alcázar, & Miethbauer, 2012). Para controlar las enfermedades causadas por hongos, en Ecuador se realizan entre dos y trece aplicaciones de fungicidas en las etapas de: siembra, re tape, deshierba, alzada de tierra (Massaro, 2004). Que a su vez depende de las condiciones ambientales y de la disponibilidad de recursos económicos del agricultor.

Algunos de los fungicidas más usados son: cymoxanil, mancozeb, propineb, azufre y metalaxil (Castillo, 2011). El resultado es un alarmante nivel de intoxicación en las comunidades campesinas. Además, los químicos que se absorben el suelo muchas veces no penetra en los cultivos, se escurre y contamina el suministro de agua (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2008).

## 1.2 Planteamiento del problema

Una de las principales actividades agrícolas que se realizan en los Andes ecuatorianos es la producción de papa (*Solanum tuberosum*). La importancia de este rubro se debe a que generan altos ingresos económicos y adicionalmente, se encuentra presente en la dieta diaria de la población ecuatoriana (MAG, 2018). Según el Instituto Nacional de Estadísticas y Censo (INEC) (2018), en la región sierra existen alrededor de 23 974 ha cultivadas con este tubérculo y su producción total alcanza las 269 201 t/año. Chimborazo constituye la provincia con la mayor área cultivada, sin embargo, los mayores rendimientos son obtenidos en el Carchi. Esta provincia presenta una superficie plantada 6 536 ha con una producción de 133 208 t/año.

Este cultivo puede ser clasificado en dos grupos: nativas y mejoradas (CIP, 2017). Las primeras constituye las variedades consideradas patrimonio genético cultural, y promotoras soberanía y seguridad alimentaria de los territorios andinos (MAG, 2018). Por otra parte, las segundas constituyen a aquellas variedades que han sufrido algún proceso de fitomejoramiento y selección. Las variedades nativas son mayoritariamente diploides, y han sido desplazadas por las conocidas como genéticamente mejoradas (dominantes en el mercado), estas por su parte son tetraploides (Solano, 2018).

El monocultivo extensivo de papa sin rotaciones, no sólo produce abundantes cosechas, sino condiciones muy favorables para insectos, hongos, virus y bacterias patógenos (FAO, 2008). La naturaleza de transmisión de estos patógenos dificulta su control, por lo tanto, numerosas formas de combate han sido investigadas (cultural, biológico y químico) (Milton, 2016). El control cultural comprende la utilización de semillas libres de enfermedad y rotación e intercalado de cultivo. Las medidas biológicas utilizan organismos o metabolitos producidos por ellos para disminuir el nivel de daño de la enfermedad (Moscardi, 1975). Finalmente, el control químico se basa en la utilización de pesticidas de origen antropogénico para reducir a la mínima expresión los síntomas de las enfermedades

Además, las condiciones para la aparición de enfermedades son: campos infestados por microorganismos patógenos, heridas en los tubérculos, almacenamiento inadecuado (falta de ventilación) (FAO, 2016a). Las fases donde el tubérculo es más propenso, es en etapas tempranas de siembra y en almacenamiento (Kroschel et al., 2012).



Para controlar las enfermedades causadas por hongos, en Ecuador se realizan entre dos y trece aplicaciones de fungicidas en las etapas de: siembra, aporque, deshierba (Massaro, 2004). De igual forma la cantidad aplicada depende de las condiciones ambientales y de la disponibilidad de recursos económicos del agricultor.

A pesar de su efectividad en el control de patógenos, la manipulación y contacto con agroquímicos puede generar efectos negativos en la salud de los agricultores y de igual forma al ambiente que lo rodea (Cisneros, 2016). Por ejemplo, se ha logrado evidenciar síntomas de enfermedades cancerígenas, mutagénicas y tumorigénicas ligadas al uso de pesticidas (Villacrés, 2014). De la misma forma, el consumo de los vegetales que han sido tratados con estos productos puede provocar cáncer en edades avanzadas (FDA, 2012). Estudios demuestran que existen restos de plaguicidas en la orina y sangre de los trabajadores (Reyes y R, 2018).

Estos antecedentes han generado una cultura de consumo diferente entre la población, quienes buscan alimentos inocuos y libres de residuos (Chavarria, 2006). Un correcto manejo de las plagas y enfermedades beneficiará a los agricultores obteniendo una producción más eficiente, a menor costo, más segura para su salud, la de sus familias, respetuosa con el ambiente, los entornos urbanos y sus comunidades (FAO, 2011b). A consecuencia, los investigadores tienden a implementar de sistemas de producción sustentables, sostenibles y amigables con el ambiente.

Finalmente, una de las herramientas usadas para disminuir consecuencias del uso inadecuado de plaguicidas es el control biológico (Lomeli et al., 2014). Los productos a base de microorganismos presentan resultados positivos ante el control de enfermedades causadas por hongos (Lomeli et al., 2014). Por otra parte, estudios recientes muestran acción de compuestos bioactivos como proteínas de papa que inhiben el crecimiento de hongos patógenos en plantas (Bártová et al., 2018).

### **1.3 Justificación**

Diferentes aspectos socioeconómicos tales como: impacto social, económico, científico y ambiental, requieren cumplir con diversos parámetros: i) inocuidad: un producto libre de residuos tóxicos para el ser humano, ii) calidad organoléptica: tamaño, apariencia, sabor y contenido nutricional adecuado y iii) aceptación del consumidor: ajustada a las necesidades y condiciones culturales de cada zona. Por otra parte, es preciso

rescatar papas nativas para la conservación genética local, y de esta manera mantener el linaje de tubérculos antiguos. Igualmente, a través de estudios se puede descubrir algún compuesto u elemento que beneficie a la sociedad en general.

Económicamente, aplicar insumos agrícolas de bajo costo pero con alta efectividad en control de plagas reduce la inversión (IPES/FAO, 2010). De este modo, el agricultor puede destinar ese dinero a un negocio para generar nuevos ingresos. También, al incrementar su economía se mejora la calidad de vida de las familias. Dando de esta manera un ambiente de desarrollo digno para personas que realizan esta labor. Adicionalmente, el país puede desarrollar un área que es casi incipiente como lo es la biorrefinería, esto potencialmente generaría nuevas fuentes de empleo con el aprovechamiento de materia residual (G-Leguizamón, M-Puentes, y D-Pérez, 2014).

Ecuador, no cuenta con suficientes reportes científicos sobre temas que ayuden a un desarrollo y manejo sostenible de plagas y enfermedades, se requiere aportar con investigaciones de alto impacto para enfrentar este déficit (FAO, 2018). Por lo que, es importante explorar en temas como los residuos de operaciones, para encontrar uso y valor agregado. Al someter a diferentes tratamientos la materia residual, se logra obtener productos que pueden llegar a tener valor en el mercado (Casoni, 2017). En virtud de estas necesidades, el aprovechamiento de recursos de desechos permitirá aplicar fuentes alternativas en la elaboración de controladores biológicos (Saucedo-Pompa et al., 2018). Al mismo tiempo, se generan nuevos proyectos que impulsan el cambio de la matriz productiva.

De este modo, recientes investigaciones promueven la explotación de recursos de la producción de almidón de papa, de igual forma, mencionan sobre la estabilidad funcional de las proteínas de papa obtenidas a altas temperaturas y su actividad inhibitoria (Bártová, Bárta, Vla, y Kone, 2018). Dentro de este marco, se hace necesario enfatizar en la importancia de la investigación en nuestro país, para de esta manera elaborar productos de baja toxicidad al contacto directo con el trabajador. Y que, a su vez, se aplique un manejo responsable de residuos para evitar efectos adversos en la salud. Asimismo, se reduciría la contaminación del suelo y del agua causada por las lixiviaciones y el inadecuado tratamiento final de los envases (Bautista et al., 2018).

#### **1.4 Pregunta directriz**

¿Es la proteína residual de papa una alternativa para el control de *Fusarium* sp. en el manejo de plagas y enfermedades de la papa?

#### **1.5 Objetivos**

##### **1.5.1 Objetivo general**

Evaluar la actividad biológica de proteína residual de papa *Solanum tuberosum* L, *Solanum tuberosum* Vitelotte contra *Fusarium* sp.

##### **1.5.2 Objetivos específicos**

- Extraer proteína residual de papa *Solanum tuberosum* L, *Solanum tuberosum* Vitelotte mediante tratamiento térmico.
- Cuantificar proteína residual a través de un método colorimétrico.
- Analizar la actividad biológica de la proteína residual contra *Fusarium* sp.
- Comparar el efecto inhibitorio entre la proteína residual de las dos variedades evaluadas.

## CAPÍTULO II

### 1. MARCO TEÓRICO

#### 1.1 Descripción taxonómica de la papa

*Solanum tuberosum*, taxonómicamente pertenece al: reino plantae, división magnoliophyta, clase magnoliopsida, orden solanales, familia *solanaceae*, género *Solanum* L., 1753, especie *tuberosum* L., 1753 (SIOVM, 1996). Morfológicamente, Súper Chola es de tubérculos medianos, piel rosada lisa, pulpa amarilla pálida y ojos superficiales (Solano, 2018). Mientras que Violeta, es de tubérculos alargados, piel amarillo claro con manchas alrededor de los ojos morados, pulpa de color blanco (INIAP, 2010). Morfológica y molecularmente Rodríguez (2006), la clasifica en 190 especies repartidas en cuatro clados (**Tabla 1**).

Tabla 1

*Clasificación taxonómica de especies de papa*

Ploidía	Dodds (1962)	Bukasov (1971) Lechnovich (1971)	Hawkes (1990)	Ochoa (1990,1999)	Huamán y Spooner (2002)	Spooner et al. (2007)
2x	<i>S.tuberosum</i> Grupo	<i>S. cañarensis</i> Juz. y Bukasov	<i>S. ajanhuiri</i> <i>S. stenotomum</i>	<i>S. ajanhuiri</i> <i>S. stenotomum</i>	<i>S. ajanhuiri</i> Grupo	<i>S. ajanhuiri</i>
	Stenotomum	<i>S. goniocalyx</i> Juz. y Bukasov	<i>ssp. goniocalyx</i> <i>ssp. stenotomum</i>	<i>ssp. goniocalyx</i>	Ajanhuiri Grupo	
	Subgrupo Goniocalyx	<i>S. macmillanii</i> Bukasov			Stenotomum	
	Subgrupo Stenotomum	<i>S. phureja</i> Juz. y Bukasov	<i>S. phureja</i>	<i>S. phureja</i>		
	Grupo Phureja	<i>S. rybinii</i> Juz. y Bukasov	<i>ssp.</i> <i>hygrothermicum</i>			
	Subgrupo Amarilla	<i>S. stenotomum</i> Juz. y Bukasov	<i>ssp. phureja</i>		Grupo Phureja	
	Subgrupo Phureja					
3x	<i>S.tuberosum</i> Grupo chaucha	<i>S. boyacense</i> Juz. y Bukasov	<i>S. chaucha</i>	<i>S. chaucha</i>	Grupo Chaucha	<i>S. juzepczukil</i>
		<i>S. chaucha</i> Juz. y Bukasov				
		<i>S. choclo</i> Bukasov				
		<i>S. ciezae</i> Bukasov y Lechn				
		<i>S. cuencanum</i> Juz. y Bukasov	<i>S. juzepczukil</i>	<i>S. juzepczukil</i>	Grupo Juzepczukil	
	<i>S. juzepczukil</i> Bukasov					
	<i>S. mamilliferum</i> Juz. y Bukasov					
	<i>S. tenuilamentum</i> Juz. y Bukasov					
4x	<i>S.tuberosum</i> Grupo Andígena	<i>S. andigenum</i> Juz. y Bukasov	<i>S.tuberosum</i> <i>ssp. andigena</i>	<i>S.tuberosum</i> <i>ssp. andigena</i>	Grupo Andígena	<i>S.tuberosum</i> Grupo Andígena
	Grupo Tuberosum	<i>S. molinae</i> Juz.	<i>ssp. Tuberosum</i>	<i>ssp. Tuberosum</i>	Grupo Chilotanum	Grupo Chilotanum
		<i>S. leptostigma</i> Juz.				
		<i>S. tuberosum</i> L.				
				<i>S. hygrothermicum</i>		
5x	<i>S. curtilobum</i>	<i>S. curtilobum</i> Juz. y Bukasov	<i>S. curtilobum</i>	<i>S. curtilobum</i>	Grupo Curtilovum	<i>S. Curtilovum</i>

Fuente: (Rodríguez, 2006)

## **2.2 Producción de papa**

La proporción de producción de papas por región registradas entre el año 2014 y 2016 es de: Europa 31.6%, Oceanía 0.4%, África 6,7%, Américas 11.3%, Asia 50% (FAOSTAT, 2017). En América del sur el área cosechada de papas es de 911.999 ha , con una producción de 15.502.969 toneladas en el 2016 (FAOSTAT, 2017). El cultivo de papa se encuentra dentro de las principales actividades agrícolas realizadas en la sierra andina del Ecuador, debido a su importancia en la dieta de los ecuatorianos y participación económico social en la generación de ingresos para las familias productoras (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2018).

A nivel nacional, la superficie de siembra es de 32.188 ha, cosecha de 29.532 ha, y la producción de 377.243 t y se venden 343.765 (INEC, 2017). Durante el ciclo productivo del año 2017, a través del levantamiento y análisis de información, indican que el rendimiento objetivo promedio nacional de papa fue de 18.92 t/ha. Sucumbíos, Tungurahua, Carchi y Chimborazo, se ubicaron como las zonas productoras con mayor rendimiento en esta época, superando el promedio nacional en 11, 6.8, 2.9 y 0.3 Tm/ha respectivamente (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2018).

## **2.3 Composición nutricional de la papa**

Químicamente, el tubérculo de papa es de: 72-75% agua, 16-20% almidón, 2-2.5% proteína, 1-1.8% fibra, 0.15% ácidos grasos (Peña, 2015). En la composición de la papa se destaca el contenido en hidratos de carbono, mayoritariamente en forma de almidón y una pequeña proporción como glucosa, fructosa y sacarosa (Moreira, 2013) (**Tabla 2**).

Tabla 2

*Composición nutricional de la papa con respecto a gramo comestible*

	<b>Por 100 g de porción comestible</b>	<b>Por ración (170 g)</b>
Energía (Kcal)	88 135	88 135
Proteínas (g)	2.5	3.8
Lípidos totales (g)	0.2	0.3
AG saturados (g)	0.04	0.06
AG monoinsaturados (g)	0.01	0.02
AG monoinsaturados (g)	0.12	0.18
v-3 (g)*	0.027	0.041
C18:2 Linoleico (v-6) (g)	0.09	0.138
Colesterol (mg/1000 kcal)	0	0
Hidratos de carbono (g)	18	27.5
Fibra (g)	2	3.1
Agua (g)	77.3	118
Calcio (mg)	9	13.8
Hierro (mg)	0.6	0.9
Yodo (µg)	3	4.6
Magnesio (mg)	25	38.3
Zinc (mg)	0.3	0.5
Sodio (mg)	7	10.7
Potasio (mg)	570	872
Fósforo (mg)	50	76.5
Selenio (µg)	1	1.5
Tiamina (mg)	0.1	0.15
Riboflavina (mg) Equivalentes niacina	0.04	0.06
(mg) Vitamina B6 (mg)	1.5	2.3
Folatos (µg)	0.25	0.38
Vitamina B12 (µg)	12	18.4
Vitamina C (mg) 60 60 Vitamina A:	0	0
Eq. Retinol (µg) Vitamina D (µg)	18	27.5
Vitamina E (mg)	0	0
	0	0
	0.1	0.2

Fuente: (Moreira, 2013)

## 2.4 Enfermedades que afectan a la papa

Existe una amplia gama de enfermedades que afectan tanto a planta como al tubérculo de papa. Los patógenos que provocan las numerosas patologías, por lo general están presentes en suelo o contenidos en semilla (Castro, 2011). Este cultivo es atacado por un grupo importante de hongos, bacterias y virus, que afectan diferentes órganos de la planta y, por ende, su rendimiento. Algunos ejemplos de agentes patógenos se muestran en la **Tabla 3**.

Tabla 3

*Agentes patógenos que afectan a cultivos de papa*

Patógeno	Etapa de infección	Vía de infección
<b>Virus</b> Virus PLRV enrollamiento de hojas Virus del mosaico rugoso Virus del mosaico latente Virus del enrollamiento de venas	Inicio de floración e inicio de tuberización	Semilla infectada, vectores (áfidos pulgones o moscas)
<b>Bacteria</b> <i>Pectobacterium</i> spp (Pie negro) <i>Streptomyces scabies</i> (Sarna común)	Inicio de floración e inicio de tuberización Engrose	Semilla infectada, vectores (áfidos pulgones o moscas), herramientas contaminadas Semilla infectada, vectores (áfidos pulgones o moscas), herramientas contaminadas
<b>Hongo</b> <i>Puccinia pittierina</i> (Roya)	Final de floración y final de tuberización	
<i>Rhizoctonia solani</i> (Costa negra) <i>Rosellina</i> sp. (Lanosa) <i>Spongospora subterranea</i> (Sarna polvorienta) <i>Fusarium</i> sp. (Pudrición seca) <i>Phytophthora infestans</i> (Tizón tardío)	Engrose	Agua contaminada, contaminación cruzada, semilla contaminada

Fuente: (Mora et al., 2011)

## 2.5 Género *Fusarium*

Es un grupo de hongos filamentosos ampliamente distribuidos en suelo y plantas. Debido a su capacidad de crecer a 37°C, son considerados oportunistas (Tapia y Amaro, 2014). Dentro del género: *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. fujikuroi*, y *F. graminearum*, son especies representativas en patogenicidad en plantas (Arie, 2019).

*Fusarium* sp. es un patógeno facultativo con alta capacidad de sobrevivir en materia orgánica, ataca la planta cuando esta sufre algún tipo de desbalance (Blanco, 2018). Superficies con cortes o daños, raíces jóvenes, son algunas de las zonas por las que ingresa el hongo y provoca enfermedades, muchas especies de *Fusarium* sp. causan

podrición seca en papa, afectando no solo calidad del tubérculo, sino también acumulación de micotoxinas perjudiciales para el consumidor (Xue et al., 2019).

### 2.5.1 *Fusarium* en cultivo de papa

Afecta más de 80 cultivos de importancia comercial, como: papa, tomate, cebolla, cucurbitáceas, pimiento, chiles picantes, etc. (BAYER, 2017). En la siguiente **Tabla 4** se resume los síntomas y condiciones de proliferación de las enfermedades causadas por este hongo.

Tabla 4

*Enfermedades producidas por Fusarium y medidas de control*

Tipo	Enfermedad	Síntomas	Condiciones de proliferación	Medidas de manejo
<i>F. oxysporum</i>	Marchitez	Amarilleamiento de hojas.	Plántulas infectadas.	Rotación de cultivo.
		Menor desarrollo de la planta.	Suelos con pH ácido y textura arenosa.	Tratamientos de suelo.
<i>F. solani</i>	Podrición en la base del tallo	Crecimiento retardado.	Humedad	Uso de variedades con resistencia genética.
		Necrosis en raíces principales y secundarias.	Humedad, temperatura a 20°C.	Rotación de cultivo.
<i>Fusarium</i> sp.	Podrición seca	Manchas sobre el tubérculo.	Humedad	Evitar daños durante la cosecha.
		Tubérculo reducido a pasa.	Semillas infectadas.	Desinfectar lugares y semillas en almacenamiento.

Fuente: (Castro, 2011), (BAYER, 2017)

### 2.6 Métodos de control para plagas y enfermedades en papa

Controlar plagas y enfermedades es un gran reto que deben enfrentar los agricultores, debido a la diversidad de plagas que afectan los cultivos de papa (FAO, 2008a). Existen diferentes métodos para manejar enfermedades en plantaciones, estos descritos por el manejo integrado de plagas (MIP) permitiendo mantener un índice bajo de incidencia de enfermedades y plagas lo que resulta económicamente aceptable (MIP, 2015). En la **Tabla 5**, se muestran algunos controles descritos por el MIP tanto para técnicos, como para agricultores.



Tabla 5

*Tipos de controles para plantaciones y semillas*

Tipo de control	Insumo	Ventajas	Desventajas
Químico	Fosetil de aluminio Metalaxyl	Eliminación rápida de plagas	No selectivo Contaminante Costoso Toxico
	MZ 72 WP (Mancozeb acción sistémica)		
Físico	Secado de tubérculos y libres de enfermedad	Controla las enfermedades	No elimina Poca duración
	Desinfección del suelo por solarización a 15 cm de profundidad		
	Rotación de cultivos		
Biológico	Evitar sobresaturación de agua de riego	Selectivo No contaminante Bajo costo de inversión Productos sanos No tóxicos	Abundante producto Poco tiempo de duración Requiere de abundantes aplicaciones
	<i>Trichodermas</i> spp.		
	<i>Gliocladium</i> spp.		
	<i>Bacillus</i>		
	<i>Pseudomona fluorescens</i>		
	<i>Pseudomona siringae</i>		
	<i>Streptomyces griseoviridis</i>		
<i>Agrobacterium</i>			
	Inhibición de crecimiento de patógenos utilizando proteína residual		

Fuente: (MIP, 2015)

Por su parte, el control biológico usa los diferentes mecanismos de acción de los microorganismos, tales como: excreción de antibióticos, toxinas, sideróforos, enzimas líticas e inducción de la resistencia sistémica (Villarreal-Delgado et al., 2018). Los aislados bacterianos, son ampliamente usados para el control biológico de enfermedades fúngicas de plantas (Ahmed, 2017).

También, las plantas pueden producir gran cantidad de compuestos bioactivos que son usados en tratamientos de enfermedades (Altemimi, Lakhssassi, Baharlouei, Watson, y Lightfoot, 2017). Pueden obtenerse de diferentes estructuras como: hojas, semillas, tallos y cáscaras de vainas (Saucedo-Pompa et al., 2018).

## 2.7 Propiedades biológicas de proteína de papa

Por calidad nutricional, la proteína de papa ha demostrado ser superior a proteínas de otros vegetales (Dong, Hua, y Hong-nan, 2017). Existen tres principales grupos de proteínas del tubérculo: glicoproteína (40 kDa), proteínas complejas (22 kDa), inhibidores de proteinasa patatín. Estas últimas representa hasta el 40% de proteína soluble en papa (Ralet y Guéguen, 2000). Además, presenta un valor biológico superior a los cereales, esto debido a su mayor contenido de lisina (FAO, 2016) (**Tabla 6**).

Tabla 6

*Propiedades biológicas de las proteínas de papa*

Actividad biológica	Ejemplo	Referencia
<b>Homeostasis</b>	Homeostasis entre ácidos grasos saturados y ácidos grasos insaturados, importante en la aclimatación de las plantas al frío.	(Koningsveld, 2001)
<b>Desarrollo</b>	Asociadas a los microtúbulos, regulan el desarrollo de células y órganos de las plantas.	(Liu et al., 2013)
<b>Inhibitoria</b>	Actividades inhibitorias ante patógenos de la tripsina.	(Bártová et al., 2018)
<b>Enzimática</b>	Patatin exhibe actividad enzimática.	(Andrews et al., 1988)
<b>Hormonal</b>	Serina / treonina proteína fosfatasa tipo 2A (PP2A) están implicadas respuestas hormonales de plantas.	(Muñiz García et al., 2017)
<b>Mecánicas, térmicas</b>	Proteína de papa se usa en diferentes compuestos de polímeros. Aplicación como relleno, mejoran las propiedades mecánicas, térmicas y físicas de los RPUFs.	(Członka Sylwia et al., 2018)

## 2.8 Métodos de recuperación de proteínas

### 2.8.1 Extracción con sales

Este proceso, involucra la precipitación de proteínas con una solución salina diluida y posteriormente la recuperación se realiza por centrifugación o filtración seguido de un secado (Alvarado, 2014). Así pues, una de las sales usadas para precipitación de proteínas es  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , demostrando que con éste método se obtiene proteínas de pureza baja (Nitsawang, Hatti-Kaul, y Kanasawud, 2006). Además, en la **Tabla 7** se describen sales metálicas usadas para precipitar proteínas.

### 2.8.2 Precipitación con solventes

Es la aplicación de disolventes con diferentes polaridades: metanol, etanol, acetona y etilo, también como disolventes puros: etanol: acetona (1: 1 v / v) como mezcla solvente con polaridad intermedia (Grossmann, Ebert, Hinrichs, y Weiss, 2018). Al mismo tiempo se ajusta el pH a 3.5 utilizando una solución de HCl 6N para eludir los compuestos de fósforo, mientras que el sobrenadante se ajusta a pH 7.5 con NaOH 6N (Watanabe, Maeda, Koyama, Nakamura, y Sasano, 2015). En la **Tabla 7**, se muestran algunos disolventes orgánicos usados para la precipitación.

### 2.8.3 Coagulación por calor y precipitación ácida

La solubilización-precipitación isoeléctrica (ISP) permite la recuperación de proteínas de una variedad de fuentes, pueden ser vegetales y animales (Álvarez et al.,

2018). Autores como Dabestani, A, y Ch (2017), indican que se acidifica las muestras usando HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, donde el pH debe estar en un rango de 5.42 para luego ser sometidas a temperaturas que permitan su precipitación. Adicionalmente, la **Tabla 7** indica una visión general de algunos de los métodos para recuperación de proteínas de papa (Salomons, 2001).

Tabla 7

*Resumen de métodos para recuperación de proteínas*

Método	Condiciones	Referencia
Coagulación por calor y precipitación ácida	Inyección de vapor a 104-121°C, alternativamente intercambiador de calor a 80-95°C.  Sin ajuste de pH (5.6-5.9). Centrifugación o decantación. Ajuste a pH 3-4 con ácidos minerales (HCl, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ) o ácido cítrico, seguido de calentamiento a 80-90°C. Centrifugación o decantación.	Strolle et al. 1973; Meister et al. 1976; Knorr et al. 1977; Rosenau et al. 1978; Knorr 1980; Knorr 1982;
Precipitación con sal metálica	Adición de FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O, ZnCl <sub>2</sub> , Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> para alcanzar un pH ácido (3-5).  Precipitación a temperatura ambiente o frío. Lavado de pellet.	Kemmekroonsberg et al. 1997; van Koningsveld et al. 2001; Ausich et al. 2003; Bárta et al. 2008 van Koningsveld et al. 2001; Bárta et al. 2008
Precipitación con disolventes orgánicos	Concentración final del 20% de etanol absoluto, metanol, acetona o isopropanol. Incubación ~ 1 hora, temperatura ambiente o frío (0 o 4°C), pH 5.0. Lavado de pellet.	Ryan et al. 1999; van Koningsveld et al. 2002; van Koningsveld et al. 2002; van Koningsveld et al. 2006; Bárta et al. 2008
CMC complejación	Carboximetilcelulosa; 0.1-0.15 g/g de proteína, pH 2.5 o 4.5.	Wojnowska et al. 1981; Gonzalez et al. 1991; Vikelouda et al. 2004
Separación por membrana	Concentración 5-10X por UF o RO; retención de proteínas utilizando valores de corte de peso molecular en el rango de 3-150 kDa; Membranas de acetato de celulosa, polietersulfona, poliacrilonitrilo, diversos soportes.	Eriksson et al. 1976; Oosten 1976; Wojnowska et al. 1981; Boruch et al. 1989; Edens et al. 1997; Ruffer et al. 1997; Zwijnenberg et al. 2002; Giuseppin et al. 2008
Cromatografía de adsorción de lecho expandido EBA	Cromatografía en lecho expandido; adsorción de proteínas del jugo crudo.  pH 7.5 (patatin) o 4.5-4.8 (proteína total), elución a pH 10-12 o pH 6.0. Caudales 150-600 cm/h	Strætkvern et al. 1999; Strætkvern et al. 2002; Strætkvern et al. 2005; Claussen et al. 2007; Giuseppin et al. 2008

## 2.9 MARCO LEGAL

### Constitución de la República del Ecuador 2008

#### Se considera:

El trabajo de investigación está enmarcado dentro del ámbito, Social, Económico, Alimenticio, Cambio de la matriz productiva del país y los objetivos de desarrollo

sostenible. De los principios fundamentales de la Constitución de la República del Ecuador el Art.3 de los deberes primordiales del Estado el numeral 3 indica defender el patrimonio natural y cultural del país y proteger el medio ambiente. Los derechos civiles el Art. 23 el estado reconoce y garantiza en el numeral 6 el derecho a vivir en un ambiente sano, ecológicamente equilibrado y libre de contaminación. Art. 25.- Las personas tienen derecho a gozar de los beneficios y aplicaciones del progreso científico y de los saberes ancestrales. (Política La República Del Ecuador El Pueblo Del Ecuador, 2008).

De la salud Art. 42 menciona que el estado garantizará el derecho a la salud, su promoción y protección, por medio del desarrollo de la seguridad alimentaria, la provisión de agua potable y saneamiento básico, el fomento de ambientes saludables en lo familiar, laboral y comunitario, y la posibilidad de acceso permanente e ininterrumpido a servicios de salud, conforme a los principios de equidad, universalidad, solidaridad, calidad y eficiencia 2/ Ibidem. De igual manera, este trabajo se enfoca en los objetivos del Desarrollo Sostenible, los cuales abarca: promover una agricultura y producción sostenible, fomentar el crecimiento económico, promover la industrialización inclusiva, proteger los ecosistemas (Latinoamericano, 2018).

Del medio ambiente Art. 86, numeral 2, la prevención de la contaminación ambiental, la recuperación de los espacios naturales degradados, el manejo sustentable de los recursos naturales y los requisitos que para estos fines deberán cumplir las actividades públicas y privadas. Los deberes y responsabilidades Art. 97 numeral 16. Preservar el medio ambiente sano y utilizar los recursos naturales de modo sustentable 3/ Ibidem.

Del régimen agropecuario Art. 267.- El Estado garantizará la propiedad de la tierra en producción y estimulará a la empresa agrícola. El sector público deberá crear y mantener la infraestructura necesaria para el fomento de la producción agropecuaria. Tomará las medidas necesarias para erradicar la pobreza rural, garantizando a través de medidas redistributivas, el acceso de los pobres a los recursos productivos. Se estimulará la producción comunitaria y cooperativa, mediante la integración de unidades de producción. Regulará la colonización dirigida y espontánea, con el propósito de mejorar la condición de vida del campesino y fortalecer las fronteras vivas del país, precautelando los recursos naturales y el medio ambiente 4/ Ibidem.

## CAPÍTULO III

### 3 METODOLOGÍA

En el presente capítulo se detallan las diferentes metodologías y materiales usados para la extracción, cuantificación y pruebas biológicas de proteína residual de papa.

#### 3.2.1 Descripción del área de estudio

##### Ubicación Política

El área de estudio se encuentra en la comunidad El Chamizo, sector El Dorado, cantón Montúfar, provincia del Carchi al Norte del Ecuador 585992.9, 191744.1 Este, a 2940 msnm (**Figura 1**). El proyecto tuvo una fase de muestreo y una experimental, la primera se realizó por conveniencia, debido, a la necesidad de rescatar variedades de papa genéticamente conservada.

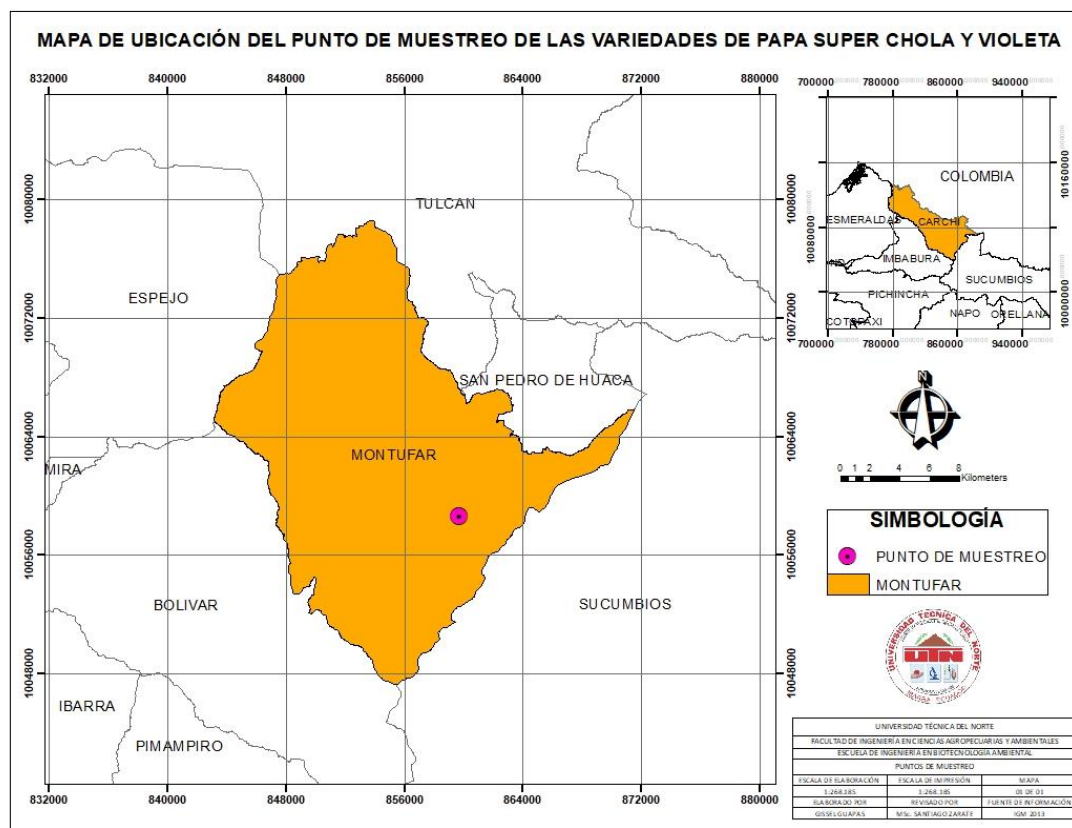


Figura 1 Mapa de ubicación de área de muestreo

Por otra parte, la fase experimental se llevó a cabo en el Laboratorio de Cultivo Vegetal del campus San Vicente de Paúl de la Universidad Técnica del Norte, ubicado en

la ciudad de Ibarra en la parroquia San Francisco. El análisis proximal en el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuaria (INIAP) estación experimental Santa Catalina en el departamento de Nutrición y Calidad, Laboratorio de Servicio y Análisis e Investigación en Alimentos.

Mientras que el ensayo de cuantificación por Ácido bicinconínico (BCA) o ensayo basado en cobre y electroforesis vertical SDS-PAGE se lo realizó en el laboratorio de Inmunología y virología (LABIV) de la Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE.

### **3.3 Material biológico**

Se seleccionaron dos variedades de papas, una comercial denominada Súper Chola (*S. tuberosum*) y otra genéticamente conservada, Violeta (*S. tuberosum* Vitelotte). Se recolectaron cuatro tubérculos maduros de aproximadamente 50 g, estos fueron colocadas en fundas plásticas herméticamente sellada sin retirar la tierra. Con esta primera muestra se realizaron ensayos piloto, mientras que el resto de la muestra se mantuvo bajo tierra durante 60 días después de la cosecha del lote para mantener sus cualidades organolépticas y evitar el ataque de plagas. Posteriormente, los tubérculos fueron conservados en bodega a temperatura ambiente.

Por otro lado, el hongo *Fusarium* sp. usado para probar las pruebas de actividad antagonista de la proteína, se lo obtuvo del cepario de microorganismos del laboratorio de Biotecnología Aplicada de la Universidad Técnica del Norte. El hongo se mantuvo a una temperatura de 4°C.

### **3.4 Análisis proximal**

Se determinaron el contenido de humedad, proteína, lípidos, extracto etéreo, ceniza y extracto libre de nitrógeno en las muestras siguiendo la metodología descrita por Horwitz (1991). Cada muestra analizada fue de al menos 100 g de materia seca.

### **3.5 Obtención de almidón**

La extracción de almidón, se realizó mediante el método húmedo (decantación natural) descrito por Morales (2012). Se trabajó con aproximadamente 160 g de papa total de las dos variedades. Las muestras fueron lavadas con agua potable para retirar

contaminantes superficiales. Posteriormente, se retiró la cáscara del fruto para obtener la pulpa libre, luego se procedió a rallar la papa con los agujeros de 3 mm de un rallador (Hernández et al., 2008) (**Anexo 1**).

La pulpa fue separada del agua con una malla plástica de aproximadamente 0.5 mm de diámetro de poro. Los filtrados, se colocaron en vasos de precipitación de 250 ml. Se añadieron 80 ml de agua destilada para lavar la pulpa y obtener la mayor cantidad de almidón, los extractos se mantuvieron en reposo durante 2 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, se retiraron con cuidado el jugo de papa (JGP) de cada una de las variedades por separado, evitando que las partículas de almidón salgan nuevamente con el jugo. El extracto retirado fue colocado en probetas de 250 ml para de esta manera medir la cantidad de agua extraída de cada una de las variedades.

Para obtener un almidón limpio, se resuspendió en 20 ml de agua destilada por dos horas a una temperatura de 22°C. Pasado este tiempo todo el líquido fue removido hacia la probeta que contenía la muestra anterior, formando una muestra homogénea de JGP total (Morales,2012). En cada etapa del proceso se pesaron los fraccionados de la papa (pulpa, almidón húmedo, almidón seco), se midieron volúmenes de JGP, para posteriores cálculos de balance de masa y rendimientos. Se conservaron los aproximadamente 143 ml de JGP de cada variedad para realizar la extracción de proteína.

Para determinar diferencias significativas en los rendimientos de almidón de las diferentes variedades, se realizó una prueba de t de Student para muestras independientes con significancia de 0.05.

### **3.6 Extracción de proteína soluble de papa**

Para la extracción de proteína, se tomó como guía el protocolo de Bártová et al., (2018). A partir de una alícuota de 90 ml de JGP en vasos de precipitación de 100 ml de cada variedad. Se ajustó a un pH de 4 utilizando H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0.5M). Seguidamente, se colocaron 30 ml de cada muestra en un tubo falcon de 50 ml, para centrifugarlas durante 15 min, 1600 G, 4°C (Thermo Fisher). Posteriormente, el almidón fue retenido por filtración a través de un filtro Whatman de 3 a 12 µm (MN 615) con bomba de vacío (Rocker 410).

A continuación, los filtrados fueron sometidos a tratamiento térmico para la obtención de proteína térmicamente estable. Para esto se colocaron las muestras en baño maría (Memmert WNB 7) durante 10 minutos para las temperaturas T1=50°C, T2=75°C, mientras que para la temperatura tres T3=100°C se colocaron los tubos sumergidos en agua en estado de ebullición. Finalizado el tratamiento térmico, se realizó una segunda centrifugación por 20 min, 3600 G, 20°C, con el fin de precipitar la proteína desnaturalizada. Las muestras se almacenaron en alícuotas de 15 ml a -20°C, para posteriores pruebas (**Anexo 2**).

### **3.7 Fraccionamiento de proteínas post tratamiento termico**

Los sobrenadantes concentrados de proteína de las diferentes variedades de papa se sometieron a diálisis contra agua destilada en un cassette con membrana de corte (M) (Thermo SCIENTIFIC; Slide-A-Lyzer™ G2 Dialysis Cassette, 87735) de 20 kDa. Para ello se hidrató cada uno en agua destilada estéril durante 2 minutos en vasos de precipitación de 200 ml. Posteriormente, fueron removidos del agua para agregar 3 ml de muestra de proteína de cada tratamiento por variedad (Fisher, 2014).

Una vez distribuida la muestra, se colocaron los cassettes (individualmente) en los vasos de precipitación con el agua destilada auto clavada durante 4 horas a temperatura ambiente. Seguidamente, las muestras se mantuvieron en diálisis durante 48 horas más a 4 °C. Finalmente, se extrajeron las proteínas tanto del dialisato como del interior del cassette de diálisis, para conservarlas a -20 °C y sus análisis posteriores.

### **3.8 Cuantificación de proteína por colorimetría**

La cuantificación de proteína en todo el ensayo se realizó por el método de Bradford utilizando el kit de ensayo (Bio Basic Inc, Better Bradford Protein Assay Kit, SK 3041.), siguiendo las instrucciones de la casa comercial. Para establecer la curva de calibración se utilizaron diluciones seriadas de albúmina de suero bovino (BSA). Para el análisis se tomó un volumen final de 100 µl de cada muestra de proteína de papa: JDP, tratamientos térmicos y diálisis de las diferentes variedades utilizadas en este estudio. Posteriormente se añadieron 1000 µL de reactivo Bradford a cada muestra para incubarlas a temperatura ambiente durante 10 minutos. La reacción fue valorada mediante espectrofotometría con una absorbancia de 595 nm (Rossi et al., 2014).



### 3.9 Electroforesis vertical SDS-PAGE de las fracciones proteicas

Para identificar el perfil de proteínas en función del peso molecular procedente de cada tratamiento por variedad evaluada se procedió a analizar a través de una electroforesis vertical de SDS-PAGE (Menard, 2002), realizada en colaboración con el laboratorio LABIV-ESPE.

### 3.10 Evaluación de la actividad antifúngica de las fracciones proteicas

La actividad antifúngica se determinó colocando la proteína directamente en el medio de cultivo con tres repeticiones por tratamiento (**Tabla 8**). Se preparó medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) (Difco<sup>TM</sup> Potato Dextrose Agar) adicionando 1 ml de muestra de proteína filtrada (MF-Millipore<sup>TM</sup> 0.22  $\mu$ m) para cada uno de los tratamientos realizados. Se distribuyó 10 ml de medio de cultivo que contenía la proteína en cajas de Petri estériles de (60 x 15 mm) y se procedió a inocular el hongo en el centro de las cajas.

Para el análisis de inhibición se procedió a dividir las cajas preparadas con medio en cuatro cuadrantes (**Figura 2**) destacando las coordenadas x e y. Posteriormente, se inocula *Fusarium* sp en la coordenada 0.0 con capilar. Las placas se incubaron a 26°C (MEMMERT Tv 400). Se midió el crecimiento radial (Vernier Digital Caliper 0-150 mm) durante 5 días en intervalos de 24 h.

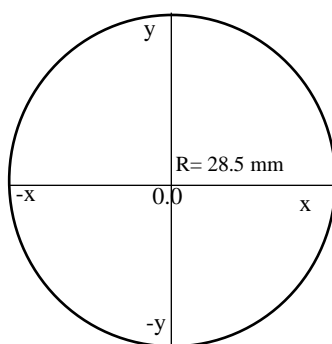


Figura 2 Caja de Petri dividida en ejes para pruebas inhibitorias

### 3.11 Análisis estadístico de datos

Para establecer diferencias significativas se aplicaron pruebas de estadística paramétricas como t de student para muestras independientes en el caso del análisis de contenido de almidón. Se aplicó análisis de varianza (ANOVA) ajustado a un diseño de

bloques completos al azar (DBCA) para los contenidos proteicos y pruebas de inhibición. En el caso de los contenidos proteicos, se ajustó a un modelo factorial AxB, donde, el primer factor fue variedad (A) y como segundo factor la temperatura de extracción (B) (**Anexo 3**). Por otra parte, para las pruebas de inhibición, se ajustó a un modelo factorial AxBxC, donde, el primer factor pertenece a variedad (A), el segundo factorial es la temperatura de extracción (B) y finalmente el tercer factor que es el tipo de proteína (C). Se comprobó los supuestos de independencia, normalidad y homogeneidad de varianzas. La independencia se asume debido al diseño del experimento, la normalidad fue evaluada mediante la prueba de Shapiro Wilk y la homogeneidad mediante la prueba de Levene (**Anexo 5** y **Anexo 6**). Adicionalmente, se aplicaron pruebas de significancia Tukey (5%) en todas las fuentes de variación que resultaron significativas después de la realización del ANOVA con un  $p \leq 0.5$ . Utilizando el programa IBM SPSS Statics 22.

Tabla 8

*Niveles de los factores y tratamientos*

<b>Tratamiento</b>	<b>Código</b>	<b>Significado</b>
<b>1</b>	SPT1	Súper Chola + 50 °C
<b>2</b>	SPT2	Súper Chola + 75 °C
<b>3</b>	SPT3	Súper Chola + 100 °C
<b>4</b>	VT1	Violeta + 50 °C
<b>5</b>	VT2	Violeta + 75 °C
<b>6</b>	VT3	Violeta + 100 °C
<b>7</b>	SPT1 $\geq$ 20 kDa	Súper Chola + 50 °C + Retenida ( $\geq$ 20 kDa)
<b>8</b>	SPT2 $\geq$ 20 kDa	Súper Chola + 75 °C + Retenida ( $\geq$ 20 kDa)
<b>9</b>	SPT3 $\geq$ 20 kDa	Súper Chola + 100 °C + Retenida ( $\geq$ 20 kDa)
<b>10</b>	VT1 $\geq$ 20 kDa	Violeta + 50 °C + Retenida ( $\geq$ 20 kDa)
<b>11</b>	VT2 $\geq$ 20 kDa	Violeta + 75 °C + Retenida ( $\geq$ 20 kDa)
<b>12</b>	VT3 $\geq$ 20 kDa	Violeta + 100 °C + Retenida ( $\geq$ 20 kDa)
<b>13</b>	SPT1 $<$ 20 kDa	Súper Chola + 50 °C + Filtrada ( $<$ 20 kDa)
<b>14</b>	SPT2 $<$ 20 kDa	Súper Chola + 75 °C + Filtrada ( $<$ 20 kDa)
<b>15</b>	SPT3 $<$ 20 kDa	Súper Chola + 100 °C + Filtrada ( $<$ 20 kDa)
<b>16</b>	VT1 $<$ 20 kDa	Violeta + 50 °C + Filtrada ( $<$ 20 kDa)
<b>17</b>	VT2 $<$ 20 kDa	Violeta + 75 °C + Filtrada ( $<$ 20 kDa)
<b>18</b>	VT3 $<$ 20 kDa	Violeta + 100 °C + Filtrada ( $<$ 20 kDa)

## CAPÍTULO IV

### 4 RESULTADOS

El presente capítulo detalla los resultados obtenidos en la caracterización elemental, rendimientos de almidón y proteína, así como también la actividad inhibitoria de los extractos proteicos obtenidos mediante tratamiento térmico.

#### 4.2 Análisis proximal

Los niveles de proteína obtenidos para pulpa de papa en base seca son similares entre variedades (**Anexo 7**). Se reflejan valores semejantes de proteína en pulpa de Súper Chola y en Violeta con 0.124 y 0.108 g/g respectivamente (**Tabla 9**). El contenido de fibra tanto para cáscara, como para pulpa se aproximan entre variedades.

Tabla 9

*Composición proximal (g/g) de las variedades (base seca)*

Parámetro	Súper Chola		Violeta	
	Pulpa	Cáscara	Pulpa	Cáscara
Humedad (g/g)	0.761	0.771	0.790	0.830
Proteína (g/g)	0.124	0.108	0.135	0.121
Fibra (g/g)	0.047	0.020	0.046	0.022

#### 4.3 Composición del extracto de pulpa de papa

La prueba t de Student para la variable almidón reportó que no existen diferencias significativas ( $t = -0.383$ ;  $gl = 4$ ;  $p = 0.673$ ) (**Anexo 8**). Súper Chola presentó un contenido de 13.84 g DW y Violeta 11.46 g DW para almidón. El rendimiento obtenido en esta variable reportó que Super Chola tuvo 0.44 g DW/g DW pulpa, mientras que de Violeta fue 0.41 g DW almidón/g DW pulpa.

Por otra parte, la cantidad de proteína soluble en el JDP fue para Súper Chola de 3.58 g y Violeta de 2.24 g. (

**Anexo 9**). Las variedades evaluadas mostraron un rendimiento de proteína contenida en el jugo (g proteína total JDP/g proteína DW pulpa) de 0.95, 0.62, para Súper Chola y Violeta, respectivamente. Además, es relevante mencionar que los extractos de

JDP mostraron diferentes coloraciones, donde Súper Chola reveló un color amarillo diferente a Violeta quien expresó un color rojo naranja.

#### 4.4 Caracterización de las fracciones proteicas post tratamiento térmico

Se encontraron diferencias significativas en el contenido proteico para el factor temperatura ( $F=143.82$ ;  $gl= 2, 10$ ;  $p\leq 0.001$ ) y para la interacción variedad y temperaturas ( $F=11.09$ ;  $gl= 2, 10$ ;  $p=0.003$ ) (**Anexo 10**). La prueba de Tukey (5%) resultó en tres rangos de significancia, en el primer nivel se ubicó Súper Chola con extracción a 50°C (8.6 mg), por otra parte, al final se ubicó Súper Chola con extracción a 100°C (4.6 mg) (**Figura 3**).

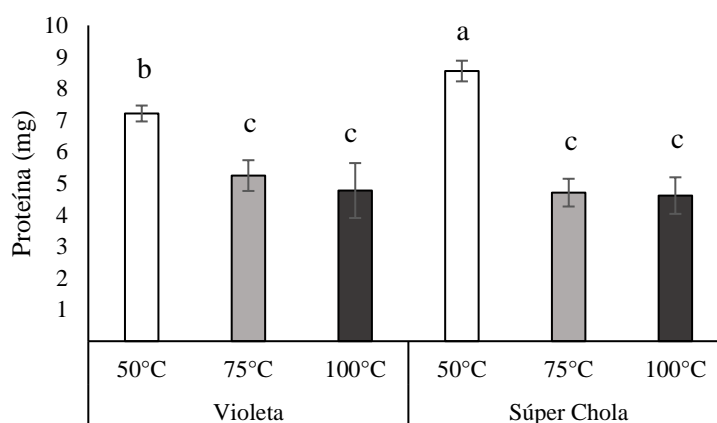
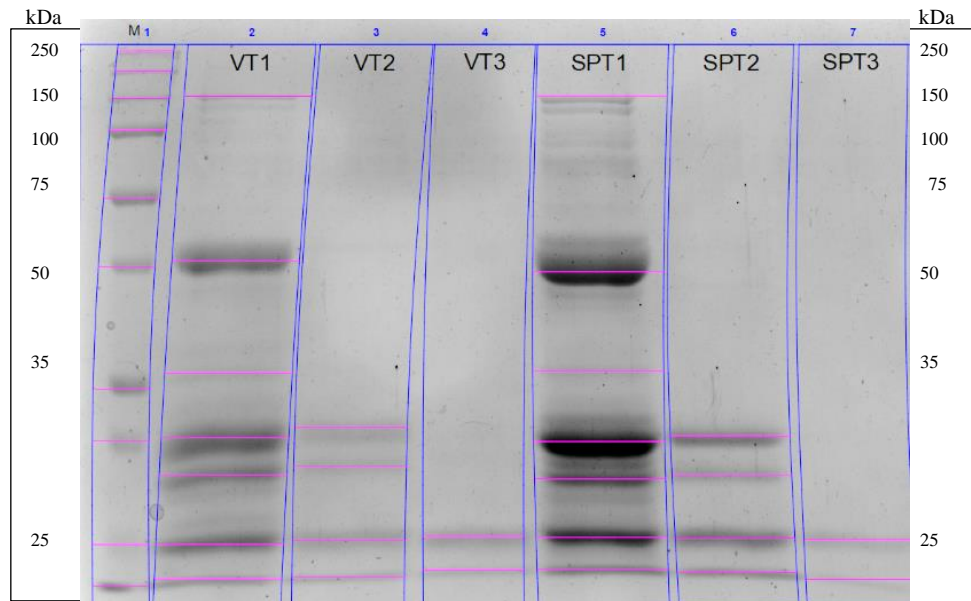


Figura 3 Contenido de proteína (mg) por tratamiento térmico y variedad

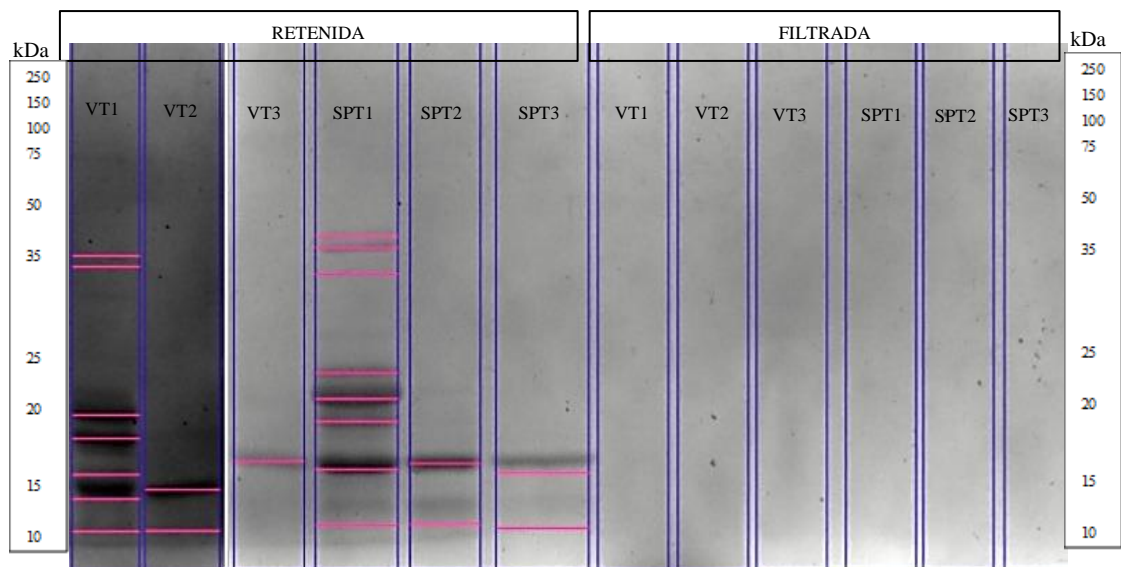
Mediante el análisis de electroforesis vertical SDS-PAGE se determinó que el método de extracción a 50°C obtuvo proteínas en un rango de 10 hasta 100 kDa para las dos variedades. Por otra parte, el método a 75°C extrajo proteínas en rangos de 10 hasta 25 kDa. Finalmente, la extracción a 100°C generó un rango de proteínas de 10 a 15 kDa (**Figura 4**).

Adicionalmente, se observaron perfiles proteicos de 15, 20, 35 kDa para Súper Chola a 50°C reflejando una mayor concentración de proteína en comparación con Violeta a la misma temperatura. Cabe mencionar que a 100°C no se observan bandas correspondientes a proteínas sobre los 15 kDa. (**Figura 4**).



*Figura 4* SDS-PAGE de proteínas de Súper Chola y Violeta. Violeta a temperatura de 50°C (VT1), Violeta 75°C (VT2), Violeta 100°C (VT3), Súper Chola 50°C (SPT1), Súper Chola 75°C (SPT2), Súper Chola 100°C (SPT3).

Las muestras de proteína retenida en la membrana (>20 kDa), en el gel reveló que Violeta a 50°C mostró proteínas de 35 hasta 25 kDa, mientras que a 75°C indicó proteínas de 15 y 10 kDa; y a 100°C únicamente presentó proteínas de 15 kDa. Las muestras de Súper Chola a 50°C dentro de la membrana revelaron proteínas de 35 hasta 10 kDa; las obtenidas a 75-100°C marcaron proteínas de 15 y 10 kDa. Por otra parte, el filtrado de JDP (<20 kDa) no reveló presencia de proteínas **Figura 5**.



*Figura 5* SDS-PAGE proteínas de papa filtradas con membrana. Violeta (V), temperatura (T), Súper Chola (SP).

#### 4.5 Análisis de la actividad antifúngica de las fracciones proteicas post tratamiento térmico

La actividad antifúngica de las fracciones proteicas de Súper Chola en los días evaluados presentó actividad lineal, donde, hasta el tercer día tenía un crecimiento lento para luego mostrar una pendiente más pronunciada como se indica en la **Figura 6 A**. Caso diferente a la actividad de la variedad Violeta, que presentó un crecimiento exponencial hasta el día 3 para luego estabilizarse entre el día 3 y 4 **Figura 6 B**. Las tres variables seleccionadas (variedad, tiempo y tipo de proteína) poseen coeficientes de regresión parcial significativos (**Anexo 11**) ( $R^2 = .83$ ,  $p \leq 0.001$ ) para la variable tiempo siendo esta la que más se relaciona a la ecuación.

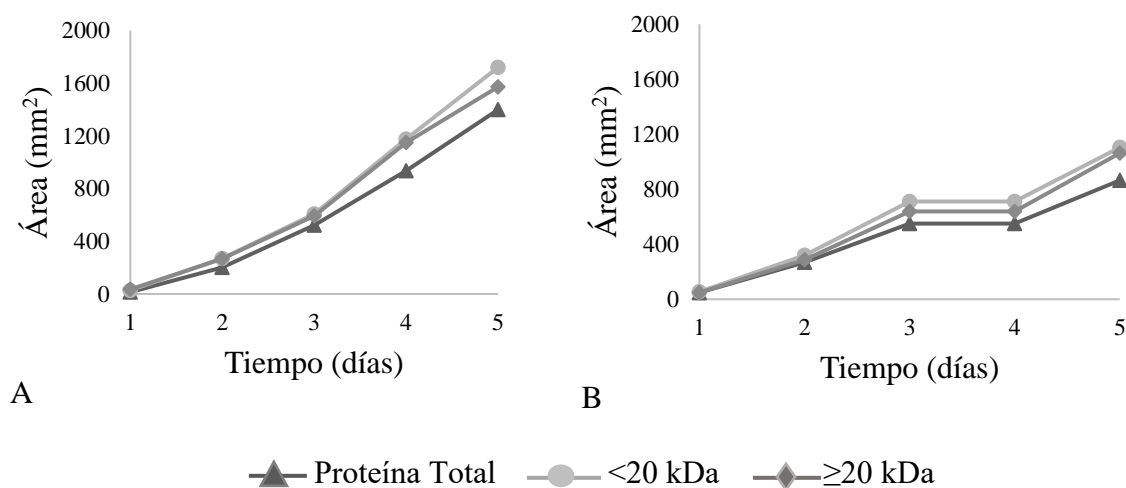


Figura 6 Área de crecimiento de *Fusarium* sp. con respecto al tipo de proteína y las variedades Súper Chola (A) y Violeta (B)

Es así como para la variable variedad presenta ( $R^2 = .87$ ,  $p \leq 0.001$ ), mientras que para el tipo de proteína ( $R^2 = .88$ ,  $p \leq 0.001$ ) de correlación. Se excluye la variable temperatura de extracción por su baja correlación lineal. En el **Anexo 12** se expresa la ecuación del modelo y el diagrama de dispersión.

Se encontraron diferencias significativas para el día uno, tanto para variedad ( $F = 53.15$ ;  $gl = 1$ ;  $p < 0.001$ ), tipo de proteína ( $F = 3.95$ ;  $gl = 2$ ;  $p = 0.029$ ) e interacción entre proteína y variedad ( $F = 3.50$ ;  $gl = 2$ ;  $p = 0.042$ ) (**Anexo 13**); Tukey indicó diferencias significativas en proteína total y proteína mayor a 20 kDa con significancia de 0.027.

Como indica la **Figura 7** el hongo contra proteína total de Súper Chola muestra menor crecimiento.

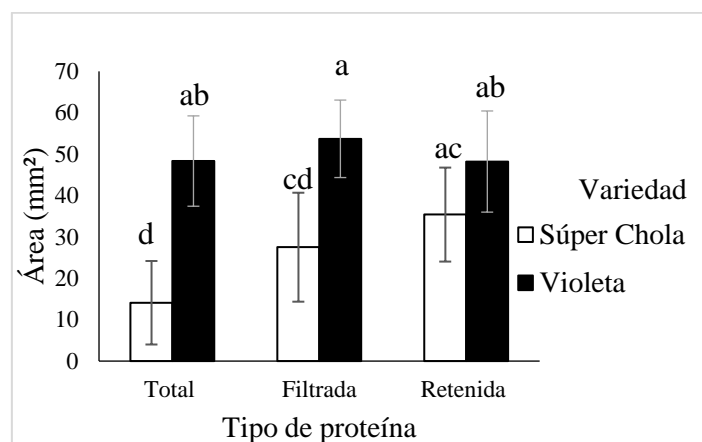


Figura 7 Diámetro del área de inhibición de *Fusarium* sp. día 1

De igual manera, el día tres evidenció diferencias significativas para variedad ( $F=20.34$ ;  $gl=1$ ;  $p=0.001$ ) (**Figura 8**), tipo de proteína ( $F=31.25$ ;  $gl=2$ ;  $p<0.001$ ) (**Figura 9**) (**Anexo 15**). Adicionalmente, los ensayos reportaron que las proteínas totales de Súper Chola presentaron mayor inhibición del crecimiento del hongo fitopatógeno.

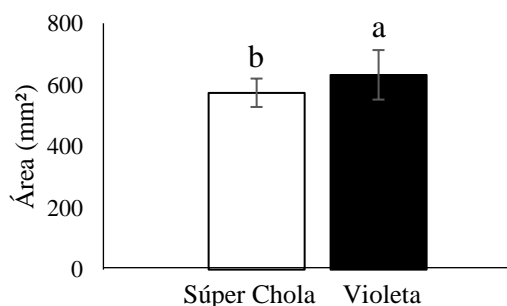


Figura 8 Diámetro del área de inhibición por Variedad contra *Fusarium* sp. en el día 3

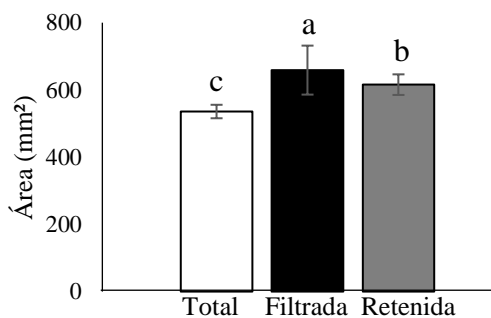


Figura 9 Diámetro del área de inhibición por tipo de proteína contra *Fusarium* sp en el día 3

Para el cuarto día, se evidenciaron diferencias significativas en variedad ( $F=456.67$ ;  $gl=1$ ;  $p<0.001$ ) (**Figura 10**), tipo de proteína ( $F=32.20$ ;  $gl=2$ ;  $p<0.001$ ) (**Figura 11**) (**Anexo 16**). Sumado a la prueba de significancia, el análisis del gráfico para este día, la proteína total de Violeta muestra menor crecimiento del hongo.

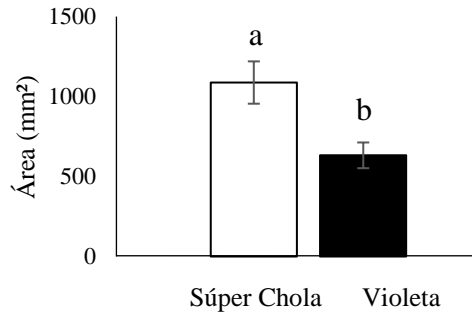


Figura 10 Diámetro del área de inhibición con respecto a las variedades en el día 4

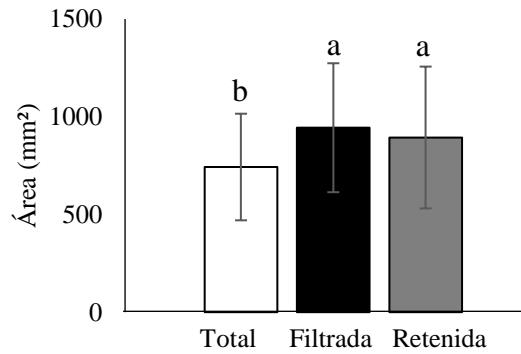


Figura 11 Diámetro del área de inhibición con respecto al tipo de proteína en el día 4

Mientras que, el último día evaluado, ANOVA marcó diferencias significativas entre variedad ( $F=419.82$ ;  $gl=1$ ;  $p<0.001$ ) (**Figura 12**) y proteína ( $F=37.07$ ;  $gl=2$ ;  $p<0.001$ ) (**Figura 12**), como en los casos anteriores, proteína total presentó mayor inhibición.

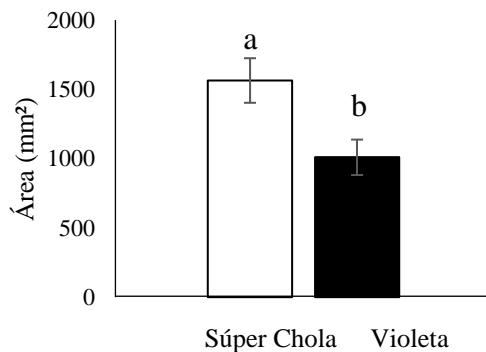


Figura 12 Diámetro del área de inhibición de *Fusarium* sp. en el día 5



Se representa en la **Figura 13**, que *Fusarium* sp. contra proteína total tiene menor área de crecimiento en comparación con la filtrada y retenida.

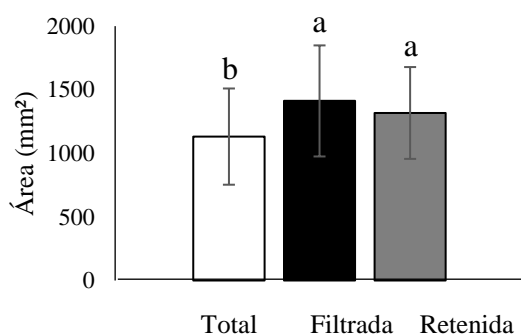


Figura 13 Diámetro del área de inhibición con respecto al tipo de proteína en el día 5

#### 4.6 Comparación del efecto inhibitorio entre variedades

*Fusarium* sp, expuesto a distintos tipos de proteínas extraídas a diferentes temperaturas, revelaron que: en Súper Chola tiene mayor área de crecimiento frente a proteína de 50°C de tipo filtrada. A su vez, proteínas extraídas a 100°C y de tipo total, son las que exhiben menor área de crecimiento. Mientras, para Violeta, en el caso de proteína retenida extraída a 100°C expuso mayor crecimiento, frente a proteína total extraída a 75°C presenta menor área de crecimiento (**Figura 14**).

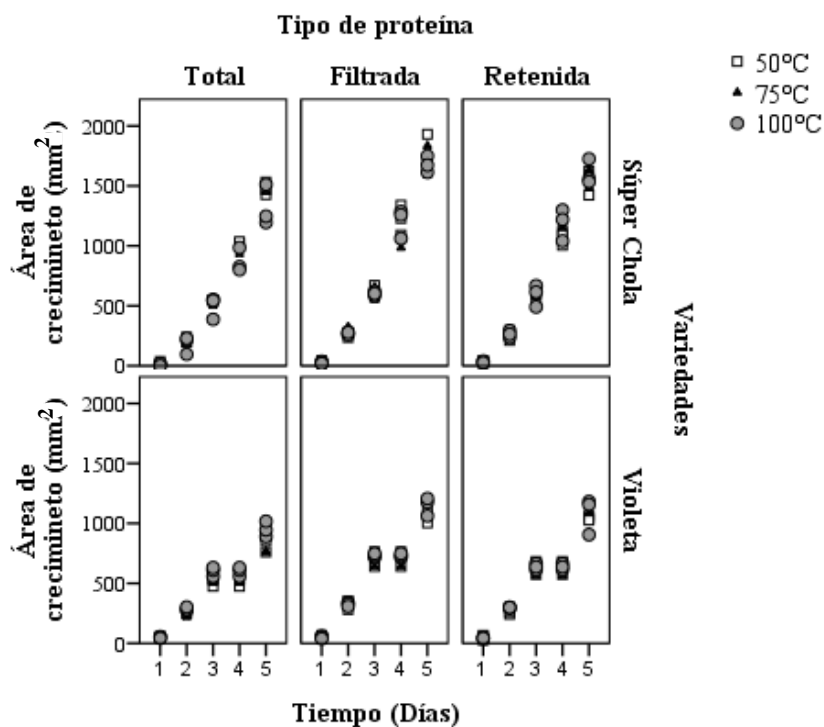
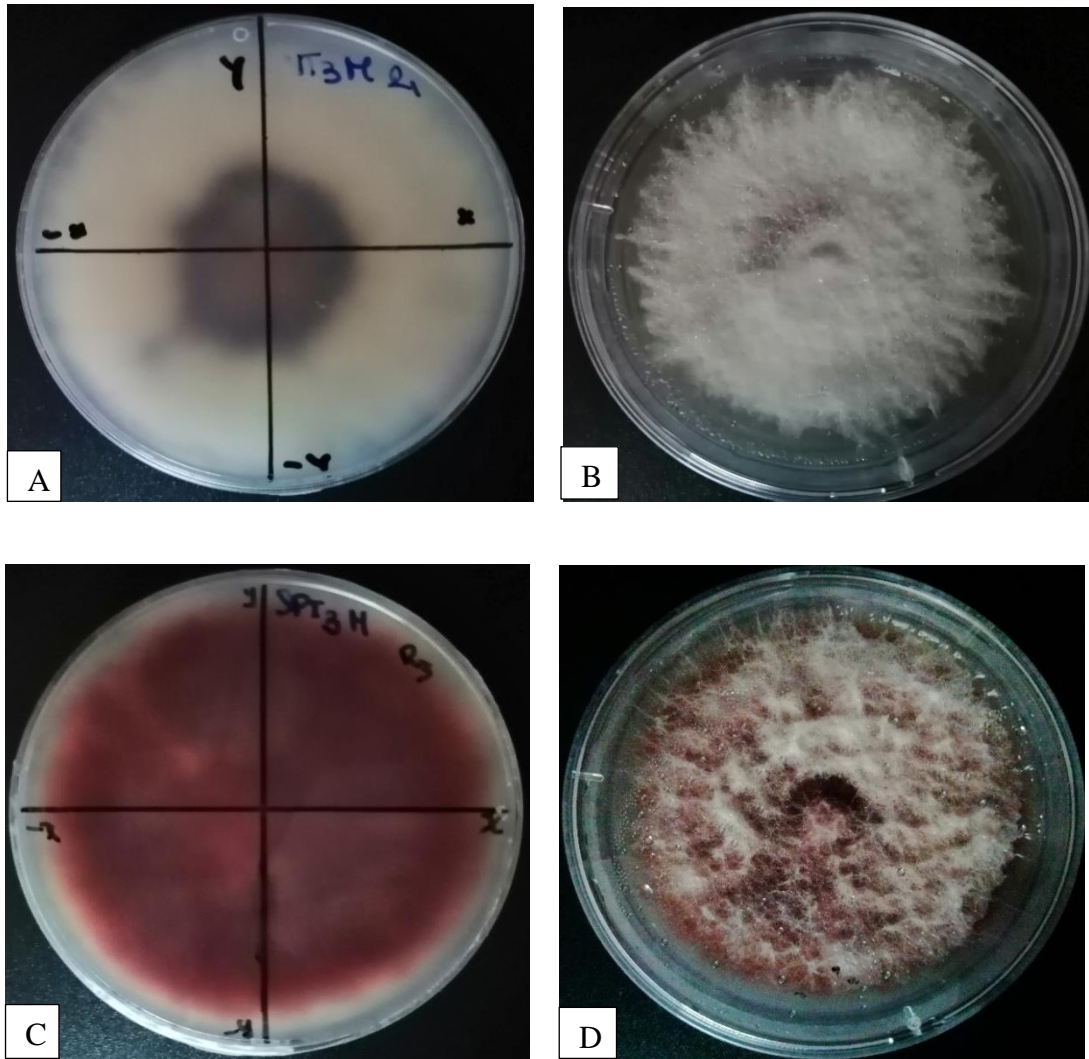


Figura 14. Crecimiento del patógeno expuesto a temperaturas y variedades y proteína.

Adicionalmente, estos ensayos de acción inhibitoria, en condiciones antes citadas, demostraron cambios de coloración dependiendo de la variedad y tipo de proteína a la que se encontraba expuesto. Es así, que para Violeta las coloraciones del hongo fitopatógeno se tornaron de la gama café claro **Figura 15 A**, mientras que, para Súper Chola de la gama granate **Figura 15 B**.



*Figura 15* Cambios de coloración de *Fusarium* sp producido ante la presencia de proteína de Violeta (A) y Súper Chola (C), (B y D) es la vista anterior del hongo.

## CAPÍTULO V

### 5 DISCUSIÓN

#### Composición del extracto de pulpa de papa

El almidón es considerado un factor importante en la funcionalidad de la papa, en aplicaciones alimentarias e industriales (Blennow, 2009). El contenido de almidón varía de acuerdo al tipo de papa como menciona Melina (2010), en su estudio indica que las papas nativas pueden contener 16 g, mientras que variedades comerciales hasta 29 g, caso similar al de esta investigación debido a que en la variedad comercial se obtuvo valores de almidón superiores al de la variedad nativa.

Además, otros trabajos refieren que el contenido de este elemento también varía de acuerdo a la coloración del tubérculo, es así como lo indica Cartier (2017), en el reporte indica que las papas de tono amarillo y anaranjado son las que contienen mayor cantidad de almidón en comparación a las de otros colores. Esto podría explicar el resultado que se obtuvo en el trabajo realizado, dado que la papa de color amarillo alcanzó cantidades de almidón superiores al de la papa de color blanco.

Con el método por decantación empleado en este trabajo se obtuvieron rendimientos de almidón similares a los de Zárate (2014), quien reportó un rendimiento de 9% (g/g), directamente proporcional al contenido de almidón del elemento. Sin embargo, se evidenció una pérdida inferior a 5% de almidón en pulpa y centrifugado del JDP, al igual como lo reporta (Melina, 2010). Otro método como es el de centrifugación usado por Peña (2017), muestra rendimientos de almidón 10% menores a obtenidos por decantación. Se han realizado modificaciones para obtener almidón puro de papa a través de grupos acetilos donde, Vargas, Martínez, y Velezmoro (2016), obtuvieron contenidos iguales pese a la modificación en el método de extracción.

Adicionalmente, estudios como el de (Brenes, 2015), evaluaron rendimientos de almidón en híbridos F1 de *S. tuberosum* reportando que no existen diferencias significativas por variedades. Como se indicó anteriormente, las variedades comerciales o modificadas genéticamente contienen mayor cantidad de almidón, pese a esa mayor cantidad, estadísticamente no es significativa esta superioridad. Además, es importante mencionar que el modo de cultivo (tradicional u orgánico) no afecta a la obtención de

este elemento, puesto que estudios indican la no presencia de diferencias significativas y la no influencia de la misma en el contenido (Nelson, Eduardo, & Carlos, 2010). A pesar de que en este trabajo no fue evaluada esa variable es importante para reducir los errores cometidos.

Con respecto al contenido de proteína soluble en cultivos nativos, investigadores del CIP (1973), obtuvieron valores máximos de 9% y mínimos de 4%, semejantes a los que se obtuvo en el presente trabajo (8 a 11%). De manera similar estudios como el de Brito (2004), reporta en otros tubérculos valores de proteína entre 9 a 10% semejantes a los ya mencionados. Con respecto a que Súper Chola presentó cantidades de proteína soluble superiores a las de Violeta, citamos el estudio de Bradshaw, Bryan, y Ramsay (2006), quienes expresan que al realizar mejoramientos genéticos se puede potenciar la expresión de proteínas en variedades. Lo que probablemente sea la razón de los resultados obtenidos con Súper Chola. Adicionalmente, estudios realizados en papa colombiana, han encontrado valores proteínicos desde 1.8 a 2.8%, siendo el de papa comercial el valor más alto en contenido con 2.83% (Prada, 2008).

Se ha evaluado proteínas solubles en hojas, tallos, raíces y tubérculos fertilizados ecológicamente, los cuales no demostraron diferencias en su contenido (Abreu et al., 2017). Del mismo modo estudios han determinado la cantidad de proteína soluble en diferentes etapas fisiológicas del tubérculo, obteniendo mayor contenido de proteína en etapa de floración (Ixchel et al., 2015). Así mismo, otros autores señalan que el contenido de proteína esta correlacionado de manera inversa con el contenido de almidón (Peña, 2015). En el trabajo que se realizó expresamos lo contrario, ya que la papa que contenía mayor porción de almidón también obtuvo superior contenido de proteína.

A nivel de conservación genética, investigaciones revelan que los cambios climáticos como la sequía influyen en la expresión de genes, estos se activan dependiendo de la zona requerida (Pieczynski et al., 2018). Esta podría ser una de las razones por las cuales los contenidos de proteína son bajos, ya que las papas evaluadas son de zonas lluviosas y podría ser que no se activen algunos genes. Adicionalmente, las proteínas de las papas han sido clasificadas y nombradas en base a diversas propiedades incluyendo estructura, solubilidad y peso molecular, en el trabajo de Kumar (2020) nombra que las papas contienen albúmina y globulina, prolamina y glutelina tanto en Andigena como en

Phureja-Tuberosum. De esta manera consideramos que en las variedades evaluadas podrían ser portadoras de estas proteínas.

Estudios de Brierley, Bonner, y Cobb (1996), revelaron que el tiempo de almacenamiento y temperatura de conservación entre 20-26°C afectan a las proteínas del tubérculo provocando degradación. A pesar de que este factor no fue considerado en esta investigación, es importantes mencionar, ya que podría ser una de las causas del descenso en el contenido proteico. Además, es probable que la disponibilidad de macroelementos como el fósforo y su disponibilidad en el suelo influya en el bajo contenido de proteína en el tubérculo (Leonel et al., 2017). De igual forma esta variable no fue analizada, pero es importante mencionarla para entender los factores que pudieron afectar el contenido de proteína obtenido.

### **Fraciones proteicas y su caracterización post tratamiento térmico**

La proteína recuperada de papa a través de tratamiento térmico en la presente investigación indicó degradación. A este acontecimiento se suman estudios de Ralet y Guéguen (2000), donde señalan que a temperatura de 40°C la proteína muestra una solubilidad del 60%, mientras que a 80°C observaron 43% de solubilidad. De manera similar, Pots (1999), indica que a temperatura mayor a 70°C se produce degradación de proteínas >20 kDa. Mientras que David y Livney (2016), recuperaron proteínas de 6-8 kDa a temperaturas de 50 a 100°C. En el mismo contexto, Kumar (2020), señala que a una temperatura de extracción de 80°C se obtiene inhibidores de proteasa (Pis) de 5 a 25 kDa de peso molecular; mientras que a una temperatura de 50°C se alcanza patatina con un peso que va desde 40 a 45 kDa de peso. Con estos antecedentes podemos supones que en las muestras de Violeta y Súper Chola contienen inhibidores de proteasa (Pis) y patatina. Esta última mencionada, Jesper Malling Schmidt, Damgaard, Greve-Poulsen, Larsen, y Hammershøj (2018), señalan representa hasta un 40% de la proteína total de la papa, por lo que su presencia en esta investigación puede ser relevante.

Cabe considerar variables que no fueron tomadas en cuenta en esta investigación como es el pH y la vida media de las proteínas. Reportes indican a un rango de 3 se obtiene patatina pero con una vida media baja; mientras que a un pH de 7 reportó una vida medía alta. Además, indican que a un pH 5 el contenido de patatina y su vida media obtuvieron significancia. (Jesper Malling Schmidt, Damgaard, Greve-Poulsen, Larsen, y

Hammershøj, 2018). De esta manera consideramos que con el pH trabajado en esta investigación obtenemos proteínas funcionales mencionadas con anterioridad. Mientras que, con respecto a la vida media no fue evaluada, en tal sentido investigaciones mencionan que la vida media de las proteínas viene dada por su estabilidad y con esto su funcionalidad (Jesper Malling Schmidt et al., 2018).

En el proceso de diálisis se obtuvo baja difusión de las muestras. Algunas investigaciones sobre los efectos de utilizar membranas de corte para ultrafiltración de jugo de papa, describen que el flujo disminuye con el tiempo, debido a formación de una capa de gel secundario que bloquea los poros de la membrana (Schmidt, Greve-Poulsen, Damgaard, Hammershøj, y Larsen, 2016). Por lo tanto, podemos mencionar que la baja difusión fue debido a la presencia de esta capa secundaria que bloqueó el paso de las proteínas de bajo peso molecular. Sumado a esto, Darnon, Belleville, y Rios (2002) indicaron que, la alta concentración de proteínas tiene un efecto limitante sobre el flujo, esto debido a la saturación de proteínas en los poros de la membrana. Una posible causa pudo ser que la muestra se encontraba diluida, otra razón, que la matriz de SDS-PAGE podría ser mejorada ocupando el método tricine SDS-PAGE 2-DE empleado por (Bártová, Bárta, Vla, & Kone, 2018), quien observó proteínas de hasta 5 kDa.

### **Cuantificación de proteína de papa por el método de Bradford**

Para la cuantificación de proteínas, Wu y L (1993), refieren al método de Bradford como completo para colorimetría de proteínas solubles. Un ejemplo donde emplearon este procedimiento, es en la investigación de Van Koningsveld et al., (2006), donde utilizaron este ensayo para estimar concentración de proteínas. Otro ejemplo de uso, es en una planta piloto de extracción de proteínas de papa de Waglay, A, K, Z, y L (2019). En cada uno de estos casos fue permitida la estimación de concentración de proteína como también lo fue para este trabajo para proteínas de Súper Chola y Violeta.

Una de las limitaciones que podría afectar la cuantificación es el uso de detergentes para remoción de proteínas de un extracto. Sin embargo, en el presente estudio el método de extracción no aplica detergentes, validando así la cuantificación por Bradford (1976). Siendo contrario el caso, Cheng, Wei, Sun, Tian, y Zheng (2016), describe a Bradford como un método de cuantificación rápida y sensible, incluso cuando la solución de proteínas contiene sustancias interferentes (Cheng et al., 2016).

## Actividad antifúngica

*Fusarium* sp, ante fracciones de proteína de papa Violeta extraídas a 75°C presentó menor área de crecimiento en comparación con el control, que indicó crecimiento exponencial. En el contexto del crecimiento del hongo, diversas investigaciones mencionan el crecimiento lineal, es así que Dannemiller, Weschler, y Peccia (2017), realizan una regresión lineal indicando un  $R^2=0.62$  con respecto al tiempo. Algo semejante ocurre en nuestro trabajo que indica un comportamiento similar.

De este modo, autores mencionan que las fracciones de proteína aisladas difieren en relación con su estabilidad funcional y capacidad para mantener la integridad estructural en dependencia de temperaturas crecientes (Bártová et al., 2018). Por lo que podemos presumir que la baja actividad inhibitoria de las proteínas obtenidas a 100°C pudo ser por la pérdida estructural y funcional. Como mencionamos anteriormente, la funcionalidad de las proteínas viene dado por su vida media, por lo que investigaciones como la de Pots (1999) y Bártová (2018) marcan que el punto medio de estabilidad de la patatina es a 49°C la que suponemos se obtuvo en este estudio. A pesar de esta estabilidad, las proteínas de Súper Chola y Violeta obtenidas a esta temperatura no inhiben el crecimiento e *Fusarium* sp.

Las regiones conservadas de las proteínas pueden conferir actividad inhibitoria (Rosahl, Schmidt, Schell, y Willmitzer, 1986). Rosahl (1986), indican mediante caracterización que hay dos posiciones que están ocupadas por el mismo nucleótido en todos los intrones de patatina de cinco variedades analizadas. Como se viene enunciando, la probable presencia de esta proteína en nuestras variedades, se podría decir que la variedad Violeta contiene mayor cantidad con sus regiones conservadas, mientras que, en comparación con Súper Chola al ser modificada genéticamente pudo perder estas regiones que quizá confiera dicha actividad biológica. Adicionalmente, dentro del contexto de pérdida de funcionalidad, Bártová (2018) menciona que se producen alteraciones en estructuras  $\alpha$ -helicoidales en temperaturas de 80 y 100°C, mientras que, a 80°C las estructuras permanecen funcionales.

Es importante mencionar que las pruebas estadísticas no señalan diferencias significativas a las proteínas obtenidas bajo 75°C, siendo esto contrario a lo obtenido por Bártová en su estudio, donde sí demostró diferencias en inhibición a una temperatura de

80°C. Por su parte, ellos trabajaron con cepas de *F. solani* y *F. oxysporum* y a una temperatura de 80°C, mientras que, en la presente investigación se trabajó a 75°C y con proteínas diluidas, por lo tanto, estas pueden ser algunas de las razones por la que no se reporta diferencias. Por otra parte, Kowalczewski (2019); demostró que el tratamiento térmico no afecta la actividad biológica de las proteínas. Siendo esto contrario a los reportes de otros trabajos ya mencionados.

En esta investigación, proteínas de Violeta alcanzan mayor actividad, siendo esta papa nativa la que conserva tolerancia o resistencia a tensiones biótica o abiótica mencionadas por Ortiz y Mares (2017). Por otro parte, es importante mencionar estudios de Bártoová, B, V, y K (2018), ya que, identificó en *S. tuberosum* a una temperatura de 80°C posee inhibidores de serina proteasa siendo estas proteínas menores a 20 kDa responsables de la actividad inhibitoria. Por lo que podemos suponer también la presencia de estas proteínas en las variedades experimentadas, ya que obtuvimos proteínas de 25 kDa y menores a estas. Del mismo modo, Pouvreau (2004), reportó presencia de inhibidores de proteasa que se presume que existen en el trabajo para conferir esta actividad en el pool de proteínas de papa.

Cabe considerar, otra de las posibles causas de la baja actividad inhibitoria de los filtrados proteicos de las variedades evaluadas en este trabajo, puede deberse a que, la realización de diálisis disminuye la concentración de proteínas, así como lo anuncia Bártoová (2018), donde para obtener mayor actividad es necesario la realización de filtrados de abundante muestra y de esta manera obtener un concentrado de proteína filtrada.

En consecuencia, *Fusarium* sp. ante fracciones de proteína, mostró un cambio de coloración en este estudio. Las transiciones de color del hongo pueden deberse a que la papa contiene glicoalcaloides como  $\alpha$ -solanina, que acciona actividad fitotóxica y fitopatógena ante sustancias y entes extraños (Marciano, 2015). Sin embargo, no se han encontrado estudios directamente relacionados con el hongo y su cambio de coloración ante estas proteínas. Otra de las causas probables del cambio de coloración, puede deberse a la producción de toxinas propias del hongo, que se activan para aumentar su virulencia y defensa como respuesta a sustancias tóxicas producidas por fracciones proteicas en el medio de cultivo (Villa-Martínez et al., 2014).



## CAPÍTULO VI

### 6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 6.1 Conclusiones

- El método de tratamiento térmico para la obtención de proteína residual en papa fue factible tanto para la variedad comercial como para silvestre.
- El contenido de proteína decrece a medida que se incrementa la temperatura.
- Las proteínas obtenidas de las dos variedades presentan un peso que va desde 150 hasta 10 kDa, siendo la más abundante la de 50 kDa tanto en Súper Chola como en Violeta.
- La proteína residual como tratamiento inhibitorio para *Fusarium* sp. funcionó de manera diferencial, siendo mejor el tratamiento a 75°C.
- La actividad inhibitoria conferida por proteína residual de papa de variedad Violeta fue más efectiva que la variedad comercial.

#### 6.2 Recomendaciones

- Ensayar la extracción de proteínas a una temperatura de 80°C, que según indica la literatura es la que más inhibe el crecimiento de *Fusarium* sp.
- Profundizar estudios en proteínas, no solo de papa sino también de otros tubérculos y raíces Andinas. En tal sentido, se podría aplicar diversos métodos de extracción como podría ser el de solventes orgánicos y de esta manera contribuir con investigaciones de alto impacto y que generen un cambio en favor de la investigación, economía y medio ambiente.
- Probar actividad biológica de proteínas de otras variedades de papa y con otros microorganismos patógenos a través de pruebas in vitro, para impulsar el uso de controladores biológicos.
- Considerar la aplicación de otras metodologías para separar proteínas como lo es cromatografía por exclusión de tamaño para evitar pérdida de muestra y optimizar los procesos.
- Liofilizar la proteína obtenida mediante tratamiento térmico y probarla directamente en semillas de papa y comprobar su funcionamiento y efectividad.

## REFERENCIAS

- Abreu, E., González, G., Liriano, R., Veliz, J., Ost, P., & Monzón, Z. (2017). Respuesta del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) a la combinación del fertilizante ecológico HerbaGreen con fertilizante químico. *Revista Centro Agrícola*, 44(1), 80–89. Retrieved from <http://cagricola.uclv.edu.cu>
- Ahmed, A. I. (2017). Biological Control of Potato Brown Leaf Spot Disease Caused by (*Alternaria alternata*) Using *Brevibacillus formosus* Strain DSM 9885 and *Brevibacillus brevis* Strain NBRC 15304. <https://doi.org/10.4172/2157-7471.1000413>
- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G., & Lightfoot, D. A. (2017, December 1). Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/plants6040042>
- Álvarez, C., Lélou, P., Lynch, S. A., & Tiwari, B. K. (2018). Optimised protein recovery from mackerel whole fish by using sequential acid/alkaline isoelectric solubilization precipitation (ISP) extraction assisted by ultrasound. *LWT - Food Science and Technology*, 88, 210–216. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.045>
- Alexander Jiménez-Quintero, C., Pantoja-Estrada, A., & Ferney Leonel, H. (2016). Health risks of farmers for using and handling pesticides in the watershed «La Pila». *Rev Univ. Salud*, 18(3), 417-431. <https://doi.org/10.22267/rus.161803.48>
- Amar, D., Frades, I., Danek, A., Goldberg, T., Sharma, S. K., Hedley, P. E., Proux-Wera, E., Andreasson, E., Shamir, R., Tzfadia, O., & Alexandersson, E. (2014). Evaluation and integration of functional annotation pipelines for newly sequenced organisms: The potato genome as a test case. *BMC Plant Biology*, 14(1), 1-14. <https://doi.org/10.1186/s12870-014-0329-9>
- Andrews, D. L., Beames, B., Summers, M. D., & Park, W. D. (1988). Characterization of the lipid acyl hydrolase activity of the major potato (*Solanum tuberosum*) tuber protein, patatin, by cloning and abundant expression in a baculovirus vector. *The Biochemical journal*, 252(1), 199-206. <https://doi.org/10.1042/BJ2520199>
- Arie, T. (2019). Fusarium diseases of cultivated plants, control, diagnosis, and molecular and genetic studies. *Journal of Pesticide Science*, 44(4), 1–7. <https://doi.org/10.1584/JPESTICS.J19-03>
- Asamblea Nacional Constituyente. (2008). Constitución 2008. *Libro Incluye las reformas aprobadas en el Referéndum y Consulta Popular de 7 de mayo del 2011, Constitución de la República del Ecuador*, 1-216. <https://doi.org/10.1515/9783110298703.37>
- Bártová, V., & Bárta, J. A. N. (2009). Chemical composition and nutritional value of protein concentrates isolated from potato (*Solanum tuberosum* L.) Fruit juice by precipitation with ethanol or ferric chloride. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(19), 9028–9034. <https://doi.org/10.1021/jf900897b>

- Bártová, V., Bárta, J., Vla, A., & Kone, H. (2018). Proteomic characterization and antifungal activity of potato tuber proteins isolated from starch production waste under different temperature regimes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, (Ryan 1990). <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9373-y>
- Bautista, E., Mesa, L., & Gómez, M. (2018). Alternatives for the production of microbial biopesticides based on fungi: The case of Latin America and the Caribbean. *Scientia Agropecuaria*, 9(4), 585-604. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.04.15>
- BAYER. (2017). Qué es y cómo ataca el Fusarium | Seminis. Retrieved May 22, 2020, from <https://www.seminis.mx/blog-que-es-y-como-ataca-el-fusarium/>
- Ben Jeddou, K., Bouaziz, F., Zouari-Ellouzi, S., Chaari, F., Ellouz-Chaabouni, S., Ellouz-Ghorbel, R., & Nouri-Ellouz, O. (2017). Improvement of texture and sensory properties of cakes by addition of potato peel powder with high level of dietary fiber and protein. *Food Chemistry*, 217, 668–677. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.081>
- Bianeth, C., & Melo, P. (2015). *Evaluación del contenido nutricional y actividad antioxidante en Solanum tuberosum grupo Phureja*.
- Blanco, R. K. A. R. O. C. M. (2018). Caracterización morfológica y molecular de *Fusarium oxysporum* F. SP. Apii asociado a la marchitez del apio en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 42(1). <https://doi.org/10.15517/rac.v42i1.32199>
- Blennow, E. B. A. (2009). *Structure of Potato Starch. Advances in Potato Chemistry and Technology* (First Edit). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-374349-7.00004-0>
- Bradford, M. (1976). *A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding*. *Crop Journal*. Georgia. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2017.04.003>
- Bradshaw, J. E., Bryan, G. J., & Ramsay, G. (2006). Genetic resources (including wild and cultivated *Solanum* species) and progress in their utilisation in potato breeding. *Potato Research*, 49(1), 49–65. <https://doi.org/10.1007/s11540-006-9002-5>
- Brady, P. N., & Macnaughtan, M. A. (2015). Evaluation of colorimetric assays for analyzing reductively methylated proteins: Biases and mechanistic insights. *Analytical Biochemistry*, 491, 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2015.08.027>
- Brenes, C. P. A. (2015). Calidad de los Tubérculos y Componentes de Rendimiento de Híbridos F1 de Papa (*Solanum tuberosum*). *Agronomía Costarricense*, 39(3), 37–46. Retrieved from [www.mag.go.cr/revagr/index.html](http://www.mag.go.cr/revagr/index.html)[www.cia.ucr.ac.cr](http://www.cia.ucr.ac.cr)
- Brito., S. E. E. V. B. (2004). Caracterización Físico - Química , Nutricional y Funcional de Raíces y Tubérculos Andinos. *Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas Para La Conservación y Uso Sostenible En El Ecuador*, 91–116. Retrieved from

<http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v6n3/v6n3a4.pdf>

- Carlos Moscardi, S. G. (1975). *Enfermedades de la Papa*.
- Cartier, A., Woods, J., Sismour, E., Allen, J., Ford, E., Githinji, L., & Xu, Y. (2017). Physiochemical, nutritional and antioxidant properties of fourteen Virginia-grown sweet potato varieties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(3), 1333–1341. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9511-8>
- Casoni, A. (2017). Pirólisis de biomasa residual abundante en la región sur de la Provincia de Buenos Aires para la obtención de productos de alto valor agregado. En *Universitas Nusantara PGRI Kediri* (Vol. 01).
- Castillo, R. (2011). *INIAP-Estación Experimental Santa Catalina*. Retrieved from <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/894/1/iniapscP.C992e2010.pdf>
- Castro, I. (2011). Manejo de Plagas y Enfermedades en el Cultivo de la Papa (p. 72).
- Centro Internacional de la Papa. (2017). *El Centro Internacional de la Papa (CIP) es*. <https://doi.org/10.4160/9789290602118>
- Chavarria, M. (2006). *Biofertilizantes y Biocontroladores*.
- Cheng, Y., Wei, H., Sun, R., Tian, Z., & Zheng, X. (2016). Rapid method for protein quantitation by Bradford assay after elimination of the interference of polysorbate 80. *Analytical Biochemistry*, 494, 37–39. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2015.10.013>
- Centro Internacional de la Papa. (1973). Informe Anual Centro Internacional de la Papa 1973. Retrieved February 4, 2020, from [https://books.google.com.ec/books?id=IlkSBwAAQBAJ&pg=PA52&lpg=PA52&dq=proteína+soluble+en+jugo+de+papa&source=bl&ots=-BzJJNv0QB&sig=ACfU3U0MChkQdr-31hZlERDsJKKig25GVw&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwiZnOvi-bjnAhWho1kKHfFPBoYQ6AEwAXoECAsQAQ#v=onepage&q=proteína soluble](https://books.google.com.ec/books?id=IlkSBwAAQBAJ&pg=PA52&lpg=PA52&dq=proteína+soluble+en+jugo+de+papa&source=bl&ots=-BzJJNv0QB&sig=ACfU3U0MChkQdr-31hZlERDsJKKig25GVw&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwiZnOvi-bjnAhWho1kKHfFPBoYQ6AEwAXoECAsQAQ#v=onepage&q=proteína%20soluble)
- CIP. (2004). *Plagas y Enfermedades de la Papa - International Potato Center*. Agricultural research for development. <https://cipotato.org/es/lapapa/plagas-y-enfermedades-de-la-papa/>
- Cisneros, F. (2016). *Control Químico* (p. 122).
- Członka Sylwia, Bertino Massimo F., & Strzelec Krzysztof. (2018). Rigid polyurethane foams reinforced with industrial potato protein. *Polymer Testing*, 68(February), 135-145. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2018.04.006>
- Dabestani, S., Arcot, J., & Chen, V. (2017). Protein recovery from potato processing water: Pre-treatment and membrane fouling minimization. *Journal of Food Engineering*, 195, 85–96. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.09.013>

- Dannemiller, K. C., Weschler, C. J., & Peccia, J. (2017). Fungal and bacterial growth in floor dust at elevated relative humidity levels. *Indoor Air*, 27(2), 354–363. <https://doi.org/10.1111/ina.12313>
- Darnon, E., Belleville, M. P., & Rios, G. M. (2002). Modeling ultrafiltration of complex biological solutions. *AIChE Journal*, 48(8), 1727–1736. <https://doi.org/10.1002/aic.690480814>
- David, S., & Livney, Y. D. (2016). Potato protein based nanovehicles for health promoting hydrophobic bioactives in clear beverages. *Food Hydrocolloids*, 57, 229–235. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.01.027>
- Djas, M., & Henczka, M. (2018). Reactive extraction of carboxylic acids using organic solvents and supercritical fluids: A review. *Separation and Purification Technology*, 201, 106–119. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.02.010>
- Dong, J., Hua, M. T., & Hong-nan, S. (2017). Sweet potato and potato residual flours as potential nutritional and healthy food material. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(11), 2632-2645. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61601-5](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61601-5)
- Eraso-Grisales, S., Mejía-España, D., & Hurtado-Benavides, A. (2019). Extracción de glicoalcaloides de papa nativa (*Solanum phureja*) variedad ratona morada con líquidos presurizados. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 48(1), 181-197. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n1.80074>
- Erika, S. I. R. D. Y. H. P. (2012). Evaluación de la Calidad del Almidón Obtenido de Tres Variedades de Papa (*Solanum tuberosum*) Cultivadas en la Provincia de Jauja. Universidad Nacional del Centro del Perú.
- FAO. (2008a). El Año Internacional de la Papa 2008 Algunos de los principales enemigos de la papa.
- FAO. (2008b). La papa. División de Producción y Protección de la FAO, 13.
- FAO. (2011a). Estudio de la Cadena de la Papa en Ecuador FAO-ESA / CIP.
- FAO. (2011b). FAO enseña a combatir plagas y enfermedades con sustancias naturales | FAO. <http://www.fao.org/americas/noticias/ver/es/c/230667/>
- FAO. (2016a). Guía de identificación y control de las principales plagas que afectan a la quinua en la zona andina. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2009.12.005>
- FAO. (2016b). Producción Orgánica de Cultivos Andinos (Manual Técnico) (Vol. 126).
- FAOSTAT. (2008). El mundo de la papa: América Latina - Año Internacional de la Papa 2008. Retrieved February 5, 2020, from <http://www.fao.org/potato-2008/es/mundo/asia.html>
- FAOSTAT. (2017). *Productos Producidos en Ecuador*. [http://www.fao.org/faostat/es/#rankings/commodities\\_by\\_country](http://www.fao.org/faostat/es/#rankings/commodities_by_country)

- FDA. (2012). Riesgos a la Salud por Pesticidas en los Alimentos. *Center for ecogenetics & Environmental Health*, 2.
- Fisher, T. (2014). *Thermo Scientific™ Slide-A-Lyzer™ G2 Dialysis Cassette Product Numbers and Descriptions* (p. 4).
- FRAC. (2019). Clasificación de bactericidas según fungicidas y el modo de acción.
- Galindo-Reyes, J. G., & Alegria, H. (2018). Toxic effects of exposure to pesticides in farm workers in Navolato, Sinaloa (Mexico). *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 34(3), 505-516. <https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.03.12>
- Grossmann, L., Ebert, S., Hinrichs, J., & Weiss, J. (2018). Effect of precipitation, lyophilization, and organic solvent extraction on preparation of protein-rich powders from the microalgae *Chlorella protothecoides*. *Algal Research*, 29, 266–276. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.11.019>
- Hernández, Torruco, Chel, & Betancur. (2008). Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28(3), 718-726. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000300031>
- Horwitz, W., Chichilo, P., & Reynolds, H. (1991). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. *Analytica Chimica Acta*, 242, 302. [https://doi.org/10.1016/0003-2670\(91\)87088-o](https://doi.org/10.1016/0003-2670(91)87088-o)
- INEC. (2017). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (p. 23).
- INIAP. (2012). Evaluación Agronómica Y Nutricional De Ocho Cultivares Nativos Y Tres Variedades Mejoradas De Papa (*Solanum tuberosum* L.), En Tres Localidades De La Sierra Ecuatoriana. Quito, Ecuador.
- INIAP. (2019). Análisis Proximal. Quito, Ecuador.
- IPES/FAO. (2010). Biopreparados para el manejo sostenible de plagas y enfermedades en la agricultura urbana y periurbana. En *Ipes/Fao*.
- Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. (2010). Cultivares de Papas Nativas Serra Centro norte del Ecuador. 179, 146.
- Ixchel, A. O. S., Vicente, de P. Á. R., Guillermo, G. C., Luis, M. V. N., María, del C. P. T., & Jorge, A. C. S. (2015, May). Concentration of Starch and soluble proteins in tubers of *Caladium bicolor* under different phenological stages, 12. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v6n3/v6n3a4.pdf>
- Koningsveld, G. a. (2001). Physico-chemical and functional properties of potato proteins.
- Kovalskaya, N., & Hammond, R. W. (2009). Expression and functional characterization of the plant antimicrobial snakin-1 and defensin recombinant proteins. *Protein Expression and Purification*, 63(1), 12–17.

<https://doi.org/10.1016/j.pep.2008.08.013>

- Kowalczewski, P. Ł., Olejnik, A., Białas, W., Rybicka, I., Ziełńska-Dawidziak, M., Siger, A., ... Lewandowicz, G. (2019). The nutritional value and biological activity of concentrated protein fraction of potato juice. *Nutrients*, *11*(7). <https://doi.org/10.3390/nu11071523>
- Kumar, A., Galaev, I. Y., & Mattiasson, B. (1999). Metal chelate affinity precipitation : a new approach to protein purification. *Bioseparation*, *7*, 185–194. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37609>
- Kroschel, J., Cañedo, V., Alcázar, J., & Miethbauer, T. (2012). Manejo de plagas de la papa en la región andina del Perú. En *Centro Internacional De La Papa* (Vol. 2).
- Laguna, O., Barakat, A., Alhamada, H., Durand, E., Baréa, B., Fine, F., ... Lecomte, J. (2018). Production of proteins and phenolic compounds enriched fractions from rapeseed and sunflower meals by dry fractionation processes. *Industrial Crops and Products*, *118*(March), 160–172. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.045>
- Latinoamericano, F. (2018). *Territorio Ecuador supports the SDGs Con el apoyo de la Unión Europea*. Retrieved from <https://odsterritorioecuador.ec/wp-content/uploads/2018/02/boletin-3-ods.pdf>
- Leonel, M., do Carmo, E. L., Fernandes, A. M., Soratto, R. P., Ebúrneo, J. A. M., Garcia, É. L., & dos Santos, T. P. R. (2017). Chemical composition of potato tubers: the effect of cultivars and growth conditions. *Journal of Food Science and Technology*, *54*(8), 2372–2378. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2677-6>
- Lin, X., Negenborn, R. R., & Lodewijks, G. (2018). Predictive quality-aware control for scheduling of potato starch production. *Computers and Electronics in Agriculture*, *150*(December 2016), 266-278. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.04.020>
- Liu, C., Qi, X., Zhao, Q., & Yu, J. (2013). Characterization and Functional Analysis of the Potato Pollen-Specific Microtubule-Associated Protein SBgLR in Tobacco. *PLoS ONE*, *8*(3), e60543. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060543>
- Lomeli, R., Torres, A., & Rodriguez, E. (2014). El control biológico de plagas en la agricultura protegida en México. *Sociedad Mexicana de Control Bológico*, *May 2015*, 14.
- Loyola, N. L., Oyarce, E. C., & Acuña, C. C. (2010). *PRODUCED IN ORGANIC AND CONVENTIONAL WAYS IN THE PROVINCE OF CURICÓ, MAULE REGIÓN*. Retrieved from <https://scielo.conicyt.cl/pdf/idesia/v28n2/art05.pdf>
- MAG. (2018). Informe De Rendimientos De Papa En El Ecuador 2017. *Mag*, *66*, 37-39.
- Marciano, J. (2015). *Estudo químico de extratos de plantas da família Solanaceae com atividade a fungos fitopatogênicos*.

- Massaro, R. A. (2004). Tecnología para la aplicación de fungicidas foliárea en soja con equipos terrestres. *Publicación Miscelánea N° INTA EEA Oliveros*, 102, 1-10.
- Melina, D. (2010). *Ensayo Comparativo de Dos Metodologías de Extracción de Almidón de Papa usando Muestras de Diez Variedades Nativas de Chiloé y dos Variedades comerciales*. Universidad Austral de Chile.
- Menard, R. (2002). Malaria Methods and Protocols Second Edition Tricine\_SDS-PAGE, 869. <https://doi.org/10.1007/978-1-61779-821-4>
- Miedzianka, J., & Pęksa, A. (2013). Effect of pH on phosphorylation of potato protein isolate. *Food Chemistry*, 138(4), 2321–2326. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.12.028>
- Miedzianka, J., Pęksa, A., & Aniołowska, M. (2012). Properties of acetylated potato protein preparations. *Food Chemistry*, 133(4), 1283–1291. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.080>
- Milton, T. (2016). *El cultivo de papa en honduras* (Primera ed).
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2018). Informe de Rendimientos de Papa en el Ecuador 2017.
- MIP. (2015). Guía de Manejo Integrado de Plagas (mip) para Técnicos y Productores. 33.
- Mora, E., Pumisacho, M., & Aucancela, R. (2011). Conozca y maneje las enfermedades del suelo en el cultivo de la papa.
- Morales, F. (2012). Fitogeografía e industrialización del almidón de pituca.
- Moreira. (2013). Potato *Solanum tuberosum* L.
- Muñiz García, M. N., Muro, M. C., Mazzocchi, L. C., País, S. M., Stritzler, M., Schlesinger, M., & Capiati, D. A. (2017). The protein phosphatase 2A catalytic subunit StPP2Ac2b acts as a positive regulator of tuberization induction in *Solanum tuberosum* L. *Plant Molecular Biology*, 93(3), 227-245. <https://doi.org/10.1007/s11103-016-0555-7>
- Nelson, L. L., Eduardo, O. C., & Carlos, A. C. (2010). Evaluación del contenido de almidón en papas (*Solanum tuberosum*, sp. *Tuberosum* cv. *desirée*), producidas en forma orgánica y convencional en la provincia de Curicó, región del Maule. *Idesia*, 28(2), 41–52. <https://doi.org/10.4067/s0718-34292010000200005>
- Nitsawang, S., Hatti-Kaul, R., & Kanasawud, P. (2006). Purification of papain from Carica papaya latex: Aqueous two-phase extraction versus two-step salt precipitation. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(5), 1103–1107. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.02.013>
- Olvera, M., Martínez, C., & Real de León, E. (1993). Manual De Técnicas Para Laboratorio De Nutrición De Peces Y Crustáceos. En *Documento preparado para*



*el Proyecto GCP/RLA/102/ITA Apoyo a las Actividades Regionales de Acuicultura para América Latina y el Caribe (AQUILA II), FAO.: Vol. No 7. (p. 120).*

- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2018). *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO) Ministerio de Relaciones Exteriores y Movilidad Humana del Ecuador.*
- Ortiz, O., & Mares, V. (2017). The Historical, Social, and Economic Importance of the Potato Crop, 1–10. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-66135-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-66135-3_1)
- Peña, C. B. (2015). Evaluación del contenido nutricional y actividad antioxidante en *Solanum tuberosum* grupo Phureja, 149. Retrieved from [http://bdigital.unal.edu.co/50055/1/Evaluación del contenido nutricional y actividad antioxidante en \*Solanum tuberosum\* grupo Phureja Final.pdf](http://bdigital.unal.edu.co/50055/1/Evaluación%20del%20contenido%20nutricional%20y%20actividad%20antioxidante%20en%20Solanum%20tuberosum%20grupo%20Phureja%20Final.pdf)
- Peña, E. (2017). Extracción y caracterización fisicoquímica de almidones de cinco variedades de papas nativas procedentes de Ilave (Puno), 103.
- Pieczynski, M., Wyrzykowska, A., Milanowska, K., Boguszewska-Mankowska, D., Zagdanska, B., Karlowski, W., ... Szweykowska-Kulinska, Z. (2018). Genomewide identification of genes involved in the potato response to drought indicates functional evolutionary conservation with *Arabidopsis* plants. *Plant Biotechnology Journal*, 16(2), 603–614. <https://doi.org/10.1111/pbi.12800>
- Pérez Bayer, J. F., Barrera, R., & Ramírez Córdoba, G. L. (2015). Integración de Plantaciones Forestales Comerciales Colombianas en Conceptos de Biorrefinería Termoquímica: una revisión. *Colombia Forestal*, 18(2 Preprint), 273. <https://doi.org/10.14483/udistrital.jour.colomb.for.2015.2.a07>
- Pots, A. (1999). *Physico-chemical Properties and Thermal Aggregation of Patatin , the Major Potato Tuber Protein*. Bibliotheek Landbouwniversiteit Wageningen. Retrieved from <http://library.wur.nl/WebQuery/clc/964109>
- Pots, K. K. E. G. H. G. A. V. A. (1999). Thermal aggregation of patatin studied in situ. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(11), 4600–4605. <https://doi.org/10.1021/jf9901901>
- Pouvreau, L. (2004). *Occurrence and physico-chemical properties of protease inhibitors from potato tuber (Solanum tuberosum)*. *Jurnal Pesona PAUD*. Wageningen University.
- Pumisacho, S. S. M. (2002). El Cultivo de la Papa en Ecuador.
- Prada, R. (2008). Alternativa de aprovechamiento eficiente de residuos biodegradables: el caso del almidón residual derivado de la industrialización de la papa. *Casos Empresariales*, (72), 182–192. Retrieved from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-81602012000100012&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-81602012000100012&lng=en&nrm=iso&tlng=es)

- Q. Alvarado. (2014). Universidad Católica de Santa María. Retrieved from <https://core.ac.uk/download/pdf/54221012.pdf>
- Ralet, M. C., & Guéguen, J. (2000). Fractionation of Potato Proteins: Solubility, Thermal Coagulation and Emulsifying Properties. *LWT - Food Science and Technology*, 33(5), 380–387. <https://doi.org/10.1006/fstl.2000.0672>
- Rodríguez, L. (2006). *Teorías sobre la clasificación taxonómica de las papas cultivadas (Solanum L. sect. Petota Dumort.). Una revisión.*
- Rojas Arias, A. C., & Zamora Espitia, H. M. (2014). Plant Defensins and Their Potential Use as Pest Control in Agriculture. *Acta Biológica Colombiana*, 15(3), 33-46.
- Rosahl, S., Schmidt, R., Schell, J., & Willmitzer, L. (1986). Isolation and characterization of a gene from *Solanum tuberosum* encoding patatin, the major storage protein of potato tubers. *MGG Molecular & General Genetics*, 203(2), 214–220. <https://doi.org/10.1007/BF00333957>
- Rossi, O., Maggiore, L., Necchi, F., Koeberling, O., MacLennan, C. A., Saul, A., & Gerke, C. (2014). Comparison of Colorimetric Assays with Quantitative Amino Acid Analysis for Protein Quantification of Generalized Modules for Membrane Antigens (GMMA). *Molecular Biotechnology*, 57(1), 84-93. <https://doi.org/10.1007/s12033-014-9804-7>
- Salomons, E. M. (2001). *Computational Atmospheric Acoustics*. <https://doi.org/10.1007/978-94-010-0660-6>
- Saucedo-Pompa, S., Torres-Castillo, J. A., Castro-López, C., Rojas, R., Sánchez-Alejo, E. J., Ngangyo-Heya, M., & Martínez-Ávila, G. C. G. (2018). Moringa plants: Bioactive compounds and promising applications in food products. *Food Research International*, 111(2017), 438-450. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.062>
- Schmidt, J. M., Damgaard, H., Greve-Poulsen, M., Larsen, L. B., & Hammershøj, M. (2018). Foam and emulsion properties of potato protein isolate and purified fractions. *Food Hydrocolloids*, 74, 367-378. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.07.032>
- Sigma Aldrich. (2013). Bicinchoninic Acid Protein Assay Kit Catalog Numbers BCA1 AND B9643 TECHNICAL BULLETIN. <https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Bulletin/bca1bul.pdf>
- SIOVM. (1996). *Solanum tuberosum* Historia Natural de la Especie Centro de Origen Centro de Diversificación de la especie. 2, 412-420.
- SIPA. (2018). *Papa*. <http://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/papa>
- Solano, E. (2018). "Evaluación de Cuatro Densidades de Siembra de Papa (*Solanum tuberosum* L.) Variedad Superchola, Categoría Básica, para la Producción

deSemilla Registrada, en el Cantón Bolívar, Carchi.”. Universidad Técnica del Norte.

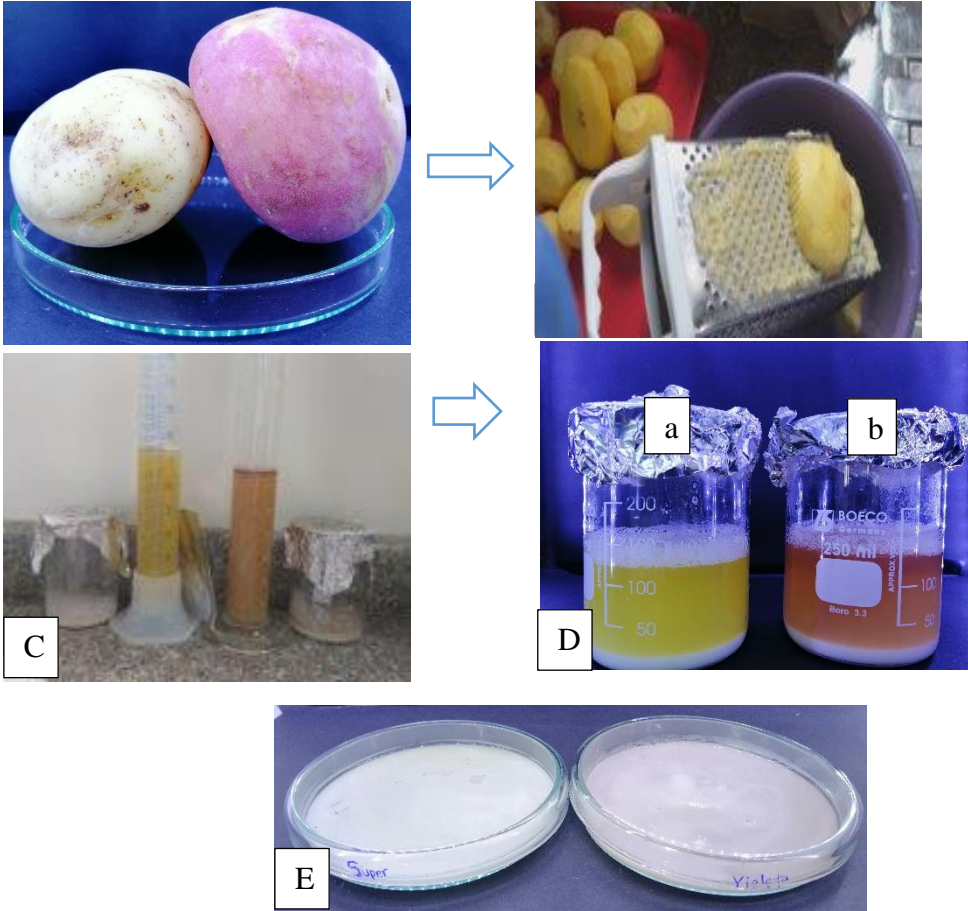
- Tapia, C., & Amaro, J. (2014). Género fusarium. *Revista Chilena de Infectología*. Sociedad Chilena de Infectología. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182014000100012>
- Van Koningsveld, G. A., Walstra, P., Voragen, A. G. J., Kuijpers, I. J., Van Boekel, M. A. J. S., & Gruppen, H. (2006). Effects of protein composition and enzymatic activity on formation and properties of potato protein stabilized emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(17), 6419–6427. <https://doi.org/10.1021/jf061278z>
- Vargas, G., Martínez, P., & Velezmoro, C. (2016). Functional properties of potato (*Solanum tuberosum*) starch and its chemical modification by acetylation. *Scientia Agropecuaria*, *7*(3), 223–230. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.03.09>
- Villa-Martínez, A., Pérez-Leal, R., Armando Morales-Morales, H., Basurto-Sotelo, M., Manuel Soto-Parra, J., & Martínez-Escudero, E. (2014). *Situación actual en el control de Fusarium spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales Current situation of Fusarium spp in the control and evaluation of the antifungal activity on vegetables extracts*. México. <https://doi.org/10.15446/acag.v64n2.43358>
- Villacrés, N. (2014). “El uso de Plaguicidas Químicos en el Cultivo de Papa (*Solanum tuberosum*), Su Relación con el Medio Ambiente y la Salud”. En *Repo.Uta.Edu.Ec* (Vol. 593, Número 03). Universidad Técnica de Ambato Facultad.
- Villacrés, E., Quilca, ; N, Reinoso, I. ;, Monteros, ; C, & Muñoz, ; R. (2012). *VALORIZACIÓN NUTRICIONAL Y FUNCIONAL DE LAS PAPAS NATIVAS (Solanum andígena ssp.)*. Quito, Ecuador. Retrieved from <http://www.bio.puc.cl/vinsalud/boletin/41>
- Villarreal-Delgado, M. F., Villa-Rodríguez, E. D., Cira-Chávez, L. A., Estrada-Alvarado, M. I., Parra-Cota, F. I., & De los Santos-Villalobos, S. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, *36*(1), 95–130. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5>
- Watanabe, M., Maeda, I., Koyama, M., Nakamura, K., & Sasano, K. (2015). Simultaneous recovery and purification of rice protein and phosphorus compounds from full-fat and defatted rice bran with organic solvent-free process. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, *119*(2), 206–211. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.07.009>
- Waglay, A., Karboune, S., & Alli, I. (2014). Potato protein isolates: Recovery and characterization of their properties. *Food Chemistry*, *142*, 373–382. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.060>

- Waglay, A., Achouri, A., Karboune, S., Zareifard, M. R., & L'Hocine, L. (2019). Pilot plant extraction of potato proteins and their structural and functional properties. *Lwt*, *113*(November 2018), 108275. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108275>
- Weller, D. R. D. (1984). Molecular Weight of Patatin, a Major Potato Tuber Protein. *Journal of Food Biochemistry*. USA: Department of Microbiology and Biochemistry University of Vermont. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.1984.tb00318.x>
- Wu, W., & Lakin, A. L. (1993). Estimation of protein in potato tissue by dye binding. *Food Chemistry*, *46*(1), 49–53. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(93\)90074-P](https://doi.org/10.1016/0308-8146(93)90074-P)
- Xue, H., Bi, Y., Prusky, D., Raza, H., Zhang, R., Zhang, S., ... Cheng, X. (2019). The mechanism of induced resistance against Fusarium dry rot in potato tubers by the T-2 toxin. *Postharvest Biology and Technology*, *153*(November 2018), 69–78. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.03.021>
- Zárate, P. (2014). Extracción y caracterización de almidón nativo de clones promisorios de papa criolla (*Solanum tuberosum*, Grupo Phureja). *Revista Latinoamericana de La Papa*, *18*(1), 1–24.

## ANEXOS

### Anexo 1

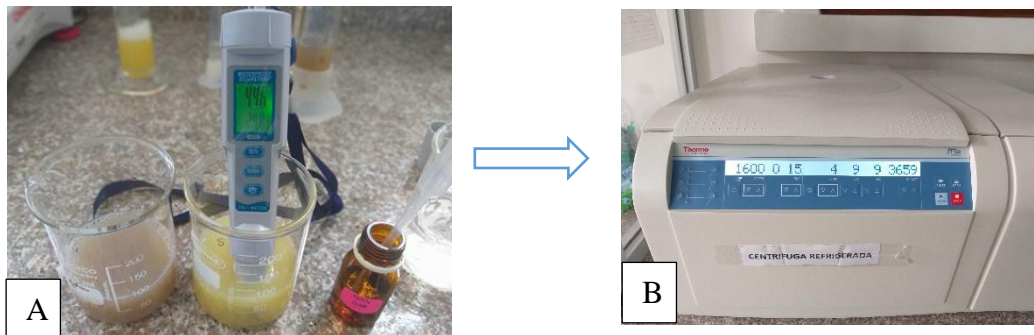
#### *Preparación de las muestras de papa*

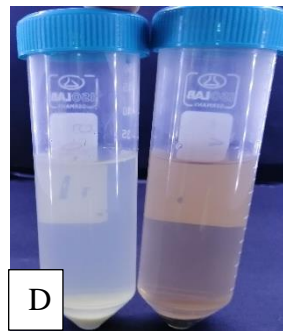


Preparación de la papa: lavado (A), retiro de la corteza y rallado (B), precipitación del almidón (C), jugo de papa (D) de violeta (b) y súper chola (a), almidón (E).

### Anexo 2

#### *Extracción de proteína de las variedades*





Se presenta el ajuste de pH con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5M (A), Centrifugación (B), tratamiento térmico (C) y finalmente la proteína (D)

### Anexo 3

#### *Esquema del análisis de la varianza para el contenido proteico*

FdV	Gl
<b>Total</b>	18
<b>A</b>	1
<b>B</b>	2
<b>AxB</b>	2
<b>Repetición</b>	2
<b>Error</b>	10

Esquema a partir de la cuantificación

### Anexo 4

#### *Esquema del análisis para la actividad antifúngica*

FdV	Gl
<b>Total</b>	53
<b>A</b>	1
<b>B</b>	2
<b>C</b>	2
<b>AxB</b>	2
<b>AxC</b>	2
<b>BxC</b>	4
<b>AxBxC</b>	4
<b>Repetición</b>	2
<b>Error</b>	34

### Anexo 5

#### *Supuestos para el contenido Proteico*

##### **Pruebas de normalidad (A)**

		Shapiro-Wilk		
Variedad	Contenido Proteína (mg)	Estadístico	gl	Sig.
	Violeta	,933	9	,511
	Súper Chola	,793	9	,017

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

<b>Pruebas de normalidad (B)</b>				
		Shapiro-Wilk		
Temperatura (°C)		Estadístico	gl	Sig.
Contenido Proteína (mg)	50°C	,906	6	,413
	75°C	,993	6	,996
	100°C	,914	6	,464

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Normalidad con respecto a las variedades (A) y a los tratamientos térmicos (B).

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas (A)</b>				
Contenido Proteína (mg)				
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.	
4,772	1	16	,044	

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas (B)</b>				
Contenido Proteína (mg)				
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.	
1,099	2	15	,358	

Homogeneidad por variedad (A) y temperaturas (B)

## Anexo 6

### *Supuestos para la actividad inhibitoria*

<b>Pruebas de normalidad (A)</b>				
		Shapiro-Wilk		
Variedades		Estadístico	gl	Sig.
Área de crecimineto (mm <sup>2</sup> )	Súper Chola	,908	135	,000
	Violeta	,941	135	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

<b>Pruebas de normalidad (B)</b>				
		Shapiro-Wilk		
Temperatura de extracción °C		Estadístico	gl	Sig.
Área de crecimineto (mm <sup>2</sup> )	50°C	,928	90	,000
	75°C	,927	90	,000
	100°C	,929	90	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

<b>Pruebas de normalidad (C)</b>				
Shapiro-Wilk				
Tipo de proteína		Estadístico	gl	Sig.
Área de crecimineto (mm <sup>2</sup> )	Total	,924	90	,000
	Filtrada	,926	90	,000
	Retenida	,919	90	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

Normalidad para variedad (A), temperaturas de extracción (B) y tipo de proteína (C)

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas (A)</b>				<b>Prueba de homogeneidad de varianzas (B)</b>			
Área de crecimineto (mm <sup>2</sup> )				Área de crecimineto (mm <sup>2</sup> )			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
58,559	1	268	,000	,043	2	267	,958

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas (C)</b>				
Área de crecimineto (mm <sup>2</sup> )				
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.	
2,191	2	267	,114	

Homogeneidad para variedad (A), temperatura (B) y tipo de proteína (C)

## Anexo 7

### *Análisis proximal INIAP. Informe del ensayo 19-042*

Análisis	Humedad	Cenizas <sup>Ω</sup>	E.E <sup>Ω</sup>	Proteína <sup>Ω</sup>	Fibra <sup>Ω</sup>	E.L.N <sup>Ω</sup>	IDENTIFICACIÓN
Método	<b>MO-LSAIA-01.01</b>	<b>MO-LSAIA-01.02</b>	<b>MO-LSAIA-01.03</b>	<b>MO-LSAIA-01.04</b>	<b>MO-LSAIA-01.05</b>	<b>MO-LSAIA-01.06</b>	
Método ref.	<b>U. FLORIDA 1970</b>	<b>U. FLORIDA 1970</b>	<b>U. FLORIDA 1970</b>	<b>U. FLORIDA 1970</b>	<b>U. FLORIDA 1970</b>	<b>U. FLORIDA 1970</b>	
Unidad	%	%	%	%	%	%	
<b>19-0318</b>	76.10	5.02	0.34	12.43	4.75	77.47	Súper Chola Pulpa
<b>19-0319</b>	77.06	3.95	0.27	10.80	2.06	82.92	Súper Chola Cáscara
<b>19-0320</b>	78.98	4.06	0.49	13.46	4.63	77.36	Violeta pulpa
<b>19-0321</b>	82.97	4.13	0.30	12.05	2.21	81.31	Violeta cáscara

Los ensayos marcados con <sup>Ω</sup> se reportan en base seca.



## Anexo 8

### Análisis de t de student para contenido de almidón

		Prueba de muestras independientes			
		Prueba de Levene de calidad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias	
		F	Sig.	t	gl
<b>Almidón (g aDW almidón/g DWpulpa)</b>	Se asumen varianzas iguales	,207	,673	-,383	4

## Anexo 9

### Balace de masa de las variedades evaluadas

		Variedades			
		Súper Chola		Violeta	
Entrada al sistema (g)	Salida del sistema (g)	Entrada al sistema (g)	Salida del sistema (g)		
<b>Papa</b>	160.01	<b>Pulpa</b>	31.33	<b>Papa</b>	159.98
<b>Agua</b>	100	<b>Almidón</b>	27.51	<b>Agua</b>	100
		<b>Agua</b>	134.10		
		<b>Pellet</b>	1.61		
		<b>*Proteína</b>	3.58		
<b>Total</b>	<b>260.01</b>	<b>Total</b>	<b>198.13</b>	<b>Total</b>	<b>259.98</b>
				<b>Total</b>	<b>194.73</b>

Se muestra el balance con los promedios de las diferentes repeticiones.

\*Nota: valor de proteína obtenido de la pulpa peso seco (DW) con respecto al análisis proximal.

## Anexo 10

### Análisis de la varianza para el contenido (mg) de proteína

Pruebas de efectos inter-sujetos			
Variable dependiente:	Contenido de proteína (g)		
Origen	gl	F	p.
Modelo corregido	7	46,918	,000
Interceptación	1	4654,950	,000
Repetición	2	8,552	,007
Variedad	1	1,516	,246
Temperatura	2	143,816	,000
Variedad * Temperatura	2	11,087	,003
Error	10		
Total	18		
Total corregido	17		
<b>a. R al cuadrado = ,970 (R al cuadrado ajustada = ,950)</b>			

## Anexo 11

### Variables independientes incluidas en el análisis de regresión lineal

Resumen del modelo <sup>d</sup>									
Modelo	R	R cuadrado	Error estándar de la estimación	Estadísticas de cambios					
				Cambio de cuadrado de R	Cambio en F	df1	df2	p. Cambio en F	
1	,916 <sup>a</sup>	,839	,838	192,22071	,839	1394,769	1	268	,000
2	,934 <sup>b</sup>	,873	,872	171,00827	,034	71,611	1	267	,000
3	,938 <sup>c</sup>	,879	,878	166,92327	,006	14,228	1	266	,000

a. Predictores: (Constante), Tiempo (Días)

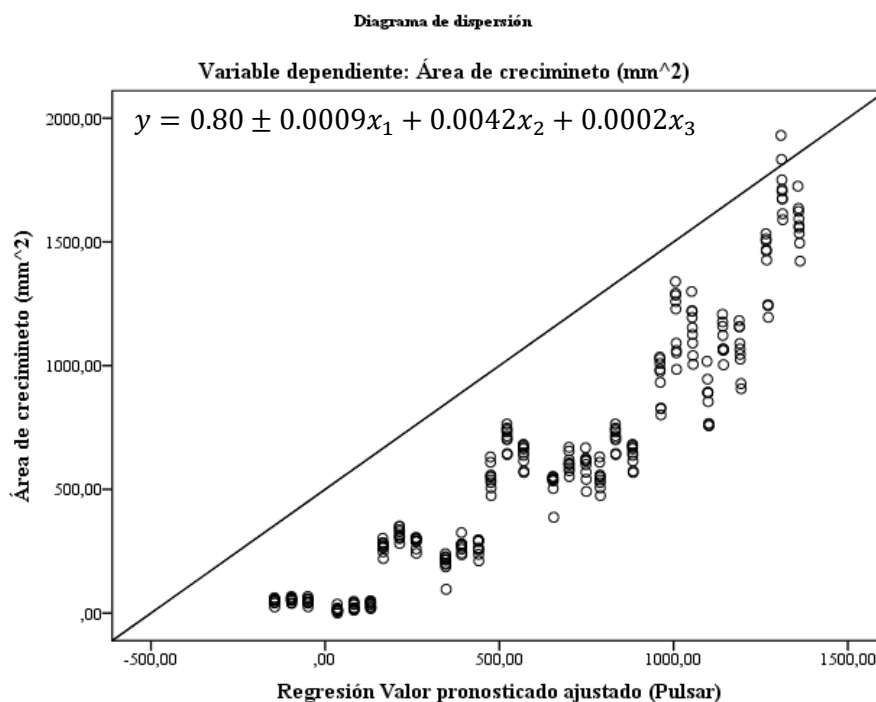
b. Predictores: (Constante), Tiempo (Días), Variedades

c. Predictores: (Constante), Tiempo (Días), Variedades, Tipo de proteína

d. Variable dependiente: Área de crecimineto (mm<sup>2</sup>)

## Anexo 12

Diagrama de dispersión de área de crecimiento sobre tiempo (en días), variedad y tipo de proteína.



## Anexo 13

### Análisis de la varianza día 1

Pruebas de efectos inter-sujetos						
Variable dependiente:	Área mm <sup>2</sup>					
Origen	Tipo I de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	p.	
Repetición	250,127	2	125,064	,826	,446	
Variedad	8091,589	1	8091,589	53,15	,000	
Temperatura	227,544	2	113,772	,752	,479	
Tipo de Proteína	1194,99	2	597,840	3,950	,029	
Variedad * Temperatura	6,333	2	3,166	,021	,979	
Variedad * Proteína	1057,410	2	528,705	3,493	,042	
Temperatura * Proteína	315,095	4	78,774	,520	,721	
Variedad * Temperatura * Proteína	108,087	4	27,022	,179	,948	
Error	5145,924	34	151,351			
Total corregido	16387,824	53				

a. R al cuadrado = ,686 (R al cuadrado ajustada = ,511)

Variedad	Medias	n	E.E	
Súper Chola	50.08	27	2.37	B
Violeta	25.33	27	2.38	A

Rangos de Significancia para las variedades día 1

Variedad	Medias	n	E.E	
Retenida	41.80	18	2.93	A
Filtrada	40.97	18	2.90	AB
Total	31.92	18	2.90	B

Rangos de significancia para tipo de proteínas día 1

## Anexo 14

### Análisis de la varianza día 3

Pruebas de efectos inter-sujetos						
Variable dependiente:	Área (mm <sup>2</sup> )					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	p	
Repetición	6374,382	2	3187,191	1,416	,257	
Variedad	46331,023	1	46331,023	20,34	,000	
Temperatura	1480,562	2	740,281	,329	,722	
Tipo_de_proteína	139031,408	2	69515,704	31,25	,000	

<b>Variedad * Temperatura</b>	8370,367	2	4185,184	1,860	,171
<b>Variedad * Tipo_de_proteína</b>	14529,953	2	7264,976	3,228	,052
<b>Temperatura * Tipo_de_proteína</b>	1861,745	4	465,436	,207	,933
<b>Variedad * Temperatura * Tipo_de_proteína</b>	8663,918	4	2165,980	,962	,441
<b>Error</b>	76517,278	34	2250,508		
<b>Total</b>	19965161,568	54			
<b>Total corregido</b>	303963,899	53			

**a. R al cuadrado = ,748 (R al cuadrado ajustada = ,608)**

Variedad	Medias	n	E.E	
Violeta	632.52	27	9.13	A
Súper Chola	572.30	27	9.19	B

Rangos de Significancia para las variedades día 3

Variedad	Medias	n	E.E	
Filtrada	660.82	18	11.28	A
Retenida	615.63	18	11.18	B
Total	535.69	18	11.18	C

Rangos de significancia para tipo de proteínas día 3

Anexo 15

*Análisis de la varianza día 4*

<b>Pruebas de efectos inter-sujetos</b>					
<b>Variable dependiente:</b>	Área (mm <sup>2</sup> )				
<b>Origen</b>	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	p.
<b>Repetición</b>	14780,603	2	7390,302	1,207	,311
<b>Variedad</b>	2786697,260	1	2786697,260	456,57	,000
<b>Temperatura</b>	7376,577	2	3688,289	,603	,553
<b>Tipo_de_proteína</b>	392485,892	2	196242,946	32,20	,000
<b>Variedad * Temperatura</b>	6099,396	2	3049,698	,498	,612
<b>Variedad * Tipo_de_proteína</b>	37209,675	2	18604,837	3,039	,061
<b>Temperatura * Tipo_de_proteína</b>	30105,998	4	7526,499	1,230	,317

<b>Variedad * Temperatura * Tipo_de_proteína</b>	56322,072	4	14080,518	2,300	,079
<b>Error</b>	208117,929	34	6121,116		
<b>Total</b>	43491855,307	54			
<b>Total corregido</b>	3550204,441	53			

a. R al cuadrado = ,941 (R al cuadrado ajustada = ,909)

Variedad	Medias	n	E.E	
Súper Chola	1081.99	27	15.15	A
Violeta	632.52	27	15.06	B

Rangos de Significancia para las variedades día 4

Variedad	Medias	n	E.E	
Filtrada	926.72	18	18.61	A
Retenida	893.72	18	18.44	A
Total	742.69	18	18.44	B

Rangos de significancia para tipo de proteínas día 4

## Anexo 16

### Análisis de la varianza del día 5

<b>Pruebas de efectos inter-sujetos</b>					
<b>Variable dependiente:</b>	Área (mm <sup>2</sup> )				
<b>Origen</b>	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	p.
<b>Repetición</b>	21814,133	2	10907,066	1,104	,343
<b>Variedad</b>	4111545,901	1	4111545,901	419,82	,000
<b>Temperatura</b>	5587,205	2	2793,602	,283	,755
<b>Tipo de Proteína</b>	718427,513	2	359213,756	37,07	,000
<b>Variedad * Temperatura</b>	45031,647	2	22515,824	2,279	,118
<b>Variedad * Proteína</b>	25132,656	2	12566,328	1,272	,293
<b>Temperatura * Proteína</b>	11930,567	4	2982,642	,302	,875
<b>Variedad * Temperatura * Proteína</b>	42829,353	4	10707,338	1,084	,380
<b>Error</b>	335892,858	34	9879,202		
<b>Total</b>	94798942,167	54			
<b>Total corregido</b>	5376919,566	53			

a. R al cuadrado = ,938 (R al cuadrado ajustada = ,903)

Variedad	Medias	n	E.E	
Súper Chola	1555.37	27	19.25	A
Violeta	1009.70	27	19.13	B

Rangos de Significancia para las variedades día 4

Variedad	Medias	n	E.E	
Filtrada	1389.74	18	23.64	A
Retenida	1317.19	18	23.43	A
Total	1131.48	18	23.43	B

Rangos de significancia para tipo de proteínas día 4