



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Evaluación del efecto del quitosán como cubriente en granos de maíz, en la mortalidad, la oviposición y emergencia de *Sitophilus zeamais* y como antifúngico en hongos de campo y almacén *in vitro*.

T E S I S

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO EN ALIMENTOS**

PRESENTAN:

**GUADALUPE CANDELARIA COVARRUBIAS CRUZ
MARÍA DE LOURDES HIDALGO HERNÁNDEZ**

ASESORES:

**DRA. S. PATRICIA MIRANDA CASTRO
M. C. MA. CRISTINA JULIA PÉREZ REYES
DR. SERGIO JIMÉNEZ AMBRÍZ**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ÍNDICE

	PÁGINA
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
CAPÍTULO I.- ANTECEDENTES	7
1.1 IMPORTANCIA DEL CULTIVO DEL MAÍZ	7
1.2 PRODUCCIÓN NACIONAL	9
1.3 IMPORTACIÓN	10
1.4 MORFOLOGÍA DEL MAÍZ	11
1.5 ESTRUCTURA DE LA SEMILLA DEL MAÍZ	12
1.5.1 PERICARPIO	12
1.5.2 ENDOSPERMO	13
1.5.3 GERMEN	13
1.6 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS PARTES DEL GRANO DE MAÍZ	14
1.7 TIPOS DE MAÍZ	15
1.8 COSECHA Y MANEJO POSTCOSECHA	18
1.9 SECADO	18
1.10 ALMACENAMIENTO	21
1.11 DAÑOS CAUSADOS POR PLAGAS Y ENFERMEDADES	21
1.12 TRATAMIENTO	23
1.13 GORGOJO DEL MAÍZ (<i>Sitophilus zeamais</i>)	24
1.13.1 IDENTIFICACIÓN	25
1.13.2 CLASIFICACIÓN	25
1.13.3 TAXONOMÍA	26
1.13.4 DESCRIPCIÓN	26
1.13.5 CARACTERÍSTICAS	27
1.13.6 DESARROLLO	27
1.13.7 DAÑOS	29
1.13.7.1 DAÑO DIRECTO	30
1.13.7.2 DAÑO INDIRECTO	31
1.13.8 FACTORES QUE INFLUYEN EN EL INCREMENTO DE POBLACIONES DE INSECTOS	31
1.14 CONTROL	32
1.14.1 CONTROL FÍSICO	32
1.14.2 CONTROL BIOLÓGICO	33
1.14.3 CONTROL QUÍMICO	34

1.15	HONGOS	36
1.15.1	MORFOLOGÍA	36
1.15.2	REPRODUCCIÓN	36
1.15.3	IDENTIFICACIÓN	37
1.15.4	CICLO DE VIDA	38
1.15.5	CLASIFICACIÓN DE LOS HONGOS UTILIZADOS EN ESTE ESTUDIO	38
1.15.6	CLASIFICACIÓN DE LOS HONGOS QUE ATACAN AL GRANO DE MAÍZ	39
1.15.6.1	HONGOS DE CAMPO	39
1.15.6.2	HONGOS DE ALMACÉN	41
1.15.7	CONDICIONES QUE FAVORECEN EL DESARROLLO DE HONGOS DE ALMACÉN	41
1.15.8	CARACTERÍSTICAS DE LOS HONGOS DE CAMPO Y ALMACÉN EN MAÍZ	43
1.15.9	CONTROL DE ENFERMEDADES	48
1.15.9.1	CONTROL BIOLÓGICO	49
1.15.9.2	CONTROL QUÍMICO	50
1.16	QUITINA Y QUITOSÁN	52
1.16.1	GENERALIDADES	52
1.16.2	PROCESAMIENTO DE LA QUITINA Y QUITOSÁN	55
1.16.3	PROPIEDADES DE LA QUITINA Y QUITOSÁN	59
1.16.4	PROPIEDADES DEL QUITOSÁN COMO SOLUCIÓN	60
1.16.5	APLICACIONES DE LA QUITINA Y QUITOSÁN	60
1.16.6	TIPOS DE QUITOSÁN: LÍQUIDO O SÓLIDO	63
1.16.7	ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LA QUITINA Y QUITOSÁN	64
1.16.8	EFFECTO DE LA NATURALEZA DE LA QUITINA Y EL QUITOSÁN EN LA ACTIVIDAD MICROBIAL	66
1.16.9	MECANISMOS PARA EXPLICAR LA RESISTENCIA MICROBIANA DEL QUITOSÁN	67
1.16.10	FACTORES EXTRÍNSECOS QUE INFLUYEN EN LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIAL	69
1.16.10.1	pH	69
1.16.10.2	CONTENIDO DEL AGUA EN EL HOSPEDERO Y/O SUSTRATO	69

CAPÍTULO II.- OBJETIVOS	71
OBJETIVO GENERAL	72
OBJETIVOS PARTICULARES	72
CAPÍTULO III.-METODOLOGÍA	73
CUADRO METODOLÓGICO	74
Objetivo particular 1	76
Objetivo particular 2	77
Objetivo particular 3	80
CAPÍTULO IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	84
CONCLUSIONES	101
RECOMENDACIONES	105
BIBLIOGRAFÍA	105

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Superficie Cosechada de los Principales Cultivos en México durante los años agrícolas 2000-2003	7
Cuadro 2. Principales Productores 1990-2003 Ciclo Otoño-Invierno	9
Cuadro 3. Principales variables de grano de maíz en México Años Agrícolas 1990-2003	10
Cuadro 4. México: Producción, Consumo e Importación	11
Cuadro 5. Composición química proximal de las partes principales de los granos de maíz	15
Cuadro 6. Efecto del contenido de humedad del grano sobre la fisiología de la semilla y la presencia de factores bióticos de estrés	19
Cuadro 7. Clasificación de los hongos utilizados en este estudio patógenos	38
Cuadro 8. Propiedades del quitosán como solución	60
Cuadro 9. Propiedades y Aplicaciones del quitosán	62
Cuadro 10. Porcentaje de inhibición en los tratamientos de quitosán-PDA y quitosán-MSA	93
Cuadro 11. Porcentaje de inhibición en los hongos de campo y almacén	100

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Superficie Sembrada por Modalidad Hídrica Año Agrícola 1990-2003	8
Figura 2. Estructura del grano de maíz corte longitudinal	14
Figura 3. Infestación del grano	27
Figura 4. Morfología de <i>Sitophilus zeamais</i>	27
Figura 5. Ciclo de vida del desarrollo de <i>Sitophilus zeamais</i>	29
Figura 6. Mazorca infestada de <i>Fusarium graminearum</i>	40
Figura 7. Grano de maíz infestado de <i>Fusarium moniliforme</i>	40
Figura 8. Esporulación del hongo <i>Aspergillus flavus</i>	40
Figura 9. <i>Fusarium graminearium</i>	48
Figura 10. <i>Fusarium moniliforme</i>	48
Figura 11. <i>Helminthosporium sativum</i>	48
Figura 12. <i>Aspergillus flavus</i>	48
Figura 13. <i>Aspergillus candidus</i>	48
Figura 14. <i>Aspergillus amstelodami</i>	48
Figura 15. Estructura de la quitina	53
Figura 16. Estructura del quitosán	53
Figura 17. Estructura de la celulosa	53
Figura 18. Proceso de elaboración de la quitina	57
Figura 19. Proceso de elaboración de quitosán	58

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1.	Emergencia de <i>Sitophilus zeamais</i> en maíz cubierto con quitosán en peso molecular bajo en diferentes periodos de infestación	86
Gráfica 2.	Emergencia de <i>Sitophilus zeamais</i> en maíz cubierto con quitosán de peso molecular medio en diferentes concentraciones	87
Gráfica 3.	Emergencia de <i>Sitophilus zeamais</i> en maíz cubierto con quitosán de peso molecular medio, en diferentes períodos de infestación	88
Gráfica 4.	Aumento de peso de maíz cubierto con quitosán en peso molecular bajo en diferentes concentraciones	89
Gráfica 5.	Aumento de peso de maíz cubierto con quitosán en peso molecular medio en diferentes concentraciones	90
Gráfica 6.	Porcentaje de grano dañado en maíz cubierto con quitosán de peso molecular bajo en diferentes periodos de infestación	91
Gráfica 7.	Porcentaje de grano dañado cubierto con quitosán de peso molecular medio en diferentes concentraciones	92
Gráfica 8.	Porcentaje de grano dañado cubierto con quitosán de peso molecular medio en diferentes periodos de infestación	92
Gráfica 9.	Efecto del peso molecular, tiempo y concentración de quitosán sobre el porcentaje de inhibición de <i>F. graminearium</i>	94
Gráfica 10.	Efecto del peso molecular, tiempo y concentración de quitosán sobre el porcentaje de inhibición de <i>F. moniliforme</i>	95
Gráfica 11.	Efecto del peso molecular, tiempo y concentración de quitosán sobre el porcentaje de inhibición de <i>Helminthosporium sativum</i>	96
Gráfica 12.	Efecto del peso molecular, concentración y tiempo del quitosán sobre el porcentaje de inhibición de <i>A. amstelodami</i>	97
Gráfica 13.	Efecto del peso molecular, tiempo y concentración de quitosán sobre el porcentaje de inhibición <i>A. flavus</i>	98
Gráfica 14.	Efecto del peso molecular, concentración y tiempo de quitosán sobre el porcentaje de inhibición de <i>A. candidus</i>	99

RESUMEN

En el presente trabajo se realizó una evaluación del efecto del quitosán como recubrimiento en granos de maíz en la mortalidad, oviposición y emergencia de *Sitophilus zeamais*. Asimismo, se evaluó como antifúngico en hongos de campo y en hongos de almacén *in vitro*.

Para llevar a cabo este trabajo se realizaron tres experimentos, en el primero, se evaluó el efecto de quitosán como insecticida en granos de maíz como cubriente para el control de *Sitophilus zeamais*, ésto se llevó a cabo utilizando quitosán con dos diferentes pesos moleculares: 52 800 g/mol y 136 130 g/mol en concentraciones de 0.5%, 1.0%, 2.0% y 4.0% para el primer peso molecular, y en concentraciones de 0.5, 1.0,1.5 y 2.0% para el segundo; en el segundo experimento se evaluó el efecto del quitosán en la oviposición y emergencia de *Sitophilus zeamais* en las mismas concentraciones que en el primer experimento, además también se evaluó como antifúngico el quitosán en hongos de campo (*Fusarium graminearum*, *F. moniliforme* y *Helminthosporium*) y almacén (*Aspergillus flavus*, *A. candidus* y *A. amstelodami*) *in vitro*, en soluciones con tres diferentes pesos moleculares de quitosán: 52 800 g/mol, 136 130 g/mol y 251 500 g/mol en concentraciones de quitosán de 0.5%, 1.0%, y 2.0%.

En el primer experimento, donde se realizó un recubrimiento de los granos y se infestaron, para posteriormente cuantificar la mortalidad existente de los insectos al 1er día, 2do día, 4to día y 8vo día de infestación, el quitosán no proporcionó protección alguna a los granos de maíz contra el ataque del gorgojo del maíz.

Posteriormente, se valoró el efecto del quitosán en la oviposición y emergencia en pesos moleculares bajo y medio aplicados en concentraciones de 0.5%, 1.0%,

2.0% y 4.0 % y 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0% para cada peso molecular respectivamente. Como resultado se obtuvo una nula disminución de la oviposición y emergencia del gorgojo en los granos de maíz en los periodos de infestación: 1, 2, 4 y 8 días.

En el último experimento se evaluó la actividad antifúngica del quitosán en hongos de campo y almacén, se reportó el porcentaje de inhibición de cada uno de los hongos en los tres diferentes pesos moleculares de quitosán 52 800 g/mol, 136 130 g/mol y 251 500 g/mol en concentraciones de 0.5%, 1.0% y 2.0%, en donde el quitosán mostró efecto fungicida en los pesos moleculares: bajo y medio en la concentración de 2.0%, mientras que el peso molecular alto mostró efecto fungistático en los hongos de campo y almacén *in vitro* después de su aplicación.

INTRODUCCIÓN

El maíz es uno de los cereales más importantes del mundo, suministra elementos nutritivos a los seres humanos y es una materia prima básica (FAO, 1993), tiene una gama de usos más amplia que cualquier otro cereal (Company, 1984).

México es un país muy poblado que tiene que producir grandes cantidades de granos de maíz que forman parte importante de la dieta de los mexicanos. Todos los productos agrícolas son invadidos por diversos insectos y hongos. El trigo y el maíz son los cereales más susceptibles al ataque de estos organismos, que degradan su calidad en diversas formas (Tequida y cols., 2002).

Los insectos que atacan al grano almacenado se agrupan en dos clases: primarios y secundarios. Los insectos primarios son aquellos (Aplabaza, 1994) que se alimentan de granos y se reproducen en grandes cantidades (Abasicong, 1997). Los que corresponden a este grupo es el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*) Motschulsky y es la plaga que más daño hace al maíz en México (Vásquez, 2001). Estos insectos son responsables de grandes pérdidas de maíz almacenado cada año, en forma de grano o en mazorca (Walton, Hat, 1962).

Por otra parte los granos y las semillas son invadidos por diversos hongos en el campo entre ellos; *Fusarium* sp, *Alternaria* sp, *Cladosporium* sp y *Helminthosporium* sp. también son invadidos por hongos de almacén, que atacan y dañan al grano de maíz cuando la humedad está entre 14 y 18% (Smith y White, 1988), las especies que atacan al maíz son especies de *Aspergillus* sp y *Penicillium* sp (Moreno, 1988). Durante su desarrollo en los granos, los hongos causan diversas clases de daños, siendo los más importantes la pérdida de capacidad de

germinación, decoloración, calentamiento y producción de micotoxinas (Tequida, 2002)

El principal método de manejo de plagas y enfermedades de los cultivos ha sido el control químico pero, problemas tanto de contaminación ambiental, que han impactado negativamente en la biodiversidad de los agroecosistemas, como de seguridad y salud pública, inherentes a la fabricación y uso inadecuado de los agroquímicos, ha conducido a la búsqueda y desarrollo de alternativas ecológicas (Zavaleta, 1999). Actualmente no existe ningún método de control de hongos, solo medidas preventivas como monitorear la temperatura y la humedad del grano (Tequida, 2002).

Una de las promesas en este ámbito, es el que está relacionado con la aplicación de los polímeros naturales biodegradables. El Quitosán es un polisacárido catiónico natural (Fernández y cols., 2004), que aún no ha sido explotado completamente en la agricultura, el comportamiento de la formación de películas, biodegradabilidad o bioactividad, son favorables para lograr nuevas aplicaciones de este polímero natural en la agricultura con una eficacia práctica y económica más alta que la de agentes ya conocidos (Struszczyk, 1989). En años recientes ha existido un considerable interés por explorar las propiedades benéficas de polímeros como la quitina y el quitosán con propósitos agrícolas (Arias, 1998).

En actividades relacionadas con la agricultura los polímeros se han evaluado por su potencial para controlar la captación de agua en semillas, por el control que ejerce sobre la actividad de los hongos en granos almacenados bajo condiciones de alta humedad relativa y en la protección de semillas del ataque de insectos (Arias, 1998).

Con base en las investigaciones anteriores en donde se ha probado el quitosán y se han visto resultados favorables, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto insecticida del quitosán como cubriente en semillas de maíz y como antifúngico en hongos de campo (*Fusarium graminearum*, *Fusarium moniliforme* y *Helminthosporium sativum*) y en hongos de almacén (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus candidus* y *Aspergillus amstelodami*) *in vitro*.

CAPÍTULO I

ANTECEDENTES

CAPÍTULO I.- ANTECEDENTES

1.1 IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE MAÍZ

El maíz sigue siendo el principal cultivo a nivel nacional dada su importancia en la alimentación del mexicano y como la principal fuente de nutrimento de un amplio sector de la población (Vega y Ramírez, 2004), cultivándose a lo largo de toda la República Mexicana (Situación Actual y Perspectiva del Maíz, 2004). Y es por lo tanto el principal cultivo del país, en función de la superficie total cosechada y de la producción de los principales cultivos anuales (Cuadro 1); constituye además el soporte de la economía campesina, como lo demuestra el hecho de que el 85% de la superficie cultivada se encuentre en tierras de temporal (Abasto y comercialización de productos básicos, 1989).

Cuadro 1. Superficie Cosechada de los Principales Cultivos en México durante los años agrícolas 2000-2003

CULTIVO	2000	2001	2002	2003
GRANOS BASICOS	9425.9*	10249.4*	9858.4*	10089.7*
Maíz Grano	7131.2	7810.8	7118.9	7520.9
Frijol	1502.8	1698.2	2054.4	1904.1
Trigo Grano	707.8	687.2	634.6	604.7
Arroz Palay	84.1	53.2	50.5	60.0

* Miles de Hectáreas

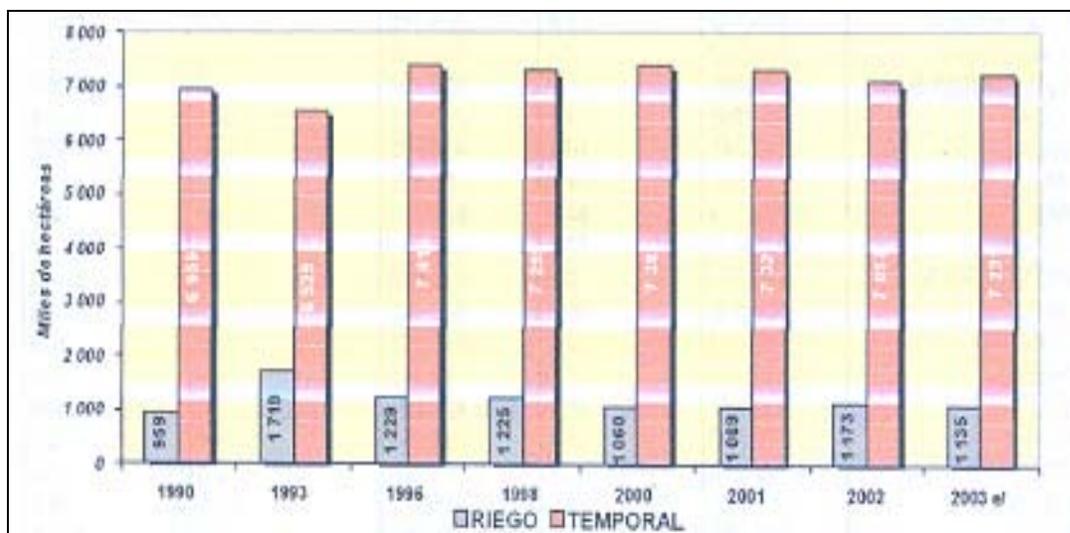
Fuente: Servicio de Información Estadística Agroalimentaria y Pesquera SIAP/SAGARPA, 2003 (con datos del SIACON)

De la superficie sembrada de maíz, en el periodo 1990-2002 el 60.1% en promedio correspondió al ciclo Primavera-Verano y el 25.4% lo aportó el Otoño –Invierno. Por régimen o modalidad hídrica, la superficie sembrada de maíz es predominantemente de temporal, representado en el periodo 1990-2003 el 84.9% de la superficie sembrada en el año agrícola. El porcentaje restante corresponde al régimen de riego (Figura 1) (Situación Actual y Perspectiva del Maíz, 2004).

Por otro lado la superficie cosechada de maíz alcanzó en promedio el 52.2% de la superficie nacional en el periodo 1990-2002. Por ciclo agrícola, el maíz participó con el 25.4% de la superficie cosechada nacional en el ciclo Otoño-Invierno, mientras que en el Primavera-Verano su contribución fue del 60.1% en promedio (Situación Actual y Perspectiva del Maíz, 2004).

Figura 1 Superficie sembrada por modalidad hídrica

Año Agrícola 190-2003



En su conjunto la producción del ciclo Otoño-Invierno creció en 8.4% en promedio en el período 1990-2003, en donde destacan los incrementos anuales de Sinaloa, Chiapas, Sonora y Veracruz (Cuadro 2). Mientras que en el ciclo Primavera-Verano la producción creció a un ritmo anual del 2.0% en donde Chiapas, Michoacán, Guerrero, Veracruz y Oaxaca tienen el más alto crecimiento (Situación Actual y Perspectiva del Maíz, 2004).

Cuadro 2. Principales Productores 1990-2003
Ciclo Otoño-Invierno

Estado	1990	1993	1996	1998	1999	2000	2001	2002	2003
Sinaloa	236	1728	1525	2069	1188	2195	2484	2844	2511
Sonora	98	364	589	265	279	44	57	134	229
Tamaulipas	566	1055	110	251	149	212	64	109	154
Veracruz	255	212	283	185	282	353	362	233	361
Chiapas	55	85	143	122	162	151	162	161	155
Subtotal	1155	3359	2507	2770	1898	2804	2967	3320	3256
Nacional	1403	3823	3160	3334	2611	3545	3726	4029	3984

*Miles de Toneladas

FUENTE: Servicio de Información Estadística Agroalimentaria y Pesquera SIAP/SAGARPA, 2003 (con datos del SIACON)

1.2 PRODUCCIÓN NACIONAL

La producción de maíz se lleva a cabo en los 31 estados de la República Mexicana y el Distrito Federal, bajo las más diversas condiciones agroclimáticas, en algunas zonas en un cultivo de temporal y riego y en otras más tecnificadas, en dos ciclos productivos: primavera-verano y otoño-invierno (Vega y Ramírez, 2004)

La producción nacional se obtiene de las cosechas de los ciclos primavera-verano y otoño-invierno (Abasto y Comercialización de productos básicos, 1988). Los principales estados productores de maíz del ciclo Primavera-Verano son Chiapas, Guanajuato, Guerrero, Jalisco, Michoacán y el Estado de México, mientras que en ciclo Otoño-Invierno destacan Sinaloa (Situación Actual y Perspectiva del Maíz, 2004).

La producción de maíz en México para el año agrícola 2003 se sitúa en 21.1 millones de toneladas, nivel superior en 9.3% a la cifra del año agrícola anterior (Situación Actual y Perspectiva del Maíz, 2004). Mientras que el rendimiento por hectárea llegó a un promedio de 2.530 toneladas por hectárea (cuadro 3).

Cuadro 3. Principales variables de grano de maíz en México
Años Agrícolas 1990-2003

CONCEPTO	1990	1993	1996	1999	2000	2001	2002	2003
SUPERFICIE SEMBRADA (Miles de hectáreas)	7 918	8 248	8.639	8 496	8 445	8 397	8 269	8 366
SUPERFICIE COSECHADA (Miles de hectáreas)	7 339	7 428	8051	7163	7 131	7 811	7 117	8 341
PRODUCCIÓN (Miles de toneladas)	14635	18125	180224	17706	17557	20134	19291	21105
RENDIMIENTO (Toneladas /hectárea)	1.994	2.440	2.239	2.472	2.462	2.578	2.710	2.530

FUENTE: Servicio de información y Estadística Agroalimentaria, 2003 (SIAP)SAGARPA

1.3 IMPORTACIÓN

En cuanto a las importaciones, cuatro países se distinguen por ser los principales compradores externos de maíz. Japón es el primer importador del mundo, seguido por Corea del sur, Taiwán y México (Situación Actual y Perspectiva del Maíz, 2004).

De acuerdo a los volúmenes de producción, la participación de nuestro país en el escenario mundial lo ubica en el cuarto lugar entre los países productores de maíz, superado por Estados Unidos, China y Brasil; en cuanto al consumo, México es superado por Estados Unidos, China y Brasil y por el volumen de importaciones, México también figura en el cuarto lugar mundial, detrás de Japón, Corea del Sur y Taiwán (Cuadro 4). Las importaciones de maíz son realizadas bajo el Tratado de Libre Comercio de América del Norte (TLCAN) y son destinadas a satisfacer los

volúmenes y calidades que demanda la industria, particularmente la almidonera, la de alimentos balanceados y la de aceites comestibles (Situación Actual y Perspectiva del Maíz, 2004).

Cuadro 4. MÉXICO: PRODUCCIÓN, CONSUMO E IMPORTACIÓN

PRODUCCIÓN 2002/03 (Miles de toneladas)		CONSUMO 2002/03 (Miles de toneladas)		IMPORTACIÓN 2002/03 (Miles de toneladas)	
E.U.	228 .805	E.U.	202 575	JAPÓN	15 500
CHINA	121 .300	CHINA	128 100	COREA DEL SUR	9 500
BRASIL	40 .500	BRASIL	37 000	TAIWÁN	4 500
MÉXICO	17 .000	MÉXICO	25 800	MÉXICO	7 000
TOTAL	539, 657	TOTAL	634 166	TOTAL	75 541

FUENTE: Elaborado por el Servicio de Información Estadística Agroalimentaria y Pesquera con información de Grains World Markets and Trade: Foreign Agricultural Service. USDA reporte de junio de 2003

El maíz es, sin lugar a dudas, el cultivo más importante en México, tanto por su consumo como por su producción e incidencia en las importaciones agrícolas.

1.4 MORFOLOGÍA DEL MAÍZ

El maíz es una planta anual con un gran desarrollo vegetativo (Llanos, 1984), es alta, con abundantes hojas y un sistema radical fibroso, normalmente con un solo tallo que tiene hasta 30 hojas. Algunas veces se desarrollan una o dos yemas laterales en la axila de las hojas en la mitad superior de la planta; estas terminan en una inflorescencia femenina la cual se desarrolla en una mazorca cubierta por hojas que la envuelven; esta es la parte de la planta que almacena reservas. La parte superior de la planta termina en una inflorescencia masculina o panoja; la cual tiene una espiga central prominente y varias ramificaciones laterales con flores masculinas, todas las que producen abundantes granos de polen.

El grano o fruto del maíz es un cariopse. La pared del ovario o pericarpio está fundida con la cubierta de la semilla o testa y ambas están combinadas conjuntamente para conformar la pared del fruto. El fruto maduro consiste de tres partes principales: la pared, el embrión diploide y el endospermo triploide. La parte más externa del endospermo en contacto con la pared del fruto es la capa de aleurona. La estructura del endospermo del maíz es muy variable y le da al grano distintas apariencias (Paliwal, 2001).

1.5 ESTRUCTURA DE LA SEMILLA

La semilla es aplanada con forma de cuña y más ancha en sus ápices que en el punto de unión con la mazorca. Las semillas de diferentes tipos de plantas e incluso en algunas mazorcas pueden variar considerablemente en tamaño. El color del grano va desde el color blanco hasta el anaranjado, amarillo, cereza, rojo, rojo-oscuro o café. El pericarpio, el endospermo y el germen son las partes más importantes de la semilla. Las proporciones relativas de estos componentes varían considerablemente dependiendo del tipo de grano (Salunkhe y Chavan, 1985). En la Fig. 2 se muestran las diferentes partes de la semilla.

1.5.1 PERICARPIO

El pericarpio es la pared del ovario desarrollado y maduro, siendo un conjunto de capas que forman la cubierta del fruto envolviendo la semilla, como transformación de la hoja carpelar. En el maíz, el pericarpio se presenta como una delgada película y por lo mismo no se puede diferenciar en epicarpio, mesocarpio y endocarpio, constituyendo así una sola estructura (Robles, 1983).

El pericarpio constituye cerca del 4 al 6% del total de la semilla y se compone principalmente de un 73% de carbohidratos no almidonados e insolubles (Salunkhe y Chavan, 1985). Además, el pericarpio brinda protección contra la invasión fúngica. (Tuit y cols. 1985) reportaron que la susceptibilidad al hongo en

almacenamiento aumenta por el daño al pericarpio y que la susceptibilidad es mucho mayor cuando el daño ocurre en los alrededores del germen (Hoseney y Faubion, 1992).

1.5.2 ENDOSPERMO

El endospermo se compone de la aleurona (2.2%), una región exterior de 2 o 3 células, y también de una porción de córnea externa (58.1 %) y otra porción central harinosa (17.6%). Lo anterior constituye cerca del 80-84 % de la semilla. Las células de aleurona ubicadas bajo la testa y alrededor del endospermo exterior, contienen pigmentos que producen ciertas variaciones en el color: azul, negro o púrpura. El endospermo contiene una porción grande de almidón, menos proteínas y prácticamente nada de aceite (Salunkhe y Chavan, 1985).

1.5.3 GERMEN

La semilla de maíz tiene un germen relativamente más grande que la de otros cereales. Se localiza en la parte baja del endospermo y constituye del 10 al 14% del peso de la semilla. La mayor parte del aceite (81-86%) y de los minerales (80%) están presentes en el germen (Salunkhe y Chavan, 1985). La porción más grande de proteínas y minerales hacen al germen susceptible al ataque de insectos mientras el mayor contenido de aceite provoca cambios hidrolíticos y oxidativos durante su almacenamiento, además, las capas exteriores de la semilla son delgadas alrededor del germen, lo cual lo expone a la infestación y a una reacción a la humedad (Salunkhe y Chavan, 1985).

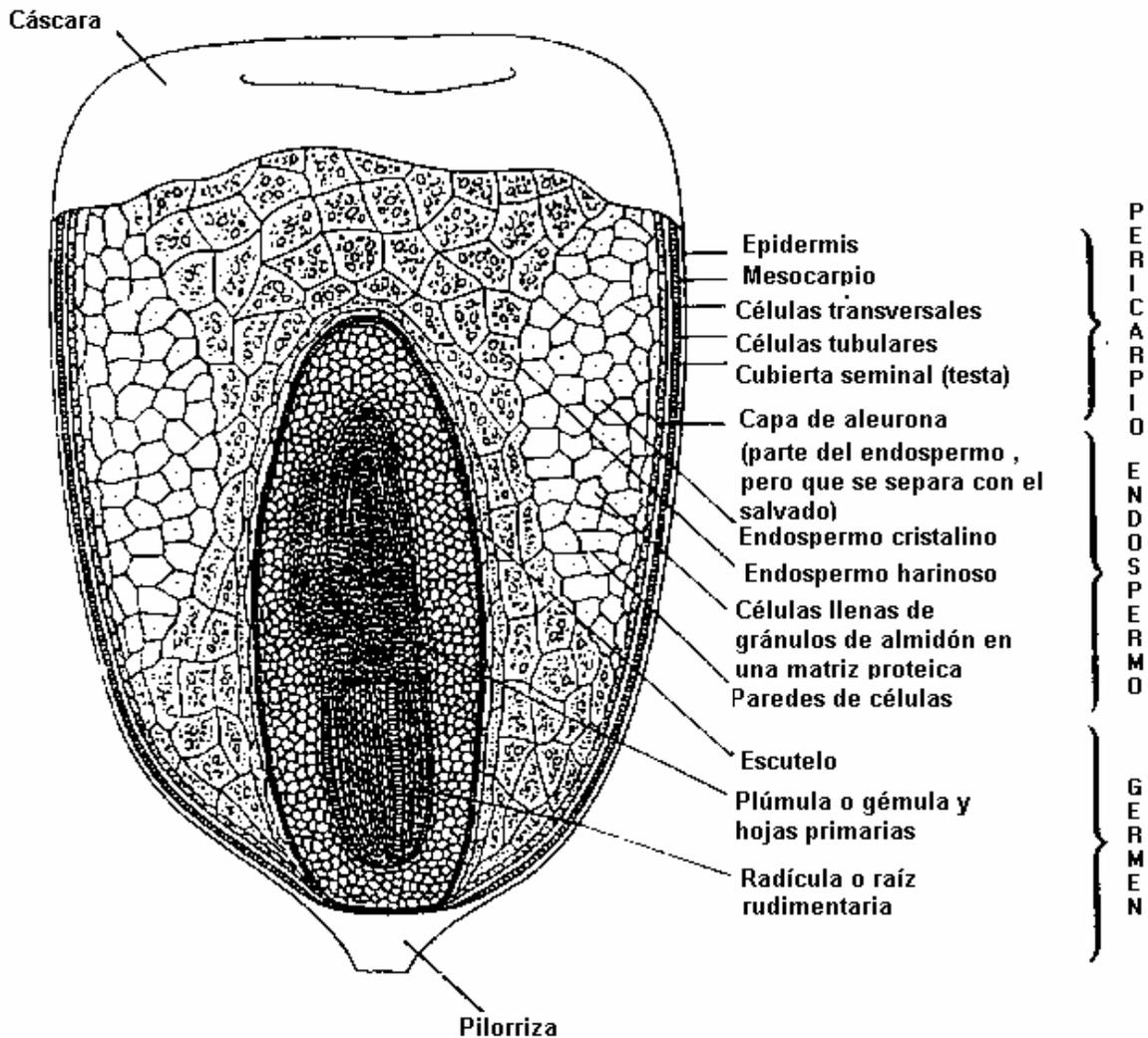


Figura 2. Estructura del grano de maíz corte longitudinal (FAO, 1993)

1.6 Composición Química de las partes del grano de maíz

Como se muestra en el Cuadro 5, las partes principales del grano de maíz difieren considerablemente en su composición química. La cubierta seminal o pericarpio se caracteriza por un elevado contenido de fibra cruda, aproximadamente el 87%, la que a su vez está formada fundamentalmente por un 67 % de hemicelulosa, 23%

celulosa y 0,1% de lignina. El endospermo, en cambio, contiene un nivel elevado de almidón (87%), aproximadamente 8% de proteínas y un contenido de grasas crudas relativamente bajo (FAO, 1993).

Cuadro 5. Composición química proximal de las partes principales de los granos de maíz

Componente químico (%)	Pericarpio	Endospermo	Germen
Proteínas	3,7	8,0	18,4
Extracto etéreo	1,0	0,8	33,2
Fibra cruda	86,7	2,7	8,8
Cenizas	0,8	0,3	10,5
Almidón	7,3	87,6	8,3
Azúcar	0,34	0,62	10,8

Fuente: FAO,1993

Por último, el germen se caracteriza por un elevado contenido de grasas crudas, el 33% por término medio, y contiene también un nivel relativamente elevado de proteínas (aproximadamente del 20%) y minerales. Como se aprecia, el endospermo aporta la mayor parte, seguido por el germen y en último lugar por la cubierta seminal, que presenta sólo cantidades reducidas (FAO, 1993).

1.7 TIPOS DE MAÍZ

El maíz tiene una gran variabilidad en el color del grano, la textura, la composición y la apariencia. Puede ser clasificado en distintos tipos según: a) la constitución del endospermo y del grano; b) el color del grano; c) el ambiente en que es cultivado; d) la madurez, y e) su uso (Paliwal, 2001).

A continuación se mencionan los diferentes tipos de maíz basados en la apariencia del grano, del endospermo y en su uso (Paliwal, 2001).

MAÍZ DURO

Los granos de este tipo de maíz son duros, lisos y contienen poco almidón suave. El endospermo está constituido sobre todo de almidón duro córneo con solo una pequeña parte de almidón blando en el centro del grano. En las zonas templadas, germina mejor, la planta tiene vigor temprano y más hijuelos que las variedades dentadas (Hall, 1981). Son preferidos para alimento humano y para hacer fécula de maíz. El maíz duro germina mejor que otros tipos de maíz, particularmente en suelos húmedos y fríos. Está menos sujeto a daño de insectos y mohos en el campo y en el almacenamiento. (Paliwal, 2001).

MAÍZ REVENTÓN

Esta es una forma extrema de maíz duro con endosperma duro que ocupa la mayor parte del grano y una pequeña cantidad de almidón blando en la parte basal del mismo. Los granos son pequeños, con pericarpio grueso y varían en su forma de redondos a oblongos. Cuando se calienta el grano, revienta y el endospermo sale. El uso principal del maíz reventón es para bocadillos (Paliwal,2001).

MAÍZ DENTADO

El maíz dentado es el tipo de maíz cultivado mas comúnmente para grano y ensilaje. El endospermo del maíz dentado tiene más almidón blando que los tipos duros y el almidón duro está limitado solo a los lados del grano (Paliwal, 2001). Al secarse y contraerse rápidamente el almidón suave, se tiene el característico dentado (Hall, 1981). Los maíces de granos dentados tienen una mayor profundidad de inserción en el olote y tienden a ser más difíciles de trillar que los maíces duros. El maíz dentado es generalmente de mayor rendimiento que otros tipos (Paliwal, 2001).

MAÍZ HARINOSO.

Los granos del maíz harinoso están compuestos en gran parte por almidón suave y tienen pocos dientes o ninguno (Hall, 1981). Los tipos de maíces harinosos muestran gran variabilidad en color de grano y textura. Estos maíces son generalmente usados como alimento humano (Paliwal, 2001).

A causa de la naturaleza blanda del almidón del endospermo estos maíces son altamente susceptibles a la pudrición y a los gusanos de las mazorcas y a otros insectos que los atacan tanto en el campo como en el almacenamiento. Por otra parte, también es difícil mantener la buena germinación de las semillas (Paliwal,2001).

MAÍCES CEROSOS

Su nombre se debe a que su endospermo tiene un aspecto opaco y ceroso. El almidón en los maíces duros y dentados está comúnmente constituido por cerca 70% de amilopectina y 30% de amilosa; en cambio en los maíces cerosos está compuesto exclusivamente por amilopectina. Es un maíz cultivado solo para algunos fines específicos (Paliwal, 2001).

MAÍCES DULCES

El maíz dulce está caracterizado por una apariencia traslúcida y córnea cuando está inmaduro y por una condición vítrea cuando está seco. Las mazorcas se recogen verdes y se usan para enlatado y para consumo en fresco. El maíz dulce difiere del duro solamente por un gene recesivo, el cual impide la conversión de una parte del azúcar del almidón (Hall, 1981). Los granos en su madurez son arrugados debido al colapso del endospermo que contiene muy poco almidón. Los tipos de maíz de grano dulce son susceptibles a enfermedades y son

comparativamente de menor rendimiento que los tipos duros o dentados (Paliwal,2001).

1.8 COSECHA Y MANEJO POSCOSECHA

Tan pronto como los granos de maíz alcanzan la madurez fisiológica, se puede iniciar la cosecha. Es en este momento que la calidad del grano está en su punto máximo y de aquí en adelante tiende a disminuir a una tasa que depende de la forma en que es manejado. Sin embargo, el cultivo raramente es cosechado en el momento de la madurez fisiológica porque los granos tienen un contenido muy alto de humedad (30-35%). Por lo tanto, la cosecha normalmente se demora hasta que la humedad del grano ha llegado a 20-25% (Granados, 2001).

Cuanto más tiempo se demore la cosecha mas humedad perderán los granos. Sin embargo, cuanto más tiempo transcurre el maíz en el campo, mayores posibilidades tendrán de sufrir ataques de insectos y de hongos de los granos almacenados y pudrición de mazorca. Todo esto lleva sin duda a pérdidas de rendimiento y a una menor calidad del grano (Granados, 2001).

1.9 SECADO

Normalmente el maíz se recoge del campo con un contenido de 20-25% de humedad, excesivamente alto para un almacenamiento correcto (Granados, 2001). Durante el almacenamiento se pierden 4.5% del grano por daño y respiración y los insectos ocasionan una pérdida adicional de 1 a 3 %. Las pérdidas durante el almacenamiento (cambios químicos, respiración y calentamiento, desarrollo de microorganismos e insectos) pueden eliminarse casi por completo a causa del secado y la aireación, ya que están relacionadas con la humedad y temperatura del grano almacenado (González, 1995).

El objetivo de la aireación es disminuir y uniformar la temperatura, propiciando condiciones favorables para la conservación de la calidad del producto durante un período de tiempo prolongado (Aireación de los granos).

Mientras que el objetivo del secado de grano es remover la mayor cantidad de agua posible para lograr un determinado grado comercial o permitir un almacenamiento adecuado del grano por un determinado tiempo, a una determinada temperatura, y al mismo tiempo causarle al grano el menor daño posible (Jugenheimer, 1981).

Esta información se resume en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Efecto del contenido de humedad del grano sobre la fisiología de la semilla y la presencia de factores bióticos de estrés

Contenido de humedad de la semilla (%)	Comportamiento de la semilla y ocurrencia de estrés
>45-60	La semilla germina
>18-20	Puede ocurrir calentamiento
>14-20	Los mohos crecen sobre y dentro la semilla
<9-8	Escasa o ninguna actividad de insectos
<8-4	Almacenamiento hermético es mas seguro

Los granos con menos de 10% de humedad no proporcionan un ambiente favorable para la reproducción y el desarrollo de los insectos de los granos almacenados. Es importante señalar que la semilla y el grano de maíz deben ser llevados a un nivel de contenido de humedad que garantice un almacenamiento seguro (Granados, 2001).

1.9.1 SISTEMAS DE SECADO

Si la semilla de maíz contiene más de 12 a 13% de humedad, deberán tomarse algunas medidas para eliminar el exceso de agua. Un contenido elevado de humedad

ocasionará el calentamiento, el crecimiento excesivo de hongos, y puede reducir drásticamente y rápidamente la germinación (Jugenheimer, 1981).

Los cereales se secan en secadoras con forma de silo o columna, que operan a bajas o altas temperaturas, como se explica a continuación (González, 1995).

A temperaturas bajas

Esto implica secar el grano por medio del aire natural a temperatura ambiente, y en algunos casos aumentar la temperatura del aire entre 2.7 y 11.1 °C. Este tipo de secado produce un grano de alta calidad (González, 1995).

El tiempo máximo para el secado según González (1995) depende del tipo de grano, de la condición física del grano, del contenido de humedad y de la temperatura del aire. La profundidad máxima, desde un punto de vista económico, es de 1.8 m para granos pequeños y de 2.4 m para el maíz. Este secado se realiza de la siguiente manera:

- Secado en capas delgadas
- Secado en capas gruesas
- Secado en silo lleno

A temperaturas altas

El uso de temperaturas altas permite un secado más rápido que si se secará con aire a temperatura ambiente. La cantidad de calor y la velocidad de calor y la velocidad de secado están limitadas por los daños físicos y por calor que sufra el grano, daño que se manifiesta en un incremento de grano cristalizado y de fragilidad, decoloración, pérdida de germinación y cambios en la densidad (González, 1995).

Los métodos de secado con altas temperaturas se clasifican en tres grupos:

- secado por lotes
- secado de flujo continuo
- secado modificado

1.10 ALMACENAMIENTO

La conservación eficaz del maíz, al igual que la de otros cereales se basa esencialmente en las condiciones que prevalecen durante el almacenamiento, en las características físicas, químicas y biológicas del grano, en la duración del almacenamiento y por último, en el tipo y características funcionales del local de almacenamiento. Las características físicas y bioquímicas del grano influyen en los efectos de los factores bióticos (insectos y microorganismos) y no bióticos (humedad relativa, temperatura y tiempo transcurrido). La baja conductividad térmica del grano, su capacidad de absorción de agua, su estructura, su composición química, su ritmo de respiración y calentamiento, la textura y consistencia del pericarpio y el método y condiciones del secado influyen en los cambios que tienen lugar durante el almacenamiento (FAO,1993).

Por lo tanto, el producto debe ser almacenado bajo condiciones controladas que preserven la calidad del grano. Sin embargo el almacenamiento del grano no mejora su calidad, solamente retarda su deterioro (Granados, 2001).

1.11 DAÑOS CAUSADOS POR PLAGAS Y ENFERMEDADES

Las plagas y enfermedades en los cultivos siempre han afectado la producción y calidad de los granos y semillas, por lo que se han desarrollado técnicas y métodos para poder emplear los pesticidas lo más eficazmente posible (Moreno, 1976).

En México, el maíz, trigo, frijol, arroz, sorgo, etc. son atacados por una serie de plagas, desde que se recolectan hasta que se consumen. Las pérdidas son de un 20% aproximadamente según sea el clima del lugar. De hecho más de 31 especies de insectos atacan a los grupos almacenados pero solamente unas cuantas son plagas de importancia (González, 1995).

La importancia del control de plagas es obvia por los daños que causan a las plantas de maíz en las diferentes fases de su desarrollo. Prácticamente existe peligro de daños parciales o totales, en casos extremos, desde el momento en que la semilla es colocada en el suelo al sembrar, hasta la época de cosecha (Robles, 1983).

A nivel mundial, después de los insectos, los hongos son los principales causantes de la reducción de la calidad de los cereales almacenados. En países desarrollados, donde los insectos y roedores son controlados eficientemente los hongos causan la mayoría de las pérdidas durante el almacenamiento (González, 1995). Estos hongos pueden causar muchos tipos de deterioro o daño en el grano. Estos incluyen una disminución en la germinación, mohos visibles y decoloración, olores a humedad o descomposición y pérdida de materia seca, cambios químicos y nutritivos, calor, endurecimiento y contaminación por micotoxinas (Sauer,1992).

El clima húmedo y cálido bajo el que crece gran parte del maíz en los trópicos es sin duda favorable al crecimiento y a la difusión de los patógenos causantes de las enfermedades (Paliwal, 2001). Actualmente hay variedades de maíz que toleran o resisten los ataques de ciertos parásitos y enfermedades. Su utilización y adaptación a los lugares en que tales patógenos suponen un serio obstáculo para el cultivo económico del maíz, es del mayor interés presente y futuro (Company,1984).

1.12 TRATAMIENTO

Para prevenir el ataque por insectos y hongos de los granos almacenados, estos deben ser tratados con un insecticida o protector de los granos. Sin embargo solamente aquellos insecticidas que han sido específicamente aprobados como protectores de los granos pueden aplicarse con seguridad. Para que un insecticida sea considerado un protector de granos debe presentar varias características: ser efectivo contra una amplia variedad de plagas a dosis económicas; ser de uso seguro y no dejar residuos peligrosos; no ser tóxico al grano y a los consumidores del grano, sin afectar la calidad, el gusto o el olor del mismo, ser aceptable en el comercio internacional, o sea no ser explosivo ni corrosivo (Granados, 2001). La dosis de estos protectores para ser usados en los granos de maíz dependerá si el maíz es destinado a ser utilizado como alimento o para semilla (Lindblad y Druben, 1980).

Alrededor de un 80% de las enfermedades de las plantas están causadas por hongos, y a pesar del extenso uso de fungicidas y otros métodos de control, la pérdida económica debida a la actividad de los hongos sigue siendo enorme. Se está produciendo un interés cada vez mayor en métodos no químicos para llevar a cabo el control de los patógenos de plantas como una alternativa al uso de fungicidas químicos (Wainwright, 1995). El control de una enfermedad se puede lograr mediante un solo procedimiento, pero en la mayoría de los casos exige la utilización de medidas múltiples e implica un programa integrado de manipulación del medio ambiente y de los factores biológicos y químicos (Desarrollo y control de enfermedades, 1980).

Un programa de control bien conocido se basa en el conocimiento de las características del patógeno y el hospedero, de las condiciones de cultivo y clima en las cuales crece la planta, y los procedimientos existentes para el control del mal, incluyendo métodos de cultivos, genéticos o químicos (Desarrollo y control de enfermedades, 1980).

1.13 GORGOJO DEL MAÍZ (*Sitophilus zeamais*)

Una de las amenazas más importantes para mantener la calidad del grano y sus productos, es la multitud de los insectos que se han adaptado para desarrollarse (Sauer y cols., 1992). Tienen preferencia por los climas templados y es aquí donde ejercen su mayor daño. En todo el globo terrestre se le encuentra en las zonas productoras y donde se almacena maíz (Pedroza, 1991).

El gorgojo del maíz es una de las principales plagas de almacenamiento; es un infestador interno cuyos adultos atacan toda la semilla y las larvas se alimentan y desarrollan por completo dentro de la semilla (Ileleji y cols., 2004). En áreas cálidas, los gorgojos del maíz generalmente vuelan a los campos e infestan el maíz antes de que este sea cosechado y, además, puede moverse de un lote de grano almacenado a otro (Sauer y cols., 1992).

Los insectos no sólo consumen grandes cantidades del grano sino que también dañan sólo a ciertos granos, de forma selectiva, destinados a la alimentación; asimismo, afectan el valor monetario de los granos al alterar la percepción de su calidad (semillas dañadas); también alteran el medio ambiente en el que se desarrollan para dar lugar a otros factores de deterioro (mohos) que contaminan los granos (Sauer y cols., 1992).

En nuestro país los estados donde más problemas por daño e incidencia de insectos se presentan son: Colima, Chiapas, Oaxaca, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas y Veracruz (Pedroza, 1991).

1.13.1 IDENTIFICACIÓN

Los insectos comprenden aproximadamente el 70% de las especies animales conocidas. Se han descrito más de 800 000 especies de insectos. Los Coleópteros, con más de 330 000 especies, constituyen el orden más extenso y entre ellos, por lo menos 600 000 especies se incluyen en la familia Curculioninae (Coronado y Márquez, 1999).

Los insectos se caracterizan por tener el cuerpo dividido en tres regiones: cabeza, tórax y abdomen; en la cabeza se inserta un par de antenas, y en el tórax, tres pares de patas y dos pares de alas (Domínguez, 1995).

1.13.2 CLASIFICACIÓN

Los insectos que atacan al grano almacenado se agrupan en dos clases: primarios o infestadores internos y secundarios o infestadores externos.

Los insectos primarios son los que tienen aparato bucal masticador capaces de romper el pericarpio para introducirse y completar su metamorfosis en el interior del grano o para llevar a cabo la oviposición (Ramayo, 1993). El gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*) corresponde a este grupo (Alquinzones, 1995).

Los insectos secundarios se alimentan principalmente del grano dañado, se desarrollan en el almacén después de que los primarios han deteriorado el grano (Ramayo, 1993). Causan ligero daño al endospermo y pueden ocasionar grandes pérdidas en los granos cuando sus infestaciones producen puntos calientes y desarrollo de hongos (González, 1995).

Los insectos que infestan el grano internamente son considerados los más dañinos. En parte, esto se debe a la cantidad del grano que es consumido en su proceso de desarrollo. Aunque el endospermo es consumido principalmente, parte del embrión

también lo es. La infestación oculta no es fácil de detectar ni fácil de quitar una vez iniciado su procesamiento. Aunque el calentamiento en las grandes cantidades de grano puede ser propiciada por la existencia de un gran número de infestadores externos, es más probable que este calentamiento ocurra como resultado del daño causado por las especies de infestadores internos (Sauer,1992).

1.13.3 TAXONOMÍA según Pedroza, 1991.

Taxonómicamente se ubica de la siguiente manera:

Reino: Animal

Subreino: Metazoa

Phylum: Artropoda

Subphylum: Mandibulata

Clase: Insecto

Subclase: Pterigota

Orden: Coleóptera

Familia: Curculioninae

Género: *Sitophilus*

Especie: *Zeamais*

1.13.4 DESCRIPCIÓN

El insecto conocido vulgarmente en estado adulto como gorgojo del maíz, es de color café oscuro a negro brillante, su longitud varia de 3 a 4 mm (Figura 4). Estos gorgojos nunca se han encontrado reproduciéndose en el campo; lo hacen solamente en lugares donde hay granos almacenados y permanecen dentro del grano por algún tiempo, hasta que su cuerpo se endurece y han alcanzado el color café oscuro característico (Ramírez, 1996).



Figura. 3 Infestación del grano por *Sitophilus zeamais*



Figura 4. Morfología de *Sitophilus zeamais*

1.13.5 CARACTERÍSTICAS

Las características de los insectos de los granos almacenados son:

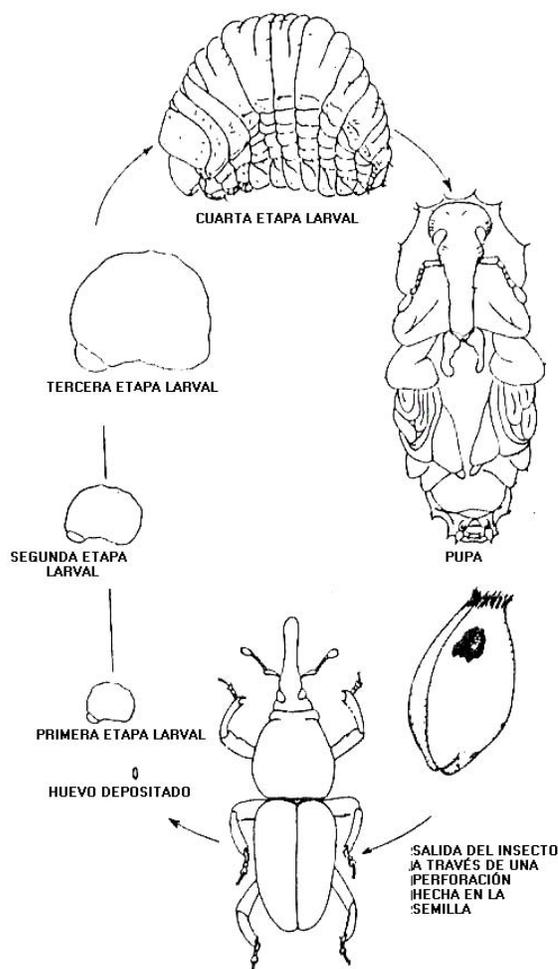
- a) Período corto de desarrollo.
- b) Altas tasas de reproducción
- c) Periodo de vida largo.
- d) Tamaño pequeño, lo que les facilita moverse rápidamente en el grano almacenado.
- e) Eficiencia en la conservación de energía, de los nutrientes y del agua.
- f) El estado que produce el daño es la larva, aunque hay algunos adultos que se alimentan del grano (González, 1995).

1.13.6 DESARROLLO

En condiciones favorables pueden emerger en unos pocos días. Al alimentarse del endosperma, las larvas se desarrollan pasando por los cuatro estadios larvales. Cuando su crecimiento se ha completado se transforman en pupas y dentro de unos pocos días, en adultos preemergentes (adultos que aún están en la semilla) En cuestión de unos cuantos días los adultos se alimentan de las semillas y emergen de ellas dejando las semillas dañadas (Figura 5). Inmediatamente

después de emerger como adultos, los gorgojos adultos viven por un período de ocho meses. Para que el desarrollo de la mayoría de los insectos se complete toma un tiempo que va desde unas semanas hasta varios meses, de nuevo, según el tipo de especie y condiciones ambientales determinadas. Una vez que el insecto sufre una transformación de pupa a adulto ya posee la capacidad de reproducirse en unos cuantos días, y así comienza de nuevo el ciclo de desarrollo que da lugar a una nueva generación (Sauer y cols., 1992) (Figura 5).

Los insectos adultos son resistentes a temperaturas bajas y pueden sobrevivir a inviernos muy fríos. Empiezan sus actividades de oviposición tan pronto como se eleva la temperatura; son capaces de vivir sin alimento por relativamente largos periodos. En lugares cálidos se reproducen continuamente y en sitios fríos o durante el invierno, invernán como adultos o larvas (Coronado, 1990).

Figura 5. Ciclo de vida del desarrollo de *Sitophilus zeamais*.

Fuente: Pedersen, 1992.

1.13.7 DAÑOS

El picudo o gorgoho del maíz es uno de los insectos destructivos, para los granos almacenados en todo el mundo (Pedroza, 1991). Uno de los aspectos más importantes para reducir las pérdidas- prevenir el deterioro y evitar la contaminación de los granos y sus productos- es conocer al enemigo y sus capacidades. Esto permitirá la aplicación de medidas para prevenir las infestaciones siempre que sea posible (Sauer y cols., 1992).

Estos insectos causan destrucción completa de granos y sus productos; tanto las larvas como los adultos, pueden también alimentarse de las harinas o de los granos molidos y en general, de los productos de cereales. Los adultos raramente destruyen mediante la perforación del envase que contiene a los granos o a los cereales (Ramírez, 1996).

Los daños se pueden presentar de forma directa o indirecta. Como se menciona a continuación (González, 1995).

1.13.7.1 DAÑO DIRECTO

Este daño se presenta de la siguiente manera:

Pérdida de peso:

Es el resultado de que los insectos consuman el grano, los picudos (*Sitophilus oryza*, *S. zeamais* y *S. granarius*) consumen el endospermo del grano (González, 1995)

Pérdida de valor alimenticio:

En el grano atacado por los insectos se da oxidación de carotenos, pérdida de hidratos de carbono y del germen (González, 1995).

Contaminación con olor:

Algunos insectos y ácaros producen sustancias químicas que dejan un olor desagradable en el grano y sus productos. Los coleópteros de las harinas producen quinonas que las colorean (González, 1995).

Reducción de su valor y rechazo en el mercado:

El precio del grano se reduce si el porcentaje del grano dañado por insectos es alto, o si el número de insectos en el grano causa que este se clasifique como grano engorgojado (plagado con gorgojos) (González, 1995).

1.13.7.2 DAÑO INDIRECTO

Los insectos dañan indirectamente al grano mediante el incremento de impurezas en el grano almacenado, distribución de esporas de hongos de almacenamiento, transmisión de enfermedades a humanos y pérdida de germinación. Al ser dañado o consumido el germen por los insectos (González, 1995).

1.13.7.3 FACTORES QUE INFLUYEN EN EL INCREMENTO DE POBLACIONES DE INSECTOS

Los factores físicos más favorables para el desarrollo rápido de los insectos son una de las principales causas del deterioro y pérdida de granos y semillas en el almacenamiento, son la humedad y temperatura (Genel, 1986).

Humedad. Los productos alimenticios contienen humedad, que existe en los granos y semillas en dos formas principales: agua de composición y agua absorbida (Hall, 1981). Es un factor importante en la vida de los insectos de los granos almacenados, ya que ellos dependen del suministro de humedad del alimento para cubrir los requerimientos de agua de sus procesos metabólicos (González, 1995). Este factor constituye uno de los de mayor influencia en la conservación de los granos durante el almacenamiento (Genel, 1986).

Sitophilus granarius y *Sitophilus zeamais* no se desarrollan en un grano con un contenido de humedad inferior a 9%. La mayoría de los insectos son capaces de desarrollarse dentro de un amplio rango de humedad relativa (de 40 a 85%), por lo que no se pueden eliminar fácilmente, al regular el contenido de humedad del producto terminado (González, 1995).

Temperatura. Es el factor clave para el desarrollo y la reproducción de los insectos. Hay dos temperaturas que son importantes, una es la temperatura

del aire y otra es la temperatura del grano en el lugar de almacenamiento (Lindland, 1976). La temperatura para su crecimiento fluctúa entre 15 y 35 °C, siendo la óptima de 28 °C. Fuera de estos límites no hay aumento en la población (González,1995).

1.14 Control

Sitophilus zeamais es la principal plaga de insectos del maíz almacenado. El alto costo de los pesticidas y el riesgo de los usuarios a los contaminantes, junto con problemas de abastecimiento de formulaciones recomendadas en países en desarrollo, y el acontecimiento en aumento de la oposición de insecticidas, significa que se requieren métodos de control alternativos (Gudrups y cols., 2000).

La sanidad es una práctica que involucra las condiciones higiénicas del almacenaje y debe ser el objetivo principal en cualquier proceso de almacenamiento de granos debido a que es la forma más sensible de prevenir las infestaciones de plagas. Incluye medidas físicas, químicas, biológicas o una combinación de técnicas (González,1995).

1.14.1 CONTROL FÍSICO

Secado del grano. El secado del grano es una práctica eficiente para minimizar la actividad de insectos y hongos. El incremento de la humedad entre 13 y 18% favorece las infestaciones de insectos (González, 1995).

Temperatura. La temperatura es el factor de mayor importancia para el desarrollo y reproducción de hongos e insectos (su temperatura óptima es de 36 y 28 °C, respectivamente), por lo que usar temperaturas extremas para modificar el medio, puede ser adecuado para combatir plagas (González, 1995).

Bajas temperaturas. Al mantener el grano a baja temperatura, se incrementa su vida, ya que se reducen las actividades respiratoria, microbiana e insectil (González, 1995). De manera que se puede afirmar que la actividad de los insectos es directamente proporcional a la temperatura existente en el medio. A *Sitophilus zeamais* se le puede combatir haciendo descender la temperatura de los graneros a 10-0°C (Pedroza, 1991).

Las bajas temperaturas se pueden lograr de dos maneras: por refrigeración y por aireación (González, 1995).

Altas Temperaturas. Temperaturas arriba de 38 °C, son desfavorables para muchos insectos en los granos almacenados, ya que su oviposición cesa y se reduce el tiempo de vida de los adultos (González, 1995).

Almacenamiento hermético. En un recipiente completamente hermético, los insectos que pudieran encontrarse en el grano seco, mueren por falta de O₂ y desprendimiento de gas carbónico (Pedroza, 1991).

Irradiación. La desinfectación de granos por medio de radiaciones ionizantes para inhibir la reproducción de los insectos o matarlos, es una técnica de desarrollo. Los coleópteros son sensibles a la radiación de 25000 rads que exterminan todas las fases del insecto (Pedroza, 1991).

1.14.2 CONTROL BIOLÓGICO

El control biológico es "la reducción de poblaciones de plagas por medio de organismos vivos estimulados por el hombre". La acción del hombre diferencia este método de control biológico natural. En ambos casos, se refiere a los enemigos naturales de plagas, incluyendo depredadores, parásitos y patógenos (Davidson, 1992)

Más de 400 especies de hongos atacan insectos y ácaros, de forma que existe un gran potencial para el uso de estos organismos como insecticidas biológicos. Como agentes de biocontrol de insectos los hongos son marcadamente superiores a otros microorganismos puesto que no son generalmente específicos en su acción y son por lo tanto útiles frente a un amplio rango de plagas de insectos (Wainwright,1995).

Este tipo de combate emplea una diversidad de entes biológicos (González, 1995). Algunos hongos que atacan a coleópteros son *Beauveria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Cordyceps*, *Entomophthora*, *Isaria*, *Metarrhizium*, *Penicillium*, *Sorostrichum*, *Tarichium*. Sin embargo se tiene un parásito cosmopolita de *S. zeamais* que es *Aplastomapha vandinei* (Debach, 1990)

El micoinsecticida ideal debería penetrar fácilmente en la cutícula del insecto, producir toxinas que ocasionen una rápida muerte al insecto, colonizar de inmediato el cuerpo del insecto y luego esporular bajo la mayor parte de las condiciones ambientales (Wainwright, 1995).

1.14.3 CONTROL QUÍMICO

Los insecticidas son generalmente muy efectivos para el control de insectos, y en algunos casos constituyen el único medio de reducir las poblaciones de insectos o mantenerlas en un nivel aceptable (González,1995).

El uso de compuestos químicos para controlar las plagas, son de rápida acción curativa, versátiles y de bajo costo; sin embargo causan resistencia de plagas a pesticidas, incrementan las plagas secundarias y resurgen poblaciones tratadas, tienen efectos nocivos sobre otros animales y plantas, causan riesgos directos y resistencia de plagas a pesticidas (Pedroza, 1991)

En México, 67.7 por ciento de los ejidos emplean como tecnología principal los plaguicidas, mientras que en Jalisco 94 por ciento de ellos los utilizan. De esta manera se emplean anualmente en México un promedio de 60,000 toneladas de plaguicidas, para producir el alimento que se consume.

Se calcula que alrededor de 65 por ciento del consumo nacional de plaguicidas se aplica en los cultivos de maíz, sorgo, soya, caña de azúcar, arroz, hortalizas y pastos.

La lista de plaguicidas autorizados en México, publicada en el Catálogo oficial de plaguicidas, de la Comisión intersecretarial para el control del proceso y uso de plaguicidas, fertilizantes y sustancias tóxicas suman 329 sustancias, clasificadas en insecticidas y acaricidas (122), herbicidas (82), fungicidas (94), fumigantes (8), rodenticidas (12), atrayentes y feromonas (*sic*) (6), molusquicidas (1), nematocidas (3), protectores de semillas (1), incluye 38 coadyuvantes (Real, 2001).

Los insecticidas que se emplean son pirenona en espolvoreo (0.08% pirectinas y 0.4% de butóscido de piperonila) a una dosis de 1.200 g/m³, los gorgojos mueren totalmente en una semana. Los siguientes productos han producido una mortalidad del 100% en menos de 14 días en adultos de *S. zeamais*. Paration metílico o etílico, phorate, dieldrin a 1.25 ppm, gusatión 1.25-5 ppm clorotión 1.25-5 ppm, dibromo 2-2-clidoroetil-dimetil fosfato a 5 ppm endrin a 1.25-5 ppm, fosdrín a 1.25-5 ppm, diazinón 2.5-10 ppm, dimeotato a 5-10 ppm, lindano a 1.25 ppm, malation 10 ppm (Pedroza, 1991).

1.15 HONGOS

1.15.1 MORFOLOGÍA

La mayoría de los hongos tiene una fase vegetativa constituida por filamentos microscópicos continuos alargados y ramificados que tienen paredes celulares definidas denominadas hifas y el conjunto constituye, el talo del hongo denominado micelio. Las hifas de algunos hongos tiene un diámetro de tan sólo 0.5 μm , mientras que otras tienen un espesor de más de 100 μm . En algunos hongos, el micelio tiene una longitud de tan sólo unos cuantos micrómetros, pero en otros produce filamentos miceliales de varios metros de longitud e incluso kilómetros.

El micelio puede ser cenocítico, es decir, contiene muchos núcleos y está integrado por una célula multinucleada continua y tubular que puede o no ramificarse, o bien puede estar dividido por varias paredes transversales denominado micelio septado, de ahí que cada segmento represente una célula uninucleada, binucleada y en algunos casos multinucleadas. El crecimiento del micelio se produce en la zona apical de las hifas (Agrios, 1995).

1.15.2 REPRODUCCIÓN

La reproducción es la formación de nuevos individuos que tienen todas las características típicas de la especie. Hay dos fases de reproducción: la asexual y la sexual (Jauch, 1985). Los hongos se reproducen principalmente mediante esporas. Las esporas son estructuras reproductoras especializadas para la propagación del hongo, que constan de una o varias células. Estas estructuras pueden formarse asexualmente o ser el resultado de un proceso sexual (Agrios, 1995).

Las etapas sexuales de los hongos, particularmente en formas heterotálicas, dan como resultado la segregación y recombinación de factores genéticos, ampliando

así los límites de los genotipos e incrementan la variabilidad y capacidad de un hongo para sobrevivir y actuar como patógeno. La sexualidad y las mutaciones aseguran la formación de nuevos genotipos, los cuales incrementan la probabilidad de que aparezcan nuevas razas y nuevos grados de virulencia. Las esporas asexuales, como las esporangiosporas y conidios de la mayoría de los hongos, tienen vida corta y sirven principalmente para perpetuar los hongos cuando las condiciones son favorables para el desarrollo somático y la actividad patogénica (Desarrollo y control de enfermedades, 1980).

1.15.3 IDENTIFICACIÓN

Las características más importantes de los hongos que se utilizan para su identificación a nivel morfológico son sus esporas y cuerpos fructíferos y, hasta cierto grado, las características de su soma. Estos órganos se examinan directamente en el microscopio compuesto después de haber sido aislados de la planta a la que han infectado. Con frecuencia, el hospedante infectado debe mantenerse húmedo durante algunos días para permitir el desarrollo de los cuerpos fructíferos del hongo o, en todo caso, este último debe aislarse y cultivarse en medios nutritivos especiales que permitan cultivar selectivamente sólo a una determinada especie de hongo, para su posterior identificación con calves especializadas (Agrios,1995).

1.15.4 CICLO DE VIDA

La mayoría de los hongos tienen una etapa de esporas que contienen un núcleo haploide (que posee una serie de cromosomas n). La espora, al germinar, produce una hifa que contiene también núcleos haploides. La hifa produce de nuevo esporas haploides o puede fusionarse con otra hifa para producir una hifa fecunda en la que los núcleos se fusionan para formar un núcleo diploide, denominado cigoto, el cual contiene ahora dos series de cromosomas, $2n$ posteriormente sufre meiosis dando como resultado una espora de origen sexual haploide (Agrios,1995).

1.15.5 CLASIFICACIÓN DE LOS HONGOS UTILIZADOS EN ESTE ESTUDIO

Los hongos que producen enfermedades en las plantas constituyen un grupo diverso. A continuación se presentan los géneros fitopatógenos más importantes que afectan a los granos de maíz de campo y almacén. Estos hongos según Agrios (1995) pertenecen al reino Mycetozoa (Fungi) (Cuadro 7).

Cuadro 7. Clasificación de los hongos patógenos

GÉNERO	DIVISIÓN	CLASE	ORDEN	FAMILIA
Aspergillus				Moniliaceae
Fusarium	Eumycota	Deuteromycetes	Moniliales	Tuberculariaceae
Helminthosporium				Dematiaceae

Fuente: Agrios,1995

1.15.6 CLASIFICACIÓN DE LOS HONGOS QUE ATACAN AL GRANO DE MAÍZ

Los hongos comunes en los granos se dividen en dos grupos; estos grupos dependen de factores climáticos y sus constituyentes cambian en diferentes climas. El primer grupo, llamado hongos de campo invaden las semillas antes de la cosecha o durante la misma (Wilson y Abramson, 1992) estos hongos requieren humedades relativas de 90 a 100%, en cambio los de almacén pueden crecer en humedades relativas de 65 a 90%, condiciones de humedad muy frecuentes en el almacenamiento de granos (Moreno,1988).

1.15.6.1 HONGOS DE CAMPO

Los géneros que conforman a este grupo son los siguientes: (Alquinzones, 1995).

a) *Alternaria sp* común en los cereales.

b) *Cladosporium sp* Usual en cereales que han sido expuestos a condiciones ambientales húmedas antes de la cosecha, en especial cuando el grano se cosecha con cascarilla, por ejemplo arroz, avena y cebada.

c) *Helminthosporium sp* común en los cereales que se han humedecido antes de la cosecha.

d) *Fusarium sp* usual en los granos recién cosechados (figuras 6 y 7).

Las esporas son transportadas por el aire o través del suelo. Su existencia varía de acuerdo al cultivo, localidad, sistema de cosecha, y condiciones ambientales (Programa postcosecha).



Figura 6. Mazorca infestada con *Fusarium graminearium*.

Fuente: (Llanos)



Figura 7. Grano de Maíz infestado de *Fusarium Moniliforme*.

Fuente: Koenning y Payne, 1999

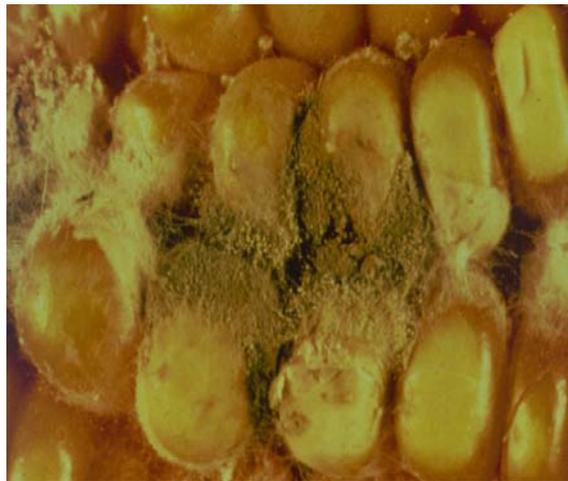


Figura 8. Esporulaci3n del hongo *Aspergillus flavus* en ma3z.

Fuente: Koenning y Payne, 1999.

1.15.16.2 HONGOS DE ALMACÉN

Los microorganismos (mohos u hongos, levaduras y bacterias) causan considerables efectos nocivos a los alimentos en almacenamiento. La presencia de microorganismos en los alimentos da por resultado cambios que llevan a reducirlos y descomponerlos, alterando las cualidades nutricionales (Programa poscosecha).

Invaden los granos y semillas después de la cosecha. Comprenden cerca de una docena de especies de *Aspergillus* (fig. 8), algunas especies de *Penicillium*, una sola especie de *Sporendonema* y posiblemente algunas especies de levaduras (Sauer y cols., 1992).

Entre los grupos de *Aspergillus* que invaden granos almacenados se encuentran: *Aspergillus restrictus*, *A. glaucus*, *A. candidus*, *A. versicolor* y *A. ochraceus*. Cada uno de estos grupos, a excepción de *A. candidus* que sólo presenta una especie, están integrados por especies con características morfológicas generales muy similares entre las especies del grupo y su clasificación en especies individuales se basa principalmente en características morfológicas específicas y fisiológicas (Moreno,1988).

1.15.7 CONDICIONES QUE FAVORECEN EL DESARROLLO DE HONGOS DE ALMACÉN

Las principales condiciones que influyen en el desarrollo de los hongos de almacén en los granos almacenados son las siguientes: el contenido de agua del producto almacenado (Carrillo, 2003), la temperatura, el periodo de tiempo que el grano es almacenado, daño físico al grano, la cantidad de material extraño presente en el grano, y las actividades de insectos y ácaros (González,1995).

Contenido de Agua (AW). Existe un mínimo contenido de humedad en los granos para el desarrollo de cada una de las especies comunes de hongos del almacén abajo del cual ellos no pueden crecer (Moreno, 1976). Se ha encontrado que no hay desarrollo de hongos a un contenido de humedad en equilibrio con una humedad relativa menor a 65% (González, 1995).

El grano puede ganar humedad (absorción) o perder humedad (desorción). Para cada combinación de temperatura y humedad relativa del aire, existe un contenido de humedad del grano que se mantiene en equilibrio con esa temperatura y humedad relativa; ese contenido de humedad es denominado "humedad de equilibrio del grano (Aireación de los granos).

El contenido de agua del maíz almacenado aumenta bastante por la actividad de los insectos, que a su vez provocan deterioro y dispersión de los hongos. Los hongos de almacén también incrementan el contenido de humedad de tal manera que otros hongos con altos requerimientos de humedad pueden invadir el almacén posteriormente (González, 1995).

Temperatura. La temperatura es también un factor que influye en el desarrollo de hongos (Secado de granos). Todas las etapas del ciclo vital de un patógeno se desarrollan dentro de ciertos límites fijos de temperaturas. Por arriba o por debajo de este límite, el patógeno lleva una vida latente o muere (Desarrollo y control de las enfermedades, 1980). El desarrollo rápido de los hongos de almacén se da en un intervalo de temperatura que va de 30 a 32 °C (González, 1995).

Periodo de tiempo de almacenamiento. El grano almacenado pocas semanas a cualquier combinación de temperaturas y humedad que permite una invasión moderada de hongos de almacén, puede representar un riesgo para un almacenamiento continuo (González, 1995).

Contenido de impurezas. Por una parte las impurezas (como partículas más finas que las semillas, tales como semillas quebradas, semillas de hierbas, fragmentos de planta, partes de insectos del campo, así como partículas de suelo) son más susceptibles que el grano entero al ataque de los hongos de almacén, y por otra parte, en ellas se desarrollan los insectos y ácaros que coadyuvan al incremento de los hongos (Moreno, 1976).

Actividades de insectos y ácaros. La actividad de los mismos puede subir rápidamente el contenido de humedad del grano, en algunos casos hasta 2 % al mes (González, 1995).

1.15.8 CARACTERÍSTICAS DE LOS HONGOS DE CAMPO Y ALMACÉN EN MAÍZ

HONGOS DE CAMPO

Estos hongos invaden los granos y semillas de maíz como ya se mencionó y requieren altos contenidos de humedad para desarrollarse. El micelio puede permanecer en dormancia por mucho tiempo en el grano seco, pero muchos hongos de campo mueren rápidamente en el maíz que tiene un contenido de humedad en equilibrio con una humedad relativa de 75 a 95%, que corresponde a un contenido de humedad de 15 a 19% (González, 1995). Sin embargo, después de la cosecha, ya el daño ha sido hecho (Programa postcosecha).

Helminthosporium, es común en semillas de maíz, especialmente si el clima ha estado húmedo antes de la cosecha. Este puede causar ennegrecimiento de la semilla, la muerte de ésta al germinar o bien de la plántula, o pudrición de la raíz y tizones de la planta madura, pero no causa pérdidas en el almacén (Sauer y cols., 1992).

La clasificación de este género ha cambiado por lo que también se le conoce como *Bipolaris*, *Drechslera* y *Exserohilum* (Moreno, 1988).

Algunas especies importantes son: *Helminthosporium maydis* [*Bipolaris maydis*] causante del tizón foliar meridional de maíz, de distribución mundial, pero predominante en zonas tropicales y subtropicales. *Helminthosporium sativum* (figura 11) Pammel, King y Bakke [*Bipolaris sorokiniana*] también es otra especie que causa la pudrición de raíz en el maíz (CIMMYT).

Otra especie es *Helminthosporium rostratum* que produce la pudrición del tallo y mazorca en el maíz, distribuido principalmente en África, América Central y del Norte, Asia y Europa. Es una enfermedad secundaria de poca trascendencia. Otra enfermedad común es el tizón foliar septentrional del maíz pero generalmente causa pérdidas menores, *Helminthosporium turcicum* Pass. [*Exserohilum turcicum*] es el agente causal de esta enfermedad (CIMMYT).

Otro género también común en semillas de maíz recién cosechadas es *Fusarium*. Algunas especies de este hongo causan la roña en cebada, trigo y maíz. Estos granos invadidos pueden ser tóxicos para el hombre, de tal manera que son indeseables como alimento. Las infecciones leves de *Fusarium* no pueden detectarse a simple vista pero pueden causar la muerte y ennegrecimiento de los embriones de los granos almacenado (Sauer y cols., 1992).

Esta especie causa enfermedades como pudrición de la raíz, pudrición de la corona y roña (Zillinsky, CIMMYT). Las especies de *Fusarium* presentes en el maíz a través de infecciones que ocurren en el campo antes de la cosecha pueden continuar su crecimiento en las semillas almacenadas que contengan una alto contenido de humedad en los graneros y producir toxinas (Sauer y cols., 1992).

Las especies de *Fusarium* toxigénicos se encuentran generalmente como contaminantes de alimentos derivados de las plantas, especialmente de granos de cereales (Bullerman, 2001). Dentro de las especies de *Fusarium* especialmente importante en las regiones húmedas y más destructivas de las pudriciones de tallo y de la mazorca de maíz es *Fusarium graminearum* Schwabe (Teleomorfo *Gibberella zeae*) (Figura 9), es productora de micotoxinas, causa pérdidas económicas y reduce la germinación en el maíz. *Fusarium culmorum*. También es una especie que produce pudrición de la mazorca y del tallo, causa pérdidas considerables de rendimiento en las zonas húmedas donde se cultiva el maíz. Sin embargo, sobrevive más que *F. graminearum* a sequía extrema y temperaturas congelantes. Es productor de micotoxinas. Otra especie muy difundida en zonas templadas húmedas y subhúmedas, y en zonas subtropicales y tropicales es *Fusarium moniliforme* [Teleomorfo *Gibberella verticillioides*] esta especie causa marchitamiento en plántulas y pudriciones de tallos y mazorca (Mendoza,1993) produce tizón en las plántulas, pudrición de mazorca y de tallo en el maíz. Es productor de micotoxinas (CIMMYT).

El hongo *Fusarium moniliforme* (figura 10), es un patógeno común del maíz, que puede encontrarse en cualquier lugar en el que crezca el maíz. Este hongo tiene una coloración que va desde el color blanco al color salmón. Este hongo provoca un síntoma en la semilla conocido como "starburst". La ausencia visible del moho sin embargo no significa que la semilla no contenga la toxina. Las semillas de maíz intactas pueden tener el hongo y la toxina sin mostrar un signo de contaminación fúngico (Koenning y Payne, 1999).

Los hongos de campo presentes en las semillas al momento de la cosecha, lentamente mueren. El período de su supervivencia depende principalmente del contenido de humedad y temperatura de las semillas almacenadas (Sauer y cols.,1992).

HONGOS DE ALMACÉN

Los hongos de almacén, causan diversos daños a los granos y semillas almacenadas, siendo los más sobresalientes la reducción del poder germinativo de las semillas, el ennegrecimiento de los granos y la producción de micotoxinas (Moreno, 1988). La mayoría de las micotoxinas son producidas por especies de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* (Abarca y cols., 2000)

El combate de estos hongos es principalmente un control del medio del almacenamiento; si el contenido de humedad se mantiene bajo no hay desarrollo de hongos (González, 1995).

Aspergillus es el nombre genérico para designar a un grupo de hongos, este grupo de hongos se encuentra entre los seres vivos más abundantes en la naturaleza. Las condiciones que favorecen el crecimiento de *Aspergillus* son altas temperaturas en áreas tropicales y subtropicales particularmente, estas condiciones también favorecen la producción de aflatoxinas a partir de estos hongos (Deepak y Santos, 2001). Los mohos de este género *Aspergillus* causan el deterioro de muchos productos alimenticios. También producen la inhibición de la germinación junto con cambios de color, calentamiento, amohosado, apelmazado y finalmente podredumbre de las semillas (Carrillo).

Aspergillus restrictus decolora y mata al germen, causa el ojo azul en el grano de maíz (Alquinzones, 1995). Los hongos de este grupo requieren de un contenido de humedad del 14 al 15 % y una humedad relativa de alrededor del 75%, su crecimiento es muy corto no son productores de toxinas (Moreno, 1988).

Otro grupo de hongos importantes es *Aspergillus glaucus* decolora y mata el germen, causa el ojo azul en maíz con un contenido de humedad entre 14.5 a

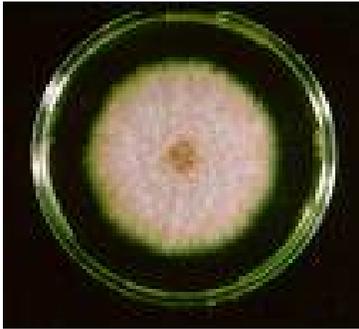
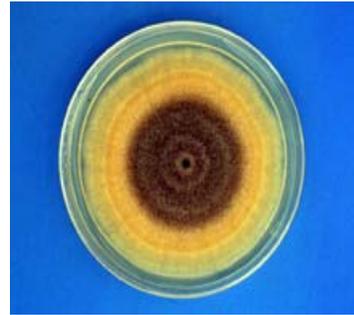
15.5% (Alquinzones, 1995). Los miembros de este grupo entre ellos *A. amstelodami* (figura 14), *A. chevalieri* y *A. ruber* requieren una humedad relativa de 75% (Moreno, 1988).

Aspergillus ochraceus decolora y mata al germen y causa un daño severo (González, 1995). Los miembros de este grupo requieren humedades en equilibrio con una humedad relativa de 80%; no son muy comunes en los granos, ya que no son buenos competidores contra especies de *A. glaucus*; sin embargo, se aíslan frecuentemente de granos de maíz. Crecen en cereales en contenidos de humedad de 14.5-16.0%, son productores de ocratoxina y ácido penicílico (Moreno, 1988).

Aspergillus flavus (figura 12), a los miembros de este grupo se les considera principalmente como hongos de almacén, decolora y mata al germen. Produce calentamiento rápido, eleva la temperatura hasta 55 °C (González, 1995). Las especies de este grupo requieren para crecer humedades relativas de 80-85%, en cereales con contenidos de humedad de 16.5-18.0%. Su desarrollo contribuye al calentamiento de los granos (Moreno, 1988).

El hongo *Aspergillus flavus* produce una micotóxina conocida como aflatoxina en diversas cosechas incluyendo al maíz, cacahuate y algodón. Generalmente el hongo tiene una apariencia de color verde- amarillo cuando está en la etapa de crecimiento en el maíz (Koenning y Payne, 1999).

Aspergillus candidus (figura 13) decolora y mata el germen y causa el ojo azul en maíz con un contenido de humedad entre 14.5% a 15.5%. Este hongo requiere humedades relativas alrededor de 80% y es uno de los hongos involucrados en el calentamiento de los granos, eleva la temperatura hasta 55 °C (González, 1995 y Moreno, 1988).

Fig. 9 *F. graminearium*Fig. 10 *F. moniliforme*Fig. 11 *Helminthosporium*Fig. 12 *A. flavus*Fig. 13 *A. candidus*Fig. 14 *A. amstelodami*

1.15.8 CONTROL DE ENFERMEDADES

La conservación y protección de los granos almacenados constituye una necesidad alimenticia, social y económica. Esta conservación se ve amenazada por los insectos que atacan los granos y sus productos durante el almacenamiento. Esto es importante en países en desarrollo, donde los productores a pequeña escala ven mermadas sus cosechas a causa de la destrucción de los granos almacenados por roedores, insectos, hongos y bacterias (Silva y cols., 2005).

El control del deterioro poscosecha de los granos, ocasionados por hongos, depende de ciertas precauciones y condiciones que deben satisfacerse antes y durante la cosecha y, posteriormente, durante el almacenamiento. Siempre que el

cultivo sea sano y de alta calidad cuando sea cosechado, su infección y deterioro posteriores durante su almacenamiento se podrá evitar (Agrios, 1995).

Alrededor de un 80% de las enfermedades de las plantas están causadas por hongos, y a pesar del extenso uso de fungicidas y otros métodos de control, la pérdida económica debida a la actividad de los hongos sigue siendo enorme (Wainwright, 1995).

La complejidad de la mayoría de las enfermedades fungosas de las plantas ha propiciado el desarrollo de un número amplio de medidas para su control. Las características particulares del ciclo de vida de cada hongo, su preferencia por ciertos habitats y su capacidad de respuesta ante ciertas condiciones del medio, son algunas de las características que deben tenerse en cuenta cuando se trate de controlar una enfermedad causada por hongos (Agrios,1995).

Los tratamientos con fungicidas cada vez se usan menos debido a los residuos tóxicos y el desarrollo de la resistencia en los patógenos por lo tanto ninguno de ellos ha sido recomendado en el tratamiento del grano destinado al consumo humano y animal (Bhaskara y cols, 1999).

1.15.9.1 CONTROL BIOLÓGICO

Los métodos de control biológico que se utilizan para proteger directamente a las plantas del ataque de los patógenos implican el control de la enfermedad por medio de microorganismos vivos, en circunstancias tanto naturales como artificiales (Agrios, 1995). Es un método en el cual se reduce la supervivencia o actividad del patógeno gracias a la acción de otros organismos vivos. El resultado es una reducción de la incidencia o gravedad de la enfermedad (Desarrollo y control de enfermedades, 1980).

El control biológico es un aspecto de control por métodos de cultivos que comprende principalmente prácticas que alteran la condición biótica-abiótica a partir de una condición que favorece a la enfermedad a otra que reduce la acumulación de propágulos y reduce la actividad nociva de los patógenos, ya sean hongos, bacterias, nematodos o virus. Estos medios de control por métodos de cultivo dependen del conocimiento del ciclo de vida del patógeno involucrado y de los factores que influyen en su existencia, supervivencia y proceder patogénico en una situación ecológica particular (Desarrollo y control de enfermedades, 1980).

1.15.9.2 CONTROL QUÍMICO

Uno de los medios más eficaces para controlar las enfermedades de las plantas es el uso de sustancias químicas, naturales o sintéticas. Con frecuencia, el control químico es el único medio posible para atacar el problema de las enfermedades en general es más económico y eficaz que otros medios (Desarrollo y control de enfermedades, 1980). Dichos químicos inhiben la germinación, el crecimiento o la reproducción del patógeno (Agrios, 1995). Las sustancias químicas actúan reduciendo, desplazando o eliminando el inóculo en su fuente; previniendo las enfermedades de las plantas; o curándolos. Para realizar esto, se pueden usar sustancias químicas para impedir el crecimiento o la esporulación de microorganismos, o para matar o inactivar el inóculo en su fuente, en tránsito o en el sitio de la infección (Desarrollo y control de enfermedades, 1980), de entre estos químicos el ácido propiónico ha sido el más efectivo (Moreno, 1998).

El ácido propiónico se aplica al grano en forma pura o en una mezcla con ácido acético, ácido isobutírico, formaldehído u otras sustancias. El ácido es típicamente aplicado al grano como aerosol y después es almacenamiento. Los índices del tratamiento varían según el contenido de humedad del grano y, hasta cierto grado, en tiempos de almacenamiento esperados (Sauer y cols., 1992).

El control del hongo en los productos almacenados se logra principalmente a través del control del medio ambiente en el almacenamiento. Si los contenidos de humedad se mantienen bajo los niveles requeridos para el crecimiento de los mohos, no habrá tal crecimiento. Sin embargo, una gran cantidad de grano, particularmente del maíz, se cosecha a altos contenidos de humedad y debe ser secado artificialmente para evitar que su descomposición. Como una alternativa para el secado, el grano puede ser protegido del ataque fúngico a través de un tratamiento utilizando ciertos químicos inhibidores de mohos (Sauer y cols., 1992).

En México se han probado con éxito fungicidas que protegen la viabilidad de las semillas agrícolas del ataque de los hongos de almacén, pero por su toxicidad no son tratamientos adecuados para los granos destinados a la alimentación (Moreno, 1988).

1.16 QUITINA Y QUITOSÁN

1.16.1 GENERALIDADES

La quitina, cuya etimología proviene de la palabra griega "envoltura", fue descubierta en 1811, por primera vez en los hongos (Rudrapatnam y cols, 2003). La quitina es el segundo biopolímero más abundante en el mundo y se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza (Sandford, 1989), puede ser considerada como un sustituto de la celulosa con un grupo N-acetil en lugar de un grupo hidroxil en C2 (Figura 11) (Takai y Shimizu, 1989). Se encuentra en los exoesqueletos de los crustáceos, en los hongos (ya que es el polímero fibroso más importante de la pared celular y como tal, es la responsable de la rigidez y forma de la pared) y en los insectos (Herrera, 1978).

Casi el 10% de la superficie global de productos acuáticos está formado por organismos ricos en quitina. Más de 80,000 toneladas métricas de quitina se obtienen cada año de los desechos marinos (Reetarani y cols., 2000). Por lo tanto la quitina es un recurso natural que se encuentra disponible en el planeta, sin embargo, como tal, es la biomasa menos explotada en la tierra (Rudrapatnam y cols, 2003).

La quitina, esta constituida de 2-acetamido- 2 deoxi- β -D- glucosa en un enlace $\beta(1-4)$. Poseen hidroxil reactivos y grupos amino (Figura 9). Es un componente con un alto grado de insolubilidad parecido a la celulosa por su solubilidad y baja reactividad química (Majeti y Kumar, 2000). En la naturaleza se encuentra en distintas configuraciones α , β , y quitina, siendo la más abundante la α - quitina (Becerra, 2001).

Figura 15. Estructura de la quitina

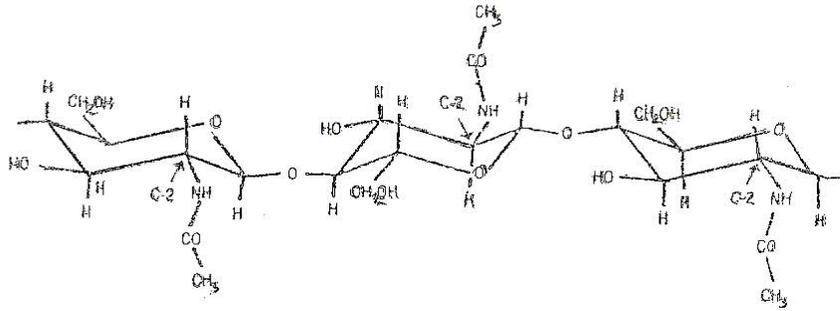


Figura 16. Estructura del quitosán

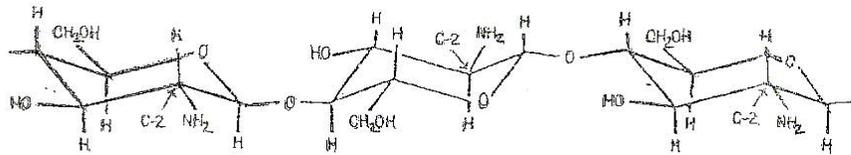
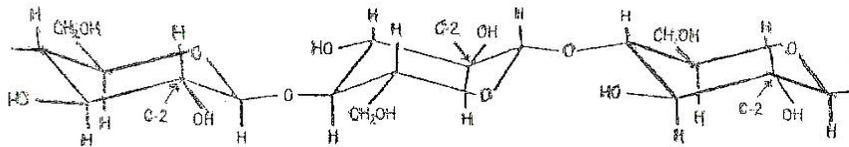


Figura 17. Estructura de la celulosa



Fuente: Sandford, 1989.

En este biopolímero los grupos aminos se encuentran acetilados, por lo que la quitina corresponde a una amida de ácido acético. Este aminopolisacárido es de tipo lineal, llegando a formar cadenas de miles de unidades de N-cetilglucosamina. Es considerada un nuevo tipo de material polimérico con grandes posibilidades de aplicación con respecto a la celulosa, ya que es un aminopolisacárido capaz de sufrir modificaciones químicas, obteniéndose un gran número de derivados que presentan diferentes propiedades físicas y químicas con diversas aplicaciones (Becerra, 2001).

El derivado de la quitina que mayor atención y usos ha recibido es el quitosán. Al igual que la quitina es uno de los polímeros más abundantes en la naturaleza, es polificación y tiene aplicaciones industriales extremadamente importantes (Becerra, 2001). El quitosán fue descubierto por Rouget en 1859, quien encontró que al tratar quitina con una solución caliente de hidróxido de potasio se obtiene un producto soluble en ácidos orgánicos, y la llamo quitina modificada. Mas tarde, en 1894, fue estudiada por Hoppe-Seyler quién la denominó "quitosano" (Muzarrelli, 1974).

El quitosán se encuentra en la naturaleza de forma natural como un componente presente en las paredes celulares de algunos hongos patógenos (Hadwiger y cols, 1989), se obtiene generalmente de la quitina natural después de una desacetilación N a través de un tratamiento alcalino (Rinaudo y Domard, 1989). Químicamente se describe como (1-4)-2-amino-2-deoxi- β -D-glucosa, siendo un polielectrolito hidrofílico (Becerra, 2001) (Figura 10).

El quitosán es en efecto un nombre colectivo que se utiliza para designar a la familia de las quitinas desacetiladas en distintos grados (Rudrapatnam y cols, 2003).

La quitina y el quitosán han despertado un interés comercial especial por su alto porcentaje de nitrógeno (6.89%). En este sentido, se prefiere utilizar a la quitina y el quitosán como materiales funcionales apropiados ya que estos polímeros naturales tienen propiedades excelentes como por ejemplo su biocompatibilidad, biodegradabilidad, no-toxicidad, propiedades de absorción, etc. (Majeti y Kumar, 2000).

1.16.2 PROCESAMIENTO DE LA QUITINA Y QUITOSÁN

La materia prima que más abunda en la producción de quitina es la que se obtiene a partir de los exoesqueletos de crustáceos, principalmente del cangrejo, del camarón y del langostino, donde la quitina forma parte de un sistema complejo, asociada con carbonatos de calcio, proteínas y otras sustancias orgánicas (pigmentos) (Morales, 2001), y se asocia (de forma covalente) con otros componentes, por lo que se requieren tratamientos ásperos para eliminarlos de la materia que contiene quitosán. Se han desarrollado diversos métodos para preparar quitina y quitosán en grandes cantidades. En la figura 12 se señalan los pasos más importantes en la extracción de la quitina en los cangrejos o camarones (Rudrapatnam y cols, 2003).

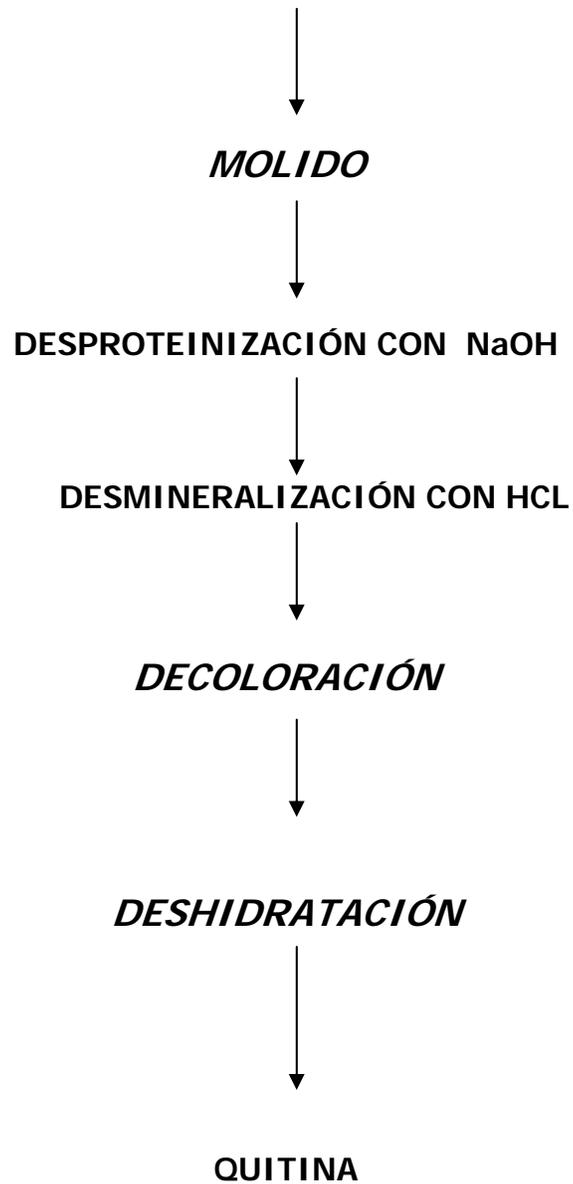
En el proceso general de obtención de quitosán se han identificado tres pasos importantes: desmineralización con ácido diluido, desproteínización con alcalinos diluidos y con un calentamiento moderado para purificar la quitina y finalmente una desacetilación (Wu y Bough, 1978) , donde los grupos acetilo son eliminados y el grupo amino se encuentra libre como amina primaria. Se han desarrollado una variedad de procedimientos para preparar quitosán a partir de la quitina (Morales, 2001). Las variedades en su concentración, el tiempo así como de la temperatura del tratamiento determinan la calidad y efectividad del producto (Wu y Bough, 1978).

En la producción de quitosán, la quitina es tratada, primero, con una solución muy fuerte de hidróxido de sodio para desesterificar las uniones de acetyl-N. El proceso de desacetilación se lleva a cabo ya sea a temperatura ambiente (desacetilación homogénea) o a elevadas temperaturas (desacetilación heterogénea), dependiendo de la naturaleza del producto final deseado (figura 13). Sin embargo, este último, se utiliza para propósitos industriales (Rudrapatman y cols, 2003).

Otro de los métodos para preparar quitosán con una pureza mejorada es el que consiste en disolver la materia en ácido (ácido acético) y filtrarlo para remover materiales extraños. El producto purificado es entonces liofilizado para obtener una sal ácida de quitosano soluble en agua o también, puede ser precipitado con NaOH, lavado y secado para obtener un producto libre de formas amino (Figura 13) (Rudrapatman y cols, 2003).

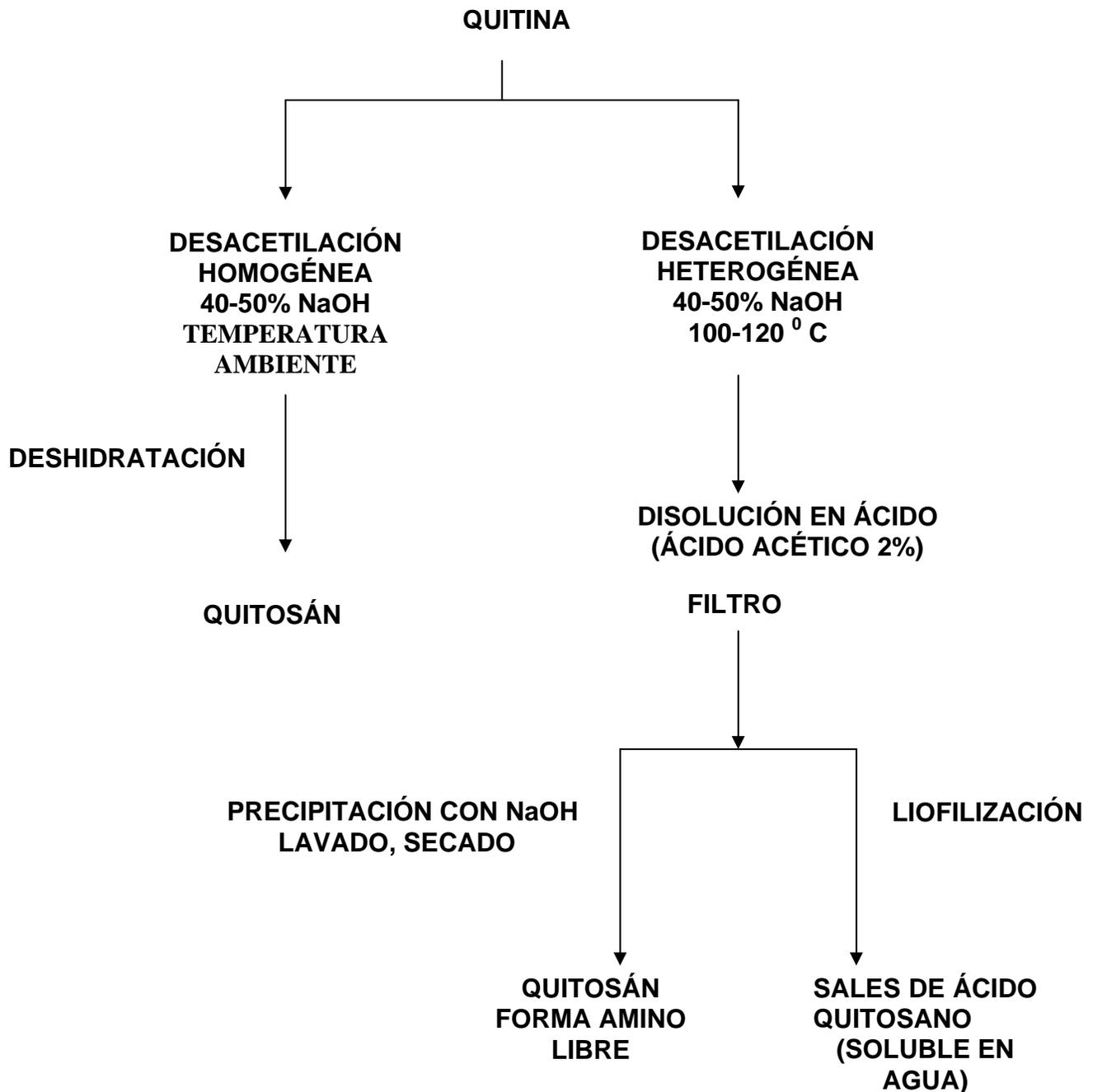
Figura 18. Proceso de Elaboración de quitina

EXOESQUELETOS DE CAMARÓN O CANGREJOS



Fuente :Rudrapatman y cols, 2003.

Figura 19.- Proceso de Elaboración de quitosán



Fuente: Rudrapatman y cols., 2003

1.16.3 PROPIEDADES DE LA QUITINA Y EL QUITOSÁN

Al igual que la celulosa, la quitina funciona como un polisacárido estructural en su estado natural. La quitina es altamente hidrofóbica además de ser insoluble en agua y en la mayoría de los solventes (Majeti y Kumar, 2000). Es un polímero formado por unidades de 2-acetamido-2-deoxiglucosa. Tiene gran peso molecular. En estado puro la quitina es un material blanco y amorfo (Becerra, 2001).

Las propiedades del quitosán se relacionan con la distribución del peso molecular de este polímero y este a su vez depende de las condiciones de la hidrólisis: concentración de alcalinos, temperatura de reacción, tiempo de reacción y la presencia o ausencia de oxígeno. Si hay oxígeno, la degradación y oxidación proceden a través de un mecanismo de un radical libre similar al reportado para la celulosa (Hayes y Davies, 1974).

El quitosán, presenta alto peso molecular, es un poliamino lineal (Morales, 2001) cuyos grupos funcionales están disponibles para reacciones químicas; se comporta como un polielectrólito en agua a pH's ácidos, ya que presenta una alta densidad de carga positiva atribuida a las unidades de glucosamina, por lo que interactúa fuertemente con estructuras aniónicas como: proteínas, polisacáridos y otras moléculas de carga negativa (Trejo y cols., 2001). Es un sólido blanco amorfo (Becerra, 2001), insoluble en agua y solventes alcalinos y orgánicos, sin embargo es soluble en muchos ácidos orgánicos acuosos diluidos en concentraciones que se encuentran en un rango de 0.25 a 10% (en niveles de pH bajo 6) (Filar y Wirick, 1978).

Posee grupos hidroxil y amino primarios reactivos, menos cristalino que la quitina, lo cual hace al quitosán más accesible a los reactivos. El quitosán también tiene una alta concentración de grupos amino primarios, lo cual lo hace más nucleofílico y básico (Tokura, 1990).

1.16.4 PROPIEDADES DEL QUITOSÁN COMO SOLUCIÓN

El quitosán tiene propiedades de solución muy particulares. Primero, cuando en su forma libre de aminos no es soluble en agua en pH neutral. En pH ácido, los grupos libres de aminos (NH_2) se protonizan para formar grupos aminos catiónicos ($-\text{NH}_3^+$) (Sandford, 1989).

El siguiente cuadro lista algunas claves del comportamiento en solución de dos de las formas aminos del quitosán (Cuadro 8).

Cuadro 8. Propiedades del quitosán como solución

Libre de Aminos ($-\text{NH}_2$)	Aminos Catiónicos ($-\text{NH}_3^+$)
<ul style="list-style-type: none"> - Soluble en soluciones acídicas - insoluble en pH's mayores de 6.5 - insoluble en H_2SO_4 - solubilidad limitada en H_3PO_4 - insoluble en la mayoría de los solventes orgánicos 	<ul style="list-style-type: none"> - Soluble en pH's menores de 6.5 - formas de soluciones viscosas - forma geles con polianiones - conservará su solubilidad en algunas mezclas de agua con alcohol

Fuente: Sandford, 1989.

1.16.5 APLICACIONES DE LA QUITINA Y QUITOSÁN

Una de las principales limitaciones en el uso eficaz de la quitina y el quitosán es su alto peso molecular, el cual obstaculiza su solubilidad en un medio acuoso (Rudrapatnam y cols, 2003).

La poca solubilidad de la quitina es el factor limitante más destacado en su utilización. A pesar de esta limitación se han reportado diversas aplicaciones de la quitina y su versión modificada (Majeti y Kumar, 2000).

La viscosidad de las soluciones de quitosán esta en función de diversos factores, tales como el método de obtención, el tipo y la concentración del solvente, la temperatura, el peso molecular del polímero, el pH y la presencia de ciertas sales en solución (Becerra, 2001).

Algunos aspectos característicos para el uso de la quitina y el quitosán son: 1) Se obtienen de recursos naturales y reproducibles biológicamente; 2) biodegradables y no contaminan el ambiente natural; 3) biocompatibles no solo en tejidos animales sino también en los tejidos de las plantas, 4) Poco tóxicos; 5) funcionales biológicamente; 6) cambiantes en estructura molecular. Estos aspectos proveen un estímulo para los métodos ideados para adoptar este biopolímero valioso para aplicaciones versátiles (Rudrapatman y cols, 2003).

El quitosán tiene una amplia variedad de aplicaciones. En el cuadro 9 se muestran diversos derivados y algunas de sus aplicaciones.

Cuadro 9. Propiedades y aplicaciones del quitosán

PROPIEDADES	APLICACIONES
<p>Catiónica</p> <p>Polielectrolito lineal con carga densa Quela iones de metales tóxicos</p>	<p>Purificación de Agua (residual)</p> <p>Excelente floculación</p>
<p>Química</p> <p>Alto peso molecular Grupos reactivos amino e hidroxilo</p>	<p>Alta viscosidad, formación de películas Modificaciones químicas con propósitos específicos.</p>
<p>Biológica</p> <p>Biocompatible, biodegradable Bioactividad</p>	<p>No tóxico, cubiertas/empaquetado de películas. Antimicrobial, antitumor, inmuno potenciador.</p>
<p>Farmacéutica</p> <p>Bicompatible, biodegradable</p>	<p>Curaciones de heridas, lenta liberación de drogas, piel sintética, suturas ortopédicas, lentes de contacto.</p>
<p>General-Cosmética</p> <p>Retención de humedad, excelente alimento, cubierta de película protectora, propiedades táctiles excelentes</p>	<p>Productos para el cuidado de la piel, lociones para el cabello, Ingrediente natural.</p>
<p>Alimentos y Agricultura</p> <p>Vendas de anión (ácidos de la bilis o ácidos libres de grasas) Fungistático</p>	<p>Agente hipocolesterolémica, agente anticarcinogénico, fibra dietética, antiulceras. Aumento en la producción de la cosecha, alimentos para animales.</p>
<p>Biotecnológica</p> <p>Encapsulamiento y absorción</p>	<p>Matriz de inmovilización, gel de quitosán.</p>

Fuente: (Rudrapatman y cols, 2003).

1.16.6 TIPOS DE QUITOSÁN: LÍQUIDO O SÓLIDO

El quitosán líquido es un agente antimicrobiano que resulta más efectivo que el quitosán sólido debido a que es absorbido más rápidamente por las células microbiales y de las plantas (Cuero, 1999). La absorción del quitosán por las células microbiales ha sido determinada por medio de la inducción de enzimas de quitosano y componentes fenólicos *in vitro* así como en el cultivo de tejido después de aplicarles tratamientos con quitosán exógeno (Cuero, 1999).

El quitosán sólido tiende a actuar más lentamente y tiene una potencia biológica baja. Además, el tipo de ácido utilizado en la preparación de soluciones de quitosán influye en su actividad antimicrobiana. Los quitosanos preparados con ácido acético muestran efectos antifúngicos inmediatos en contraste con los quitosanos preparados con ácido láctico (Cuero, 1999).

Los quitosanos preparados con ácido acético pueden permanecer almacenados por más de 3 años incluso a temperatura ambiente sin reducir su actividad antimicrobiana, en contraste con el quitosán preparado con el ácido láctico que mantiene todo su potencial tan sólo por un periodo menor a 3 años a temperatura ambiente (Cuero, 1999).

El tipo de quitosán que se use comercialmente se determina por su forma física (hojuelas, polvo, soluciones), su pureza (ultra pura, estándar, industrial) y su forma molecular (viscosidad alta o baja, porcentaje de desacetilación (mayor del 75%) libre de aminos o sal ácida) y finalmente el costo (Sandford, 1989).

1.16.7 ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LA QUITINA Y QUITOSÁN

El quitosán, un polímero catiónico es un agente conocido por su actividad antifúngica (Bhaskara y cols, 1999). La creciente demanda de alimentos sin conservadores químicos ha centrado sus esfuerzos en el descubrimiento de nuevos antimicrobianos naturales. En este contexto la actividad antimicrobiana inusual de la quitina, quitosán y sus derivados contra los diferentes grupos de microorganismos tales como las bacterias, los hongos filamentosos y las levaduras, han recibido una considerable atención en años recientes (Rudrapatnam y cols, 2003).

Debido a la carga positiva en C-2 del monómero glucosamino a un pH bajo 6, el quitosán es más soluble y tiene una actividad antimicrobiana mejor que la quitina. La concentración inhibitoria mínima del quitosán y sus derivados varían significativamente en diferentes cultivos bacteriales (Rudrapatnam y cols, 2003). También se ha demostrado que el quitosán reduce el crecimiento *in vitro* de diversos hongos con la excepción de los *Zygomycota* es decir, grupo de hongos que contiene quitosán como un componente principal de su pared celular. Además de la formación de películas permeables al gas, su interferencia directa en el crecimiento fúngico y la activación de varios procesos de defensa, como la acumulación de quitinasa (Rudrapatnam y cols, 2003). Del mismo modo en otro estudio *in vitro* el quitosán, inhibió el crecimiento fúngico significativamente más que la quitina. Sin embargo algunas especies fúngicas fueron menos sensibles, el crecimiento de todas las especies excepto aquellos que contienen quitosán como constituyente de la pared fue afectado (Leuba y Stossel, 1986).

La explicación de este efecto la definen en términos de que el quitosán con sus grupos amino cargados positivamente interactúan con los grupos fosfato negativos de los ácidos nucleicos del material genético de los hongos, en especial cuando los

polímeros de quitosán tienen 7 unidades inhibiendo el crecimiento de los hongos (Galvez,2001).

El quitosán ha sido utilizado como componente antimicrobiano por su aplicación externa (exógena) en el hospedero, en el sustrato o medio y en una superficie física que contenga una población microbiana. La quitosanasa y la quitinasa se han inducido en las plantas como mecanismos de resistencia contra los patógenos, especialmente hongos (Cuero, 1999). Al igual que ocurre con las quitinasas y las glucosanasas β -1-3, las quitosanasas juegan un papel muy importante en la defensa contra los patógenos invasores debido a su potencial para hidrolizar paredes celulares de polisacáridos (Ouahfaoui y Asselin, 1992).

Además de la naturaleza y/o estructura fisicoquímica del quitosán, muchas otras cualidades específicas, inherentes al hospedero y/o sustrato que pueden influir en la actividad antimicrobiana del polímero, incluyen las condiciones ambientales como la temperatura, humedad, composición de nutrientes, pH y actividad del agua (Cuero, 1999). El método más rápido para lograr el aprovechamiento total de las propiedades biológicas del quitosán consiste en la investigación encaminada hacia una comprensión de cómo el quitosán-como polímero catiónico- interactúa con múltiples componentes celulares para modificar la regulación celular (Hadwiger, 1989).

1.16.8 EFECTO DE LA NATURALEZA DE LA QUITINA Y QUITOSÁN EN LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.

La naturaleza del material de quitina (simple o derivada) tiene un impacto profundo en su efectividad antimicrobiana. El quitosán N-carboximetil (NCCM) se obtiene por una carboximetilación –N del quitosán, que consiste en la reacción de los grupos libres amino de quitosán con ácido glioxílico para producir una aldimina soluble y después reducir el producto con un agente reductor adecuado. Las diferencias en la estructura química entre el quitosán simple y derivado también afecta sus diferencias funcionales, un ejemplo de ello ocurre en la actividad antimicrobiana, del quitosán N-carboximetil (NCCM) *in vitro*, incluso en una concentración baja muestra más potencia que el quitosán simple, y su acción antimicrobiana *in vitro* es más rápida que la del quitosán simple.

En otras investigaciones también se ha destacado la actividad antimicrobiana del quitosán en plantas en crecimiento así como en el grano y frutas cosechadas. Cuero y Osuji lograron completar la inhibición del toxigénico *A. flavus* en el campo de maíz en crecimiento y en el cacahuate tratado con quitosán (Cuero,1999). También se ha utilizado el quitosán en diferentes temporadas como cubierta de las semillas de trigo, donde se demostró que la cubierta de quitosán como recubrimiento del trigo aumentaba la cosecha. Aparentemente, el quitosán induce una respuesta en la semilla, marcando a la planta para protegerse de predadores naturales como los hongos patógenos, la mayoría de los cuales posee quitina en su paredes celulares (Sandford, 1989).

El quitosán ha sido relacionado con la regulación de las enzimas en las plantas o en las interacciones de hongos en las plantas como inductores o como inhibidor del crecimiento de hongos (Lienart, Driguez y Domard, 1989).

1.16.9 MECANISMOS PARA EXPLICAR EL EFECTO ANTIFÚNGICO DEL QUITOSÁN

Se han propuesto diversos mecanismos para explicar el efecto antifúngico del quitosán:

1.- El quitosán exógeno de los crustáceos aplicado en la planta hospedera parece activar los genes en el RNA del huésped; éstos entonces inducirán el camino fenilpropanoide y algunas enzimas responsables de activar los mecanismos de resistencia contra los patógenos; el quitosán exógeno induce la producción de quitosanasa microbiana. Esta enzima realiza una actividad antifúngica al hidrolizar el quitosán en la pared celular del microorganismo y, consecuentemente, la inhibición de su crecimiento y/o su muerte. Cuero y cols. mostraron una inhibición del 100 % en el crecimiento de *A. flavus* en maíz sembrado en campo tratado con quitosán; y como consecuencia, la inhibición de la micotoxina, la aflatoxina (Cuero, 1999).

Los oligosacáridos producidos como resultado de la acción de la quitinasa y de la quitosanasa en los patógenos fúngicos pueden actuar como inductores o disparar las reacciones de defensa del huésped (Somashakar y Joseph, 1996), estos oligosacáridos son útiles para propósitos agrícolas y medicinales. De esta forma las enzimas quitinolíticas, podrían usarse como agentes antifúngicos naturales en las plantas y bacterias, que expresan sus genes para protegerse de los ataques fúngicos (Wang y Hwang, 2001).

2.- El quitosán exógeno extraído de los crustáceos también ha mostrado una activación de fitoalexinas y/o de sus precursores (componentes fenólicos libres, fenoles totales y fenólicos libres desconocidos) después de ser aplicados en las plantas sembradas en el campo como el cacahuate y el maíz, dando como

resultado el control de cepas patogénicas y/o toxigénicas de *A. flavus* (Cuero,1999).

3.- El efecto antimicrobiano del quitosán exógeno también parece ser el resultado de su capacidad para reaccionar con las proteínas y con los elementos nutrimentales esenciales utilizados por los microorganismos durante su crecimiento, inhibiendo así la disponibilidad de estos nutrimentos para los microorganismos y provocando un crecimiento lento y/o muerte de los mismos (Cuero,1999).

En muchas especies de plantas la invasión local del patógeno induce la producción de proteínas (parecidas a las quitinasas), de glucosidas β -1-3, de proteinasas, de inhibidores de proteínasa, etc. Ya que el hongo patógeno y los insectos contienen quitina en sus cubiertas protectoras, la inducción de las quitinasas en las plantas es la respuesta de defensa principal en las plantas. La mayoría de estas quitinasas son inducidas en los órganos vegetativos de las plantas pero algunas se encuentran presentes en las semillas (Reeterani y cols., 2000).

Las plantas demuestran respuestas fisiológicas y morfológicas a una gama de los factores físicos y químicos conocidos como inductores. Estas respuestas se han considerado como reacciones de defensa de las plantas para asegurar su supervivencia, persistencia y competitividad (Inbar y cols., 1998).

1.16.10 FACTORES EXTRÍNSECOS QUE INFLUYEN EN LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

1.16.10.1 pH

Es bien conocido que el pH es uno de los factores que intervienen en el crecimiento de los microorganismos en cualquier sustrato y en cualquier hospedero. El NCMC funciona en un rango de pH más amplio, aunque funciona mejor con pH entre 3.5 y 5 como un agente antimicrobiano, en contraste con el quitosán original, que actúa más eficazmente con pH de 5 o >5, el NCMC tiene una solubilidad en agua mayor que el quitosán y posee mejores propiedades de quelación que el quitosán. Esto aumenta su versatilidad como agente antimicrobial, especialmente contra los hongos que crecen en las plantas con distintos pH. (Cuero,1999).

1.16.10.2 CONTENIDO DEL AGUA EN EL HOSPEDERO Y/O SUSTRATO

La actividad o contenido del agua del sustrato influye en la eficacia del quitosán para inhibir el crecimiento fúngico en las semillas de plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas. Aunque los quitosanos derivados como el NCMC presenta una tendencia hidrolítica mayor que el quitosán original, ambas siguen siendo influidas por el contenido de agua del hospedero sustrato.

La utilización de quitosanos como agentes antimicrobianos es un claro ejemplo de un control biológico exitoso. Sin duda el quitosán es un componente versátil dotado de una capacidad antimicrobiana que puede afectar el crecimiento y fisiología de la mayoría de los microorganismos, incluyendo a las algas, hongos, bacterias, protozoarios y virus (Cuero, 1999).

El grado de la efectividad y modo de acción del quitosán varía según el microorganismo seleccionado. Las reacciones de los microorganismos al quitosán como agente antimicrobial también depende de la constitución química del quitosán que se use así como de las condiciones ambientales en interacción.

Se necesita una comprensión más profunda de la actividad biológica de las diferentes unidades del quitosán y la base fundamental de las interacciones entre los factores intrínsecos y extrínsecos para elaborar aplicaciones prácticas del quitosán exógeno como agente antimicrobiano (Cuero,1999).

Después de descubrir las propiedades biológicas del quitosán, se han encaminado diversos esfuerzos para desarrollar un uso práctico de sus propiedades y, de esta forma, generar una demanda de este compuesto para que esté disponible comercialmente a partir de la quitina de los desechos de exoesqueletos de crustáceos (Hadwiger y cols 1989). El eficaz uso de los recursos marinos no sólo ayuda para convertir los desechos de las industrias procesadoras pesqueras en productos útiles, sino que ha llegado a ser una herramienta de una gran importancia ambiental.

Se espera que en el futuro se utilicen todas las aplicaciones adicionales del quitosán (Rudrapatnam y cols., 2003). Su aplicación versátil representa un gran reto para la comunidad científica así como para la industria. La disponibilidad comercial de las formas de quitina y quitosán puras y la continua aparición de nuevos tipos de derivados de quitina y quitosán con propiedades cada vez más útiles y particulares han conducido a trabajar con este aminopolisacárido, la quitina (Rudrapatnam y cols, 2003).

CAPÍTULO II

OBJETIVOS

CAPÍTULO II. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar del efecto del quitosán como cubriente en granos de maíz, en la mortalidad, la oviposición y emergencia de *Sitophilus zeamais* y como antifúngico en hongos de campo y almacén *in vitro*.

2.2 OBJETIVOS PARTICULARES

Objetivo particular 1

Determinar el efecto insecticida del quitosán como cubriente en granos de maíz (*zeamays*) mediante la variación de dos pesos moleculares y cuatro concentraciones diferentes para llevar a cabo el control del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*).

Objetivo particular 2

Evaluar el efecto del quitosán en la oviposición y emergencia del gorgojo del maíz como cubriente en granos de maíz (*zea mays*) mediante la variación de dos pesos moleculares en cuatro diferentes concentraciones para evitar pérdidas durante el almacenamiento.

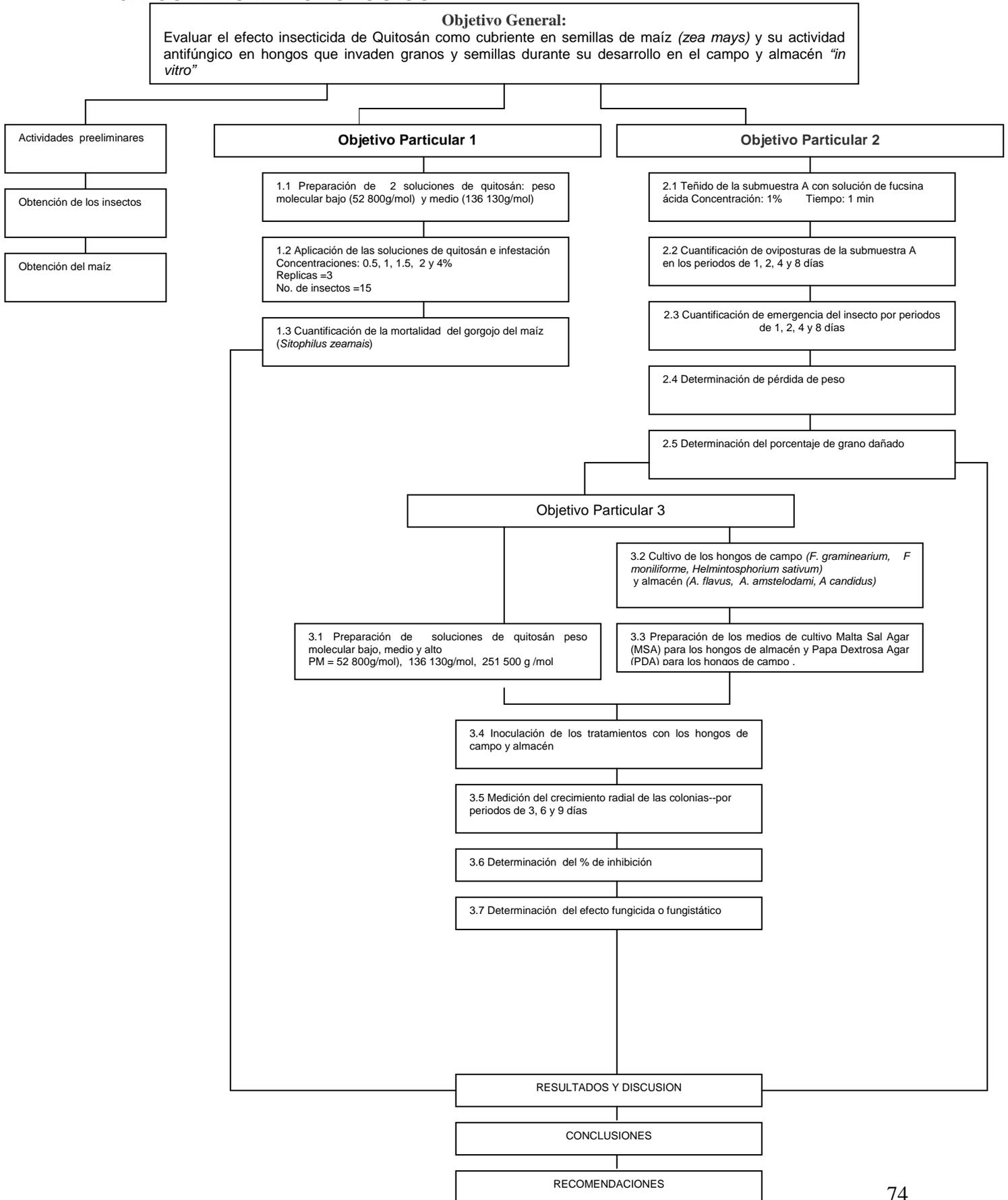
Objetivo particular 3

Evaluar el efecto antifúngico "*in vitro*" del quitosán en tres diferentes pesos moleculares sobre hongos patógenos de campo y almacén para evitar la contaminación del maíz durante su almacenamiento.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1 CUADRO METODOLÓGICO



Actividades preeliminares

Obtención de insectos

Los insectos utilizados en la experimentación se obtuvieron de una colonia permanente de *Sitophilus zeamais* del Laboratorio de Entomología de la Unidad de Investigación de Granos y Semillas que se encuentra ubicada en el Centro de Asimilación Tecnológica (Campo 3) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Para incrementar la colonia de *Sitophilus zeamais*, se utilizaron 500 g de maíz en un frasco de vidrio con capacidad de 1 litro provista de una tapa con malla para permitir tanto la respiración del grano como del insecto, posteriormente se infestó con 300 insectos adultos al azar y se mantuvieron en una cámara de cría durante 2 días bajo condiciones controladas de temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), humedad relativa (75 %), fotoperiodos de 24 horas luz y posteriormente se utilizaron estos insectos durante la experimentación.

Obtención de maíz

El maíz utilizado en la experimentación correspondiente a la etapa de los insectos se obtuvo de la Unidad de Investigación de Granos y Semillas proveniente de Celaya Gto. el cual fue el híbrido ASPRO 910 con 9.36% de humedad y 85 a 90% de germinación.

OBJETIVO PARTICULAR 1**Actividad 1.1 Preparación de soluciones de quitosán**

Se prepararon dos soluciones de quitosán en diferentes pesos moleculares: peso molecular bajo (52 800g/mol) en concentraciones de 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 % y peso molecular medio en concentraciones 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 %. Para cada solución se utilizaron 2 controles; control 1: agua destilada y control 2: agua ácida (agua + ácido acético con un pH de 5.5).

Cada una de las soluciones de quitosán se solubilizaron con una solución de ácido acético al 1 % y se homogeneizaron para posteriormente ajustarse a un pH de 5.5 con un potenciómetro digital.

Actividad 1.2 Aplicación de quitosán e infestación

Para llevar a cabo el primer experimento se hizo un recubrimiento de los granos de maíz a las diferentes concentraciones de quitosán y controles, se utilizaron 50 g de maíz los cuales se cubrieron por inmersión con cada una de las soluciones anteriormente mencionadas, una vez tratadas con las soluciones, se secaron a temperatura ambiente y se colocaron en frascos de vidrio de 100 ml provistos de una tapa con malla para permitir la respiración del grano así como del insecto. Después se infestaron con 15 insectos al azar y se colocaron en una cámara de cría a temperatura de 25 ± 2 ° C humedad relativa de 75 % y fotoperiodos de 24 horas luz, durante 1, 2, 4 y 8 días. Una vez transcurridos estos periodos, los insectos adultos fueron retirados de cada una de las réplicas. El experimento se realizó por triplicado para cada control y cada una de las concentraciones de quitosán de peso molecular bajo y medio respectivamente.

Actividad 1.3 Cuantificación de la mortalidad del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*)

Para la cuantificación de la mortalidad se utilizó un tamiz # 5-4.33 mm marca MONT-INOX en donde se vertió el contenido de cada una de las réplicas y se tamizó para facilitar el conteo de los insectos muertos.

El número de insectos contabilizados se reportó en la siguiente tabla

Tabla 1. Mortalidad del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*)

[%]	1 día			2 día			4 día			8 día		
	R1	R2	R3									

OBJETIVO PARTICULAR 2

Con el propósito de evaluar el efecto del quitosán en la oviposición y emergencia de *Sitophilus zeamais*, se realizó el siguiente experimento.

Actividad 2.1 Teñido de la muestra

Para llevar a cabo el segundo experimento se realizó lo siguiente: se cubrieron 50 g de maíz con quitosán de bajo peso molecular a concentraciones de 0.5, 1.0, 2.0 y 4.0 % y peso molecular medio a las siguientes concentraciones: 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0%.

La preparación de las soluciones se realizaron de la misma forma como se menciona en el punto 1.1

Cada muestra de 50 g de maíz se dividió en 2 submuestras de 25 g de las cuales la submuestra (A) se sometió a un proceso de teñido con fucsina ácida, esta técnica se realizó para facilitar el conteo de oviposturas de las hembras de *Sitophilus zeamais* en el microscopio; posteriormente la otra submuestra (B) se mantuvo en una cámara de cría a una temperatura de 25 ± 2 °C, humedad relativa de 75 % y fotoperiodos de 24 horas luz, para evaluar la emergencia del insecto.

El teñido de la submuestra (A) se realizó mediante la inmersión de 25 g de maíz en una canastilla de plástico en la solución de fucsina ácida durante 1 min aproximadamente, transcurrido este tiempo se dejó escurrir y se secó a temperatura ambiente ya secos, se vertió cada muestra en un frasco de vidrio y se infestaron con 15 insectos e inmediatamente se taparon e introdujeron en la cámara de cría a las mismas condiciones de la submuestra (B) para ser retirados en los siguientes periodos: 1, 2, 4 y 8 días para su posterior observación en el microscopio.

Actividad 2.2 Cuantificación de oviposturas del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*)

Una vez que se cumplieron los periodos de infestación las replicas de (A) fueron retiradas de la cámara y los insectos contenidos en cada una de las replicas fueron retirados también.

Posteriormente los granos de cada réplica se revisaron en un microscopio estereoscópico marca Leica Stereo Zoom 6 Photo en donde se contabilizaron las oviposturas realizadas por las hembras de *Sitophilus zeamais*.

Una vez contadas las oviposturas se introdujeron los frascos en la cámara en donde permanecieron 30 días aproximadamente para determinar la emergencia de *Sitophilus zeamais*.

Actividad 2.3 Cuantificación de emergencia del gorgojo del maíz

Las réplicas de la submuestras A y B que fueron introducidas en la cámara se retiraron una vez que se observó la emergencia de un gorgojo, inmediatamente se contaron los gorgojos que emergieron de los granos de maíz contenidos en cada frasco.

Actividad 2.4 Determinación de pérdida de peso en los granos de maíz

Para calcular la pérdida de peso, se pesaron las submuestras no teñidas (B) antes de ser introducidas en la cámara. Estos datos fueron utilizados para determinar el peso inicial, posteriormente se colocaron en la cámara de cría en condiciones constantes de temperatura y humedad relativa durante 30 días aproximadamente. Transcurrido este tiempo, nuevamente fueron pesados para obtener el peso final. Una vez obtenido el peso inicial y final se calculó la diferencia de peso.

$$\text{Pérdida de peso} = \text{Peso inicial} - \text{Peso final}$$

Actividad 2.5 Determinación del porcentaje de grano dañado

Para calcular el porcentaje de grano dañado, se cuantificó el grano total y el grano dañado ocasionado por el gorgojo del maíz, contenido en las submuestras no teñidas (B) de cada una de las réplicas. El número de grano dañado se multiplicó por 100 y se dividió entre el grano total de cada replica, para obtener el porcentaje de grano dañado.

Las oviposturas, la emergencia, la pérdida de peso y el porcentaje de grano dañado, se reportaron del mismo modo que en la actividad 1.3.

Los resultados obtenidos de emergencia y grano dañado provocado por *S. zeamais* se analizaron con el programa STATISTICA versión 5.0, con la prueba de ANOVA FACTORIAL y se presentaron las gráficas en los casos que si hubo diferencia entre los factores.

OBJETIVO PARTICULAR 3

Se realizó un tercer experimento con el objeto de evaluar el efecto del quitosán en los hongos de campo y almacén, para llevar a cabo este experimento se realizaron las siguientes actividades:

Actividad 3.1 Preparación de soluciones de quitosán

Se prepararon tres soluciones de quitosán de 500 ml a diferentes pesos moleculares: peso molecular bajo (52 800g/mol), medio (136 130 g /mol) y alto (251 500 g/mol) en concentraciones de 0.5 %, 1.0 % y 2.0 % para cada uno de los pesos moleculares utilizados en esta experimentación. Las soluciones resultantes se homogeneizaron hasta su completa solubilización y finalmente se ajustaron a un pH de 5.5 con NaOH (para su utilización posterior en la actividad 3.3).

Actividad 3.2 Cultivo de hongos

Las cepas de *Fusarium moniliforme*, *Fusarium graminearum*, *Helminthosporium sativum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus candidus* y *Aspergillus amstelodami* fueron obtenidas del cepario de la Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNIGRAS) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Para el Cultivo de las diferentes cepas de hongos utilizados en este trabajo se prepararon dos medios, el de papa dextrosa agar (PDA) para las especies de

Fusarium moniliforme, *Fusarium graminearum*, *Helminthosporium sativum* y el de malta sal agar (MSA) para las especies de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus candidus* y *Aspergillus amstelodami*.

Los hongos fueron sembrados tomando con una aguja estéril porciones del micelio y sembrándolos en varios puntos en placas de agar, posteriormente se colocaron en una incubadora marca AMBI-LO-CHAMBER- modelo 1-800 a 25 °C durante 7 días. Para cada uno de los hongos se sembraron 10 placas de agar con papa dextrosa y malta sal agar.

Actividad 3.3 Preparación de los tratamientos

Se prepararon dos litros de Papa Dextrosa Agar (PDA) y dos litros de Malta Sal Agar (MSA) los cuales se dividieron en 4 soluciones de 500 ml cada una, y se mezclaron con las soluciones de quitosán de 500 ml (previamente preparadas) de diferente peso molecular a las concentraciones de 0.5, 1.0 y 2.0 %. Se utilizó un control por cada concentración. La solución resultante se homogenizó y se vació en placas las cuales se mantuvieron a 5 °C hasta su uso.

Los controles y tratamientos se realizaron por triplicado, dando como resultado 36 placas de agar por cada hongo y un total de 216 placas para los hongos tanto de campo como de almacén.

Actividad 3.4 Inoculación de los tratamientos con los hongos de campo y almacén

Se inocularon 216 placas de agar que contenían una mezcla de PDA-quitosán y MSA-quitosán en concentraciones de 0.5 %, 1.0 %, 2.0 % y un control en los tres pesos moleculares: 52 800 g /mol, 136 130 g / mol y 251 500 g /mol.

Con un sacabocado de 0.4 mm de diámetro estéril se realizaron perforaciones en el agar que contenía el hongo de las especies utilizadas y se tomó un fragmento discoidal de dicho hongo sembrándolo en el centro de cada una de las placas. Una vez inoculadas las placas se incubaron a 25 ° C durante 3, 6 y 9 días.

Actividad 3.5 Medición del crecimiento radial de las colonias

Después de incubar por un período de 3, 6 y 9 días los tratamientos, se realizó la medición del crecimiento radial en cada una de las placas de agar. Esta medición se realizó en forma de cruz con un vernier y se obtuvieron dos diámetros perpendiculares los cuales se sumaron y dividieron para calcular el diámetro promedio de la colonia, esta medición se realizó cada tercer día para estimar la velocidad de crecimiento radial de la colonia con respecto al tiempo.

Actividad 3.6 Determinación del porcentaje de inhibición

Una vez obtenido el diámetro promedio de la colonia se calculó el porcentaje de crecimiento (% C). Para este cálculo se determinó el diámetro promedio control el cual se multiplicó por 100 y dividió entre el diámetro promedio de la colonia.

Por último se determinó el porcentaje de inhibición, el cual se realizó con la diferencia entre el porcentaje de crecimiento y el 100 %.

Los resultados obtenidos se reportaran en la siguiente tabla:

	Bajo			Medio			Alto		
Hongo	0.5%	1%	2%	0.5%	1%	2%	0.5%	1%	2%

Actividad 3.7 Determinación del efecto fungicida o fungistático del quitosán

En las placas que no se observaron desarrollo de los hongos, se transfirieron en placas con medio de cultivo PDA y MSA sin tratamiento, se incubaron a 25°C durante días y los resultados obtenidos se reportaron en la siguiente tabla.

Hongo	PM (g/mol)	[%]	Efecto

Los datos se analizaron con un diseño experimental factorial, siendo los factores los diferentes pesos moleculares en sus tres concentraciones y los diferentes periodos de incubación, se presentaron las gráficas en los casos que si hubo diferencia entre los factores. El programa estadístico empleado fue STATISTICA versión 5.0 y la prueba ANOVA FACTORIAL.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las gráficas que presentaron una diferencia significativa en el análisis de varianza con una $p < 0.05$, son las que se incluyeron en los resultados de los estudios realizados en esta tesis y que a continuación se presentan.

Objetivo Particular 1

Actividad 1.3 Efecto del quitosán en la mortalidad del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*)

En la experimentación correspondiente al estudio de *S. zeamais*, se contabilizó la mortalidad del gorgojo de los granos de maíz cubiertos con quitosán de dos pesos moleculares: bajo y medio.

Respecto a la variable de mortalidad, es necesario mencionar que los datos obtenidos no fueron incluidos en el análisis de varianza. Esta variable no se tomó en cuenta debido a que en los periodos de 1, 2, 4 y 8 días la mortalidad fue prácticamente nula lo cual indica que el quitosán no tuvo efecto insecticida sobre los adultos de *S. zeamais* ya que es necesario adicionar grupos alquilfosfatos y alquilcarbamatos para generar los derivados de la quitina, y así obtener un efecto insecticida sobre el insecto como lo reporta Luna Moraga (2004)

Objetivo Particular 2

Actividad 2.2 Efecto del quitosán en la oviposición del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*)

En relación a la oviposición el quitosán como cubriente en granos de maíz no tuvo efecto sobre esta variable. Respecto al conteo de las oviposturas, la técnica de tinción utilizada causó una sobreestimación debido a que la solución de fucsina ácida provocó el desprendimiento de la película de quitosán así como de algunos tapones de los granos de maíz.

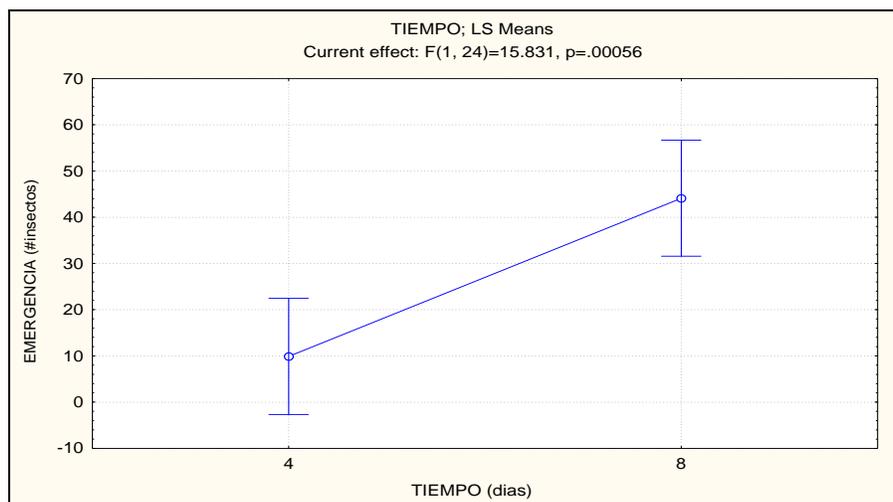
Se recomienda que al utilizar el quitosán como cubriente de granos de maíz, se evite la técnica de tinción, debido a que la solución de fucsina ácida al estar en contacto con la película de quitosán provoca el desprendimiento de la misma.

En la realización de los análisis estadísticos de emergencia, pérdida de peso y grano dañado, no se incluyeron dos de los cuatro periodos de infestación (1 y 2 días) para cada una de éstas variables, debido a que estos periodos fueron muy cortos, por lo tanto los períodos de infestación que se consideraron para el análisis fueron a los 4 días y 8 días.

2.3 Efecto del quitosán en la emergencia del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*).

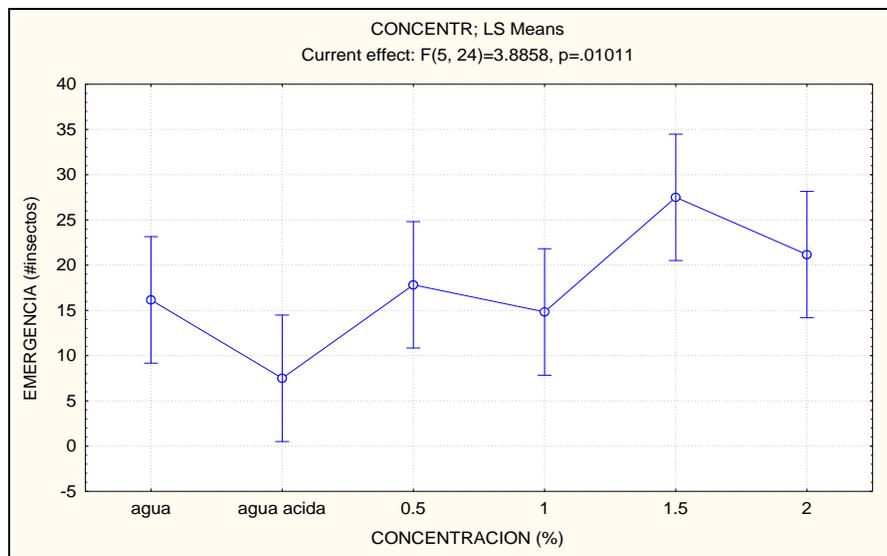
La emergencia del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*) es la salida del gorgojo del grano de maíz una vez concluido su desarrollo.

El análisis estadístico de la emergencia de insectos en maíz cubierto con quitosán de peso molecular bajo da como resultado que en el periodo de infestación a los 4 días fue menor respecto al periodo de 8 días, como se observa en la gráfica 1, el tiempo no impide la reproducción del gorgojo del maíz, como lo muestra en este último periodo que hubo una mayor oviposición y por ende una mayor emergencia.



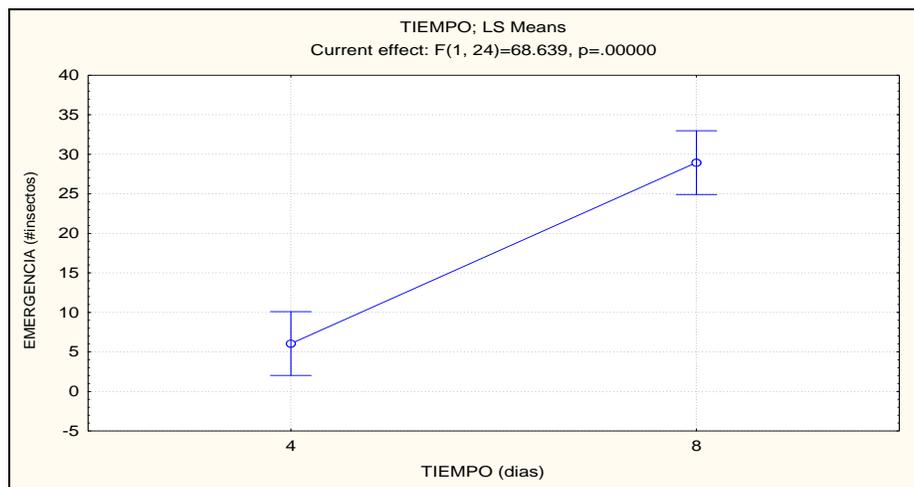
Gráfica 1. Emergencia de *Sitophilus zeamais* en maíz cubierto con quitosán de peso molecular bajo en diferentes periodos de infestación.

En la emergencia de insectos en maíz cubierto con quitosán de peso molecular medio a diferentes concentraciones existe diferencia significativa entre el control de agua ácida y la concentración de 1.5% como se observa en la gráfica 2. Lo que se traduce en que el quitosán experimentado en estos tratamientos no ejerce un efecto sobre el crecimiento y evolución del *S. zeamais*. Cabe destacar que el control de agua ácida muestra un descenso en el número de insectos que emergieron y esto puede deberse al efecto que tiene el ácido sobre el insecto. También se observa el mismo comportamiento del quitosán a la concentración de 1%, lo que hace suponer que tanto a esta concentración y el control de agua ácida pudieran disminuir la emergencia de los insectos en el grano.



Gráfica 2. Emergencia de *Sitophilus zeamais* en maíz cubierto con quitosán de peso molecular medio en diferentes concentraciones

El análisis estadístico mostró diferencia significativa entre los periodos de infestación y la emergencia, ya que como se observa en la gráfica 3, el porcentaje de grano dañado en el periodo de infestación a los 4 días es menor respecto al periodo de 8 días, en donde se incrementa la emergencia consecuencia de una mayor oviposición de *S. zeamais*.



Gráfica 3. Emergencia de *Sitophilus zeamais* en maíz cubierto con quitosán de peso molecular medio, en diferentes períodos de infestación.

Los resultados obtenidos en la emergencia mostraron que el quitosán aplicado en peso molecular medio tiene mejor efecto sobre el gorgojo del maíz comparado con el peso molecular bajo (52 800g/mol) en donde se observó un incremento en la emergencia. Como lo reporta Luna (2004) cuando es aplicado en pesos moleculares bajos, el quitosán (poli-β(1-4)-D-glucosamina) de dos pesos moleculares (37.450 y 63.500 g mol⁻¹) tiene mejor efecto sobre *S. zeamais*.

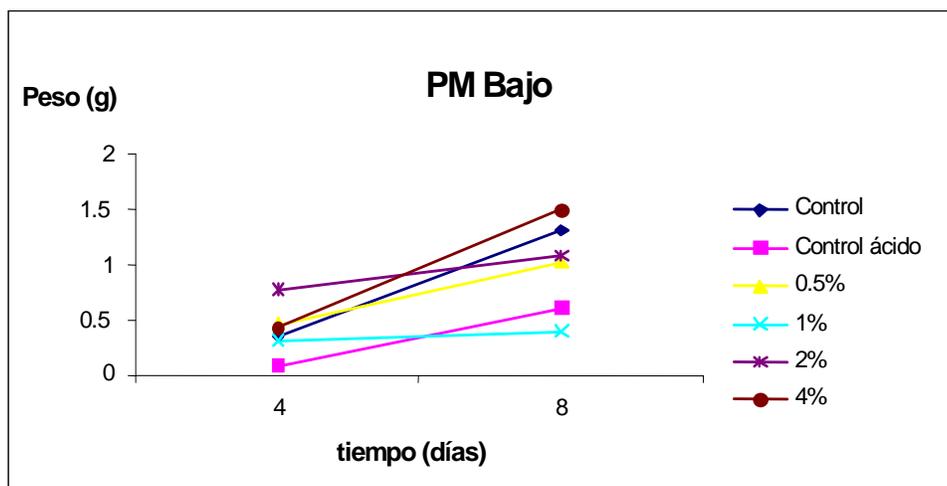
2.4 Efecto del quitosán en la pérdida de peso de los granos de maíz

En el análisis de varianza para la variable de pérdida de peso se obtuvo un aumento de peso en algunas réplicas de granos de maíz, esto se debe a la naturaleza hidrófila del quitosán, ya que las películas de quitosán tienden a retener el agua en su estructura lo cual conduce al hinchamiento de la misma, (Trejo y cols., 2001) también es importante señalar que el grano de maíz es higroscópico; es decir su contenido de humedad varía de acuerdo a las condiciones de temperatura y humedad relativa del aire ambiente donde se encuentran (Aireación de los granos).

Como consecuencia, este análisis no se llevó a cabo pues no cumplió con los parámetros que establece el análisis de varianza.

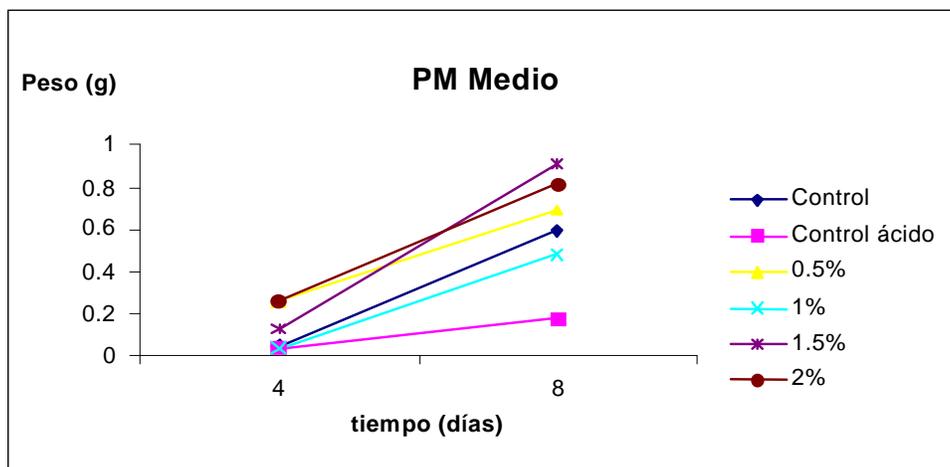
A continuación se presentan los promedios de aumento de peso en los dos pesos moleculares: bajo y medio.

En la gráfica 4 se observa, que hubo una disminución de peso en la concentración de 1.0 %, en los granos de maíz cubiertos con quitosán de peso molecular bajo por el contrario, la concentración de 4.0 % registró un aumento de peso a los 8 días comparado con los controles. Al parecer al incrementarse la concentración de quitosán, tiende a captar más agua del medio.



Gráfica 4. Aumento de peso de maíz cubierto con quitosán en peso molecular bajo a diferentes concentraciones.

Los granos de maíz cubiertos con quitosán de peso molecular medio presentaron menor ganancia de peso en el control ácido comparados con las concentraciones de 1.5 y 2.0 % que obtuvieron el mayor aumento de peso en el periodo a los 8 días, como se observa en la gráfica 5. Las concentraciones más altas son las que reportan un aumento de peso, del mismo modo que en la gráfica 4 donde la concentración de 4% fue la que reportó un incremento en el peso de los granos de maíz.

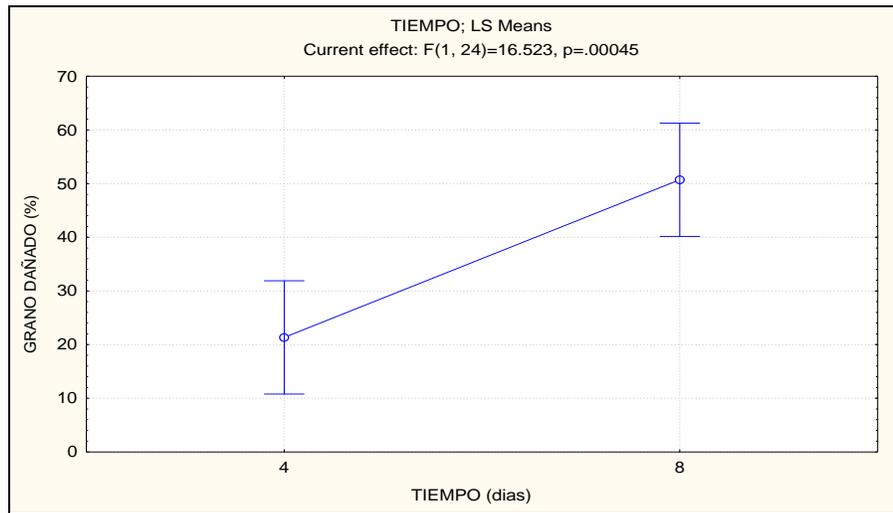


Gráfica 5. Aumento de peso de maíz cubierto con quitosán en peso molecular medio en diferentes concentraciones.

2.5 Efecto del quitosán en el grano dañado

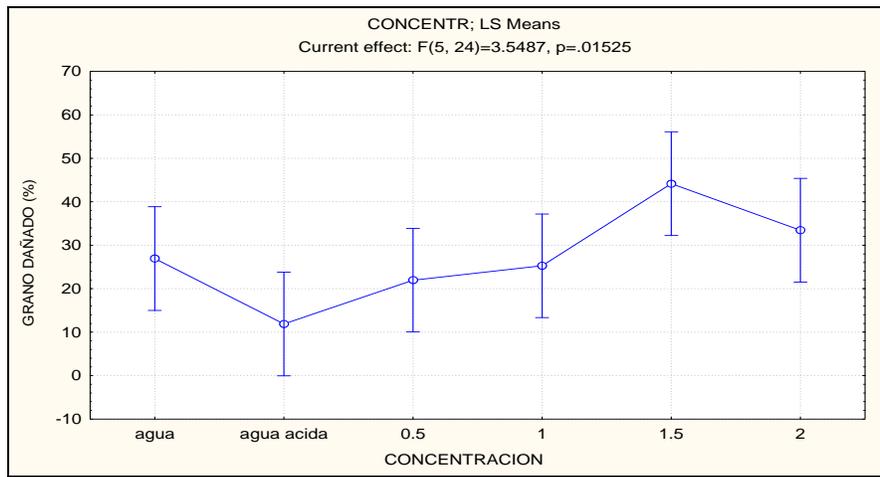
Como grano dañado nos referimos al grano o pedazo de grano deteriorado por la acción de insectos, hongos, fermentación, calentamiento o materialmente dañado por otras causas (Maíz, 1993).

En la gráfica 6 se observa que el maíz cubierto con quitosán de peso molecular bajo da como resultado que el grano dañado fue menor en el periodo de 4 días comparado con el periodo a los 8 días, esto se debe a que entre menor sea el periodo de infestación entre *Sitophilus zeamais* y el grano, el porcentaje de grano dañado disminuirá; la gráfica refleja el mismo comportamiento de la gráfica 3, en donde la emergencia es mayor a los 8 días, lo que trae como consecuencia un aumento en el porcentaje de grano dañado en este periodo.



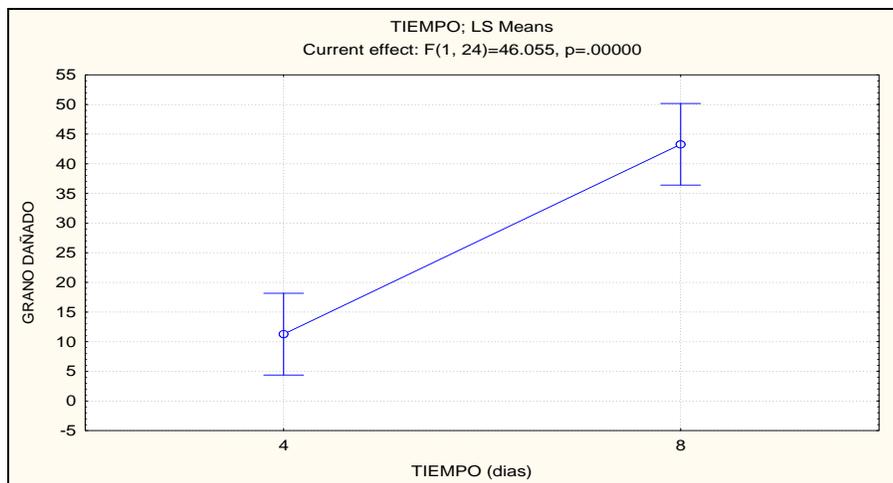
Gráfica 6. Porcentaje de grano dañado en maíz cubierto con quitosán de peso molecular bajo en diferentes periodos de infestación.

El maíz cubierto con quitosán de peso molecular medio en diferentes concentraciones, tuvo una diferencia significativa en el control de agua ácida y la concentración de 1.5% como se muestra en la gráfica 7, se tiene un incremento en el valor de porcentaje de grano dañado conforme se aumenta la concentración de las soluciones de quitosán, esto puede deberse a que el insecto tenga una preferencia al quitosán (polisacárido) al aumentar su peso molecular. Cabe destacar que el control de agua ácida muestra un descenso en la emergencia de insectos lo que hace suponer que el ácido causa algún efecto sobre el insecto.



Gráfica 7. Porcentaje de grano dañado cubierto con quitosán de peso molecular medio en diferentes concentraciones.

En la gráfica 8 se observa una diferencia entre los dos periodos de infestación (4 días y 8 días) en el porcentaje de grano dañado de maíz cubierto con quitosán de peso molecular medio. Este patrón de comportamiento es semejante al de la gráfica 6 correspondiente al porcentaje de grano dañado en maíz cubierto con quitosán de peso molecular bajo.



Gráfica 8. Porcentaje de grano dañado cubierto con quitosán de peso molecular medio en diferentes periodos de tiempo.

Objetivo Particular 3

Actividad 3.6 Porcentaje de inhibición de las colonias de hongos de campo y almacén.

Los resultados obtenidos muestran que las concentraciones no están en función del efecto de la solución de quitosán. En cuanto a los pesos moleculares el que tuvo un mayor efecto sobre el porcentaje de inhibición sobre los hongos de campo y almacén, fue el peso molecular medio ya que este tuvo el 100% de inhibición en la concentración de 2% para los hongos en estudio como se observa en la siguiente tabla.

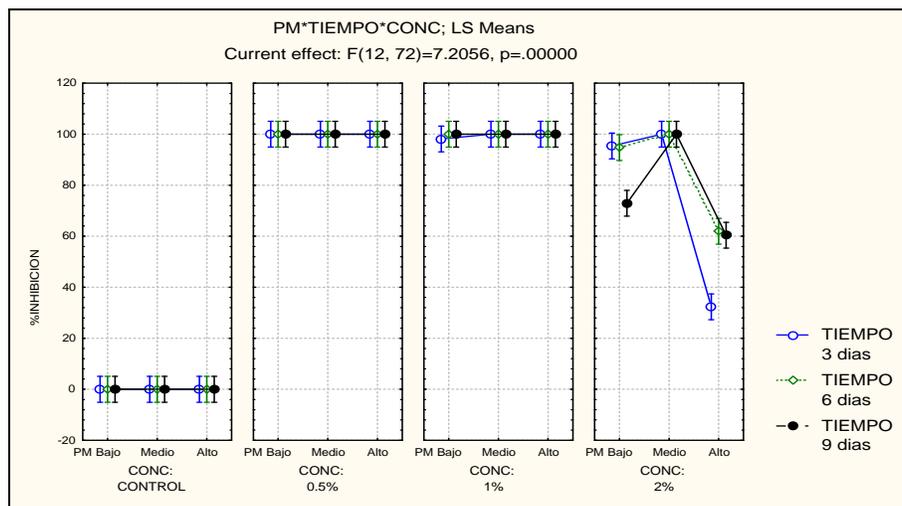
Cuadro 10. Porcentaje de inhibición en los tratamientos de quitosán-PDA y quitosán-MSA

Hongo	Bajo			Medio			Alto		
	0.5%	1%	2%	0.5%	1%	2%	0.5%	1%	2%
<i>F. graminearium</i>	100	100	73	100	100	100	100	100	60
<i>F. moniliforme</i>	23	100	89	67	67	100	24	57	50
<i>Helminthosporium sativum</i>	81	100	88	90	100	100	85	88	83
<i>A. amstelodami</i>	58	69	92	23	15	100	89	12	100
<i>A. flavus</i>	100	0	100	63	54	100	77	40	60
<i>A. candidus</i>	89	92	100	70	38	100	86	41	70

A continuación se presentan las gráficas que resultaron significativas en las interacciones de las variables tiempo, peso molecular y concentración para los hongos de campo y almacén.

Fusarium graminearum

El quitosán en los pesos moleculares: bajo, medio y alto aplicados en concentraciones de 0.5% y 1.0% mostraron un efecto fungicida al inhibir al 100 % el crecimiento radial de la colonia de *F. graminearum*, también el peso molecular medio en la concentración de 2.0 % presentó este efecto como se observa en la gráfica 9, a diferencia de los pesos moleculares: bajo y alto, a esta concentración que presentaron una inhibición menor en el desarrollo, especialmente en este último del 60%.

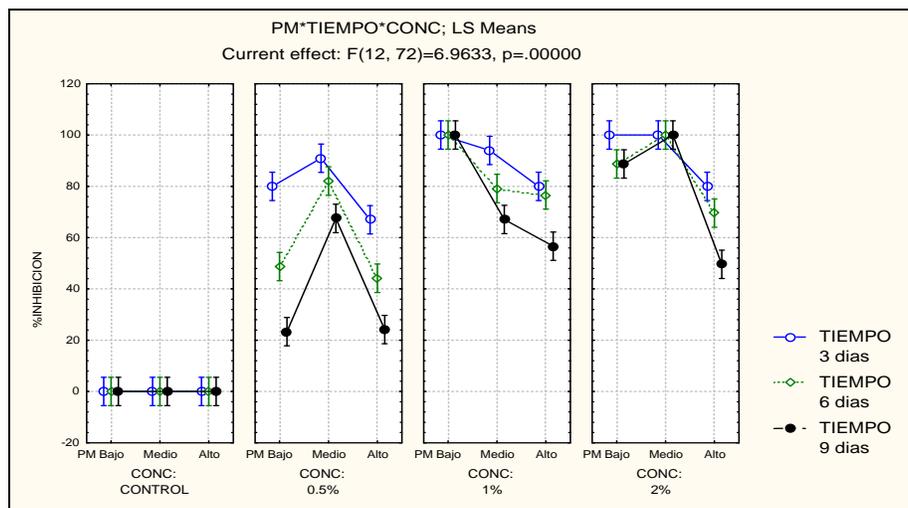


Gráfica 9. Efecto del peso molecular, tiempo y concentración de quitosán sobre el porcentaje de inhibición de *F. graminearium*.

En este estudio el quitosán resultó efectivo en la inhibición del hongo *Fusarium graminearum in vitro*, también se han reportado estudios en semillas de trigo tratadas con quitosán en donde el tratamiento con quitosán controló la infección de *F. graminearum* en semillas germinantes naturales y aumentó el vigor y la germinación de las semillas. De este modo, el quitosán demuestra tener un alto potencial para desarrollar estrategias en el tratamiento de patógenos en semillas germinantes y para reducir el riesgo de micotoxinas en los alimentos (Bhaskara y cols. 1999).

Fusarium moniliforme

En la figura 10 se observa que el quitosán aplicado en los pesos moleculares: bajo y medio en concentraciones de 1.0 y 2.0% fueron las que presentaron el mejor efecto sobre *F. moniliforme* al inhibir completamente el crecimiento de éste hongo. Mientras que la concentración de 0.5% presentó un efecto fungistático en los tres pesos moleculares.

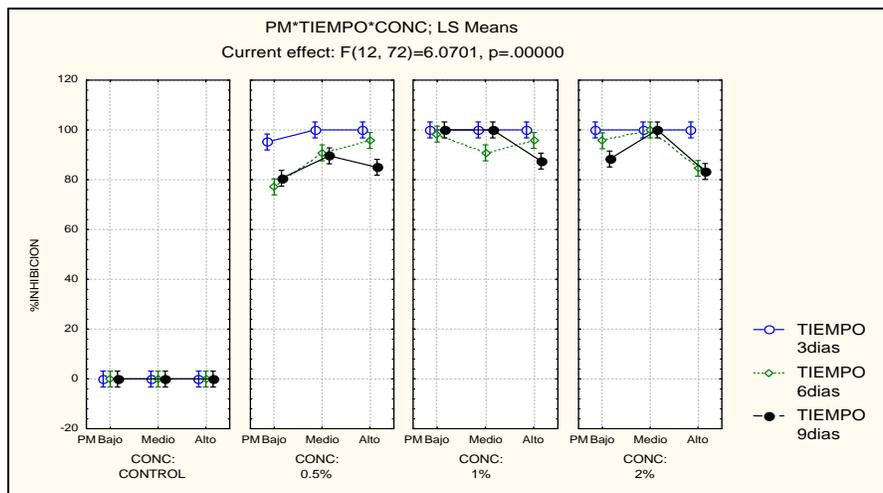


Gráfica 10. Efecto del peso molecular, tiempo y concentración de quitosán sobre el porcentaje de inhibición de *F. moniliforme*.

Como se observa en la gráfica para inhibir a éste hongo "in vitro" se requieren concentraciones de quitosán mayores de 1.0 %. Como reportan Rudrapatnam y cols. 2003, la concentración inhibitoria mínima del quitosán y sus derivados varían significativamente en diferentes cultivos bacteriales.

Helminthosporium sativum

El crecimiento radial de *Helminthosporium sativum* en los pesos moleculares bajo y medio a las concentraciones de 1.0 y 2.0% redujeron en gran medida el porcentaje de inhibición, a los 3, 6 y 9 días de su aplicación. Destacando estos pesos moleculares al alcanzar el 100% del porcentaje de inhibición a diferencia de los pesos moleculares bajo, medio y alto a la concentración de 0.5 % que presentaron un porcentaje de inhibición moderado por abajo del 100% como se observa en la gráfica 11.

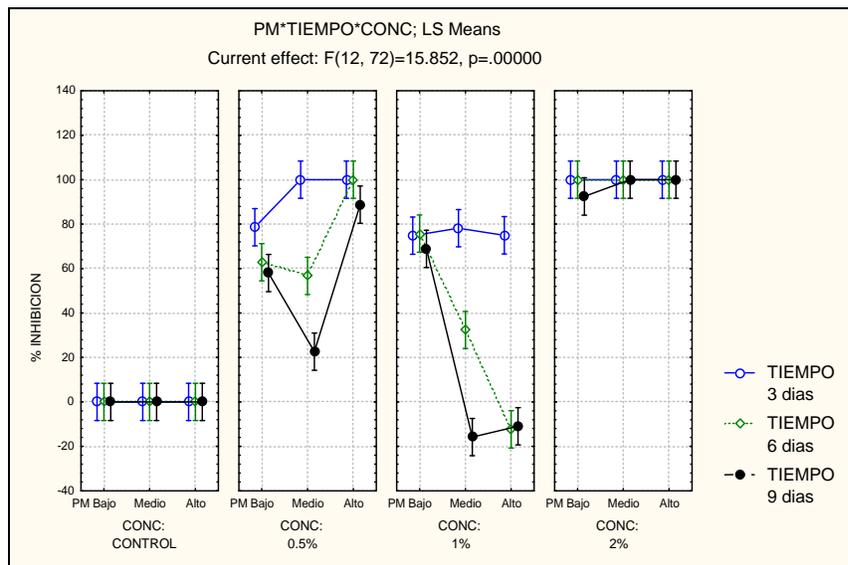


Gráfica 11. Efecto del peso molecular, tiempo y concentración de quitosán sobre el porcentaje de inhibición de *Helminthosporium sativum*.

Aspergillus amstelodami

Se observó que el quitosán aplicado en los pesos moleculares: bajo, medio y alto en la concentración de 2% presentaron mayor efecto sobre el crecimiento de éste hongo a los 3, 6 y 9 días después de su aplicación, comparado con el control lo que significa que el quitosán tiene efecto fungicida al inhibir en un 100 % el crecimiento de éste hongo.

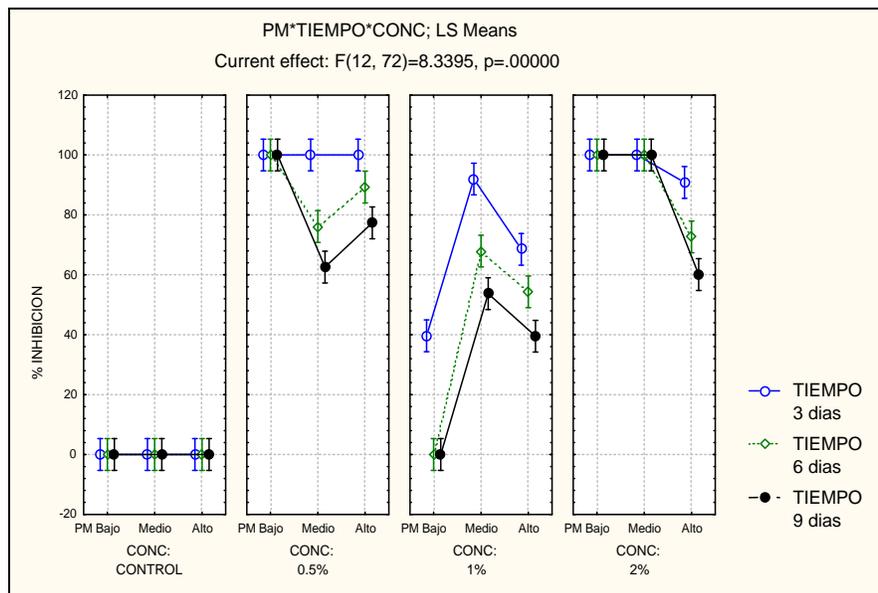
En las concentraciones de 0.5 y 1.0% el quitosán solo inhibió el crecimiento radial de *A. amstelodami* en los primeros días de aplicación, por lo que a estas concentraciones el quitosán solo mostró efecto fungistático. Estos resultados también fueron encontrados en un estudio donde se evaluó el efecto del quitosán sobre *Pythium* spp. y otros hongos patógenos *in vitro* mostrando un efecto fungistático (Arias, 1998).



Gráfica 12. Efecto del peso molecular, concentración y tiempo del quitosán sobre el porcentaje de inhibición de *A. amstelodami*.

Aspergillus flavus

En la gráfica 13 se observa el efecto del quitosán en los tres pesos moleculares: bajo, medio y alto en concentraciones de 0.5 ,1.0 y 2.0%. Los pesos moleculares bajo y medio en concentraciones de 2 % tuvieron un mayor efecto, ya que se inhibió completamente el desarrollo del hongo, comparado con el crecimiento de los controles. Respecto al peso molecular alto, se observa que conforme transcurre el tiempo el porcentaje de inhibición disminuye, por lo que a este peso molecular y a esta concentración el quitosán muestra un efecto fungistático. El análisis estadístico indicó que entre estos tratamientos si hubo diferencia significativa.



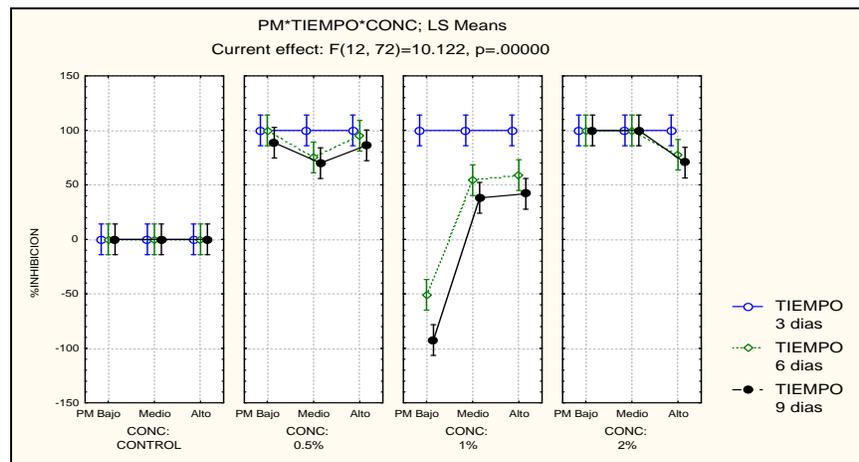
Gráfica 13. Efecto del peso molecular, tiempo y concentración de quitosán sobre el porcentaje de inhibición *A. flavus*.

En la gráfica 13 se observa que el quitosán líquido utilizado para inhibir a *Aspergillus flavus* fue efectivo a los 3, 6 y 9 días después de su aplicación. Estos resultados contrastan con la investigación realizada por Cuero, quién utilizó quitosán en polvo y hojuelas de quitosán para controlar el toxigénico *A. flavus* que crece en el maíz y el cacahuate. No hubo una inhibición inmediata del crecimiento fúngico, sin embargo, después de 4 semanas se observó una inhibición menor (Cuero, 1999).

Aspergillus candidus

En este trabajo se encontraron diferencias significativas entre los pesos moleculares y concentraciones. Al comparar el crecimiento de los controles con las soluciones de quitosán aplicados en los siguientes pesos moleculares: bajo y medio a la concentración de 2%, inhibieron a éste hongo evaluado a los 3, 6 y 9 días. Esto representó una inhibición del 100%. A ésta concentración el quitosán mostró efecto fungicida.

Respecto a las concentraciones de 0.5 y 1.0% mostraron un efecto fungistático en los tres pesos moleculares.



Gráfica 14. Efecto del peso molecular, concentración y tiempo quitosán sobre el porcentaje de inhibición de *A. candidus*.

En un estudio donde se probó la efectividad del quitosán en polvo contra las cepas de bacterias y de hongos. La quitina y el quitosán en polvo no resultaron efectivas, a diferencia de las soluciones de quitosán en ácido acético que sí lo fueron (Cuero,1999), estos resultados concuerdan con esta experimentación realizada con todos los hongos tanto de campo como de almacén, los cuales fueron inhibidos en diferentes concentraciones con quitosán líquido.

3.7 Efecto fungicida o fungistático del quitosán

El efecto del quitosán en las placas donde no se observó desarrollo de los hongos se reportaron en la siguiente tabla:

Cuadro 11. Porcentaje de inhibición en los hongos de campo y almacén

Hongo	PM (g/mol)	[%]	Efecto
F. graminearium	Bajo	0.5	Fungicida
		1	Fungicida
	Medio	0.5	Fungicida
		1	Fungicida
		2	Fungicida
F. moniliforme	Bajo	1	Fungicida
	Medio	2	Fungicida
H. sativum	Medio	1	Fungicida
	Alto	0.5	Fungistático
A. amstelodami	Bajo	2	Fungicida
	Medio	2	Fungicida
	Alto	2	Fungicida
A. flavus	Bajo	0.5	Fungistático
		2	Fungicida
	Medio	2	Fungicida
A. candidus	Bajo	2	Fungistático
	Medio	2	Fungistático
	Alto	0.5	Fungistático
		2	Fungicida

5. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

El quitosán aplicado como cubriente en maíz en dos pesos moleculares: Peso molecular bajo (52 800 g/mol) y peso molecular medio (136 130 g/mol) en concentraciones de 0.5, 1.0, 2.0, 4.0% y 0.5, 1.0, 1.5, 2.0% respectivamente, evaluados en 4 periodos de infestación en el estudio de *S. zeamais* no presentó ningún efecto insecticida sobre el desarrollo del gorgojo del maíz.

La técnica de tinción utilizada para evaluar la oviposición no resultó confiable en este estudio, debido a que se tuvo una sobreestimación en la cuantificación de las oviposturas; por lo que no se incluyó en el análisis de varianza.

El quitosán aplicado en pesos moleculares: bajo (52 800 g/mol) en concentraciones de 0.5, 1.0, 1.5, 4.0% y peso molecular medio (136 130 g/mol) en concentraciones 0.5, 1.0, 1.5, 2.0%, no tuvo efecto en la emergencia del gorgojo del maíz.

Es importante mencionar que el control de agua ácida redujo la emergencia del gorgojo comparado con el resto de las concentraciones utilizadas en este estudio.

En cuanto a la variable de pérdida de peso se observó que en el peso molecular bajo hubo un mayor aumento de peso en granos de maíz en la concentración al 4.0% de igual manera el peso molecular medio registró un aumento de peso pero en las concentraciones de 1.5 y 2.0%; estos resultados nos muestran que la concentración más alta tiende a captar más agua.

Respecto al porcentaje de grano dañado en maíz cubierto con quitosán en dos pesos moleculares, se observó que al incrementarse el periodo de infestación entre *S. zeamais* y el grano de maíz, el porcentaje de grano dañado tiende a

aumentar, ésto se observó tanto en el peso molecular bajo como en el peso molecular medio.

En los tratamientos de quitosán utilizados para el control de hongos se encontró que no hay una relación directa entre los pesos moleculares y concentraciones utilizadas con relación al porcentaje de inhibición en los hongos probados en este estudio tanto de campo como de almacén. Sin embargo, es importante señalar que los pesos moleculares bajo y medio, fueron los que presentaron una mayor actividad fungicida para controlar a las especies de *Aspergillus*, *Fusarium* y *Helminthosporium*.

De los hongos de campo probados en este estudio, las concentraciones de 0.5 y 1.0 % en los pesos moleculares: bajo (52 800 g/mol), medio (136 130 g/mol) y alto (251 500g/mol) tuvieron efecto fungicida sobre el crecimiento de *F. graminearum*, y únicamente la concentración de 2.0 % mostró éste efecto en el peso molecular medio.

El crecimiento radial de *F. moniliforme* se inhibió completamente a las concentraciones de 1.0 y 2.0% en pesos moleculares: bajo (52 800 g/mol) y medio (136 130 g/mol) respectivamente, demostrando que el quitosán a éstas concentraciones tiene efecto fungicida. Respecto a la concentración de 0.5% se observó efecto fungistático en los pesos moleculares: bajo, medio y alto.

Las concentraciones que tuvieron mayor efecto sobre el crecimiento radial de *H. sativum* fueron las concentraciones de 1.0 y 2.0 % en pesos moleculares: bajo (52 800 g/mol) y medio (136 130 g/mol) donde se observó un efecto fungicida, ya que inhibieron el 100 % de éste hongo. Con relación a la concentración de 0.5% ésta concentración mostró efecto fungistático al inhibir parcialmente el crecimiento de *H. Sativum* en los tres pesos moleculares.

Respecto a los hongos de almacén utilizados en este estudio *A. amstelodami* presentó mayor sensibilidad a los tratamientos de quitosán aplicados en los pesos moleculares medio y alto en la concentración de 2.0% ya que inhibió completamente el crecimiento de este hongo, por lo que se concluye que el quitosán aplicado en estos pesos moleculares para esta especie tiene efecto fungicida.

El quitosán utilizado en pesos moleculares: bajo y medio aplicados en concentraciones de 0.5% y 2.0% resultaron ser los mejores tratamientos para la inhibición del hongo *A. flavus*, causando una reducción hasta del 100% en el crecimiento radial de la colonia, lo que muestra que el quitosán tienen efecto fungicida bajo estas condiciones. Mientras que la concentración de 1.0 mostró un efecto fungistático en los pesos moleculares: bajo, medio y alto.

Los pesos moleculares bajo y medio aplicados a la concentración de 2.0% causaron una inhibición del 100% mostrando efecto fungicida sobre *A. candidus*, mientras que las concentraciones de 0.5 y 1.0 % tuvieron efecto fungistático en los tres pesos moleculares.

En general, se puede decir que los pesos moleculares de bajo y medio causaron el mejor efecto fungicida a la concentración de 2.0% ya que a la mayoría de los hongos en este estudio les afectó su crecimiento al inhibirlos en un 100%.

6. RECOMENDACIONES

RECOMENDACIONES

Se recomienda abrir otras líneas de investigación alrededor del quitosán producto de origen natural ,ya que como esta aplicación pueden existir otras alternativas que pueden ayudar al control de hongos que atacan a los granos durante su desarrollo en el campo como en el almacén, las cuales sean inocuas tanto para el hombre, animales, así como para el ambiente. Además, es importante señalar que la información generada en este estudio *in vitro* se puede considerar en próximas investigaciones y utilizar los pesos moleculares y las concentraciones probadas, las cuales presentaron una mejor actividad antifúngica. Debido a que éstos resultados obtenidos en el trabajo podrían ser una alternativa para su uso *in vivo*.

El avance de resultados en los estudios realizados en esta tesis representa una opción viable para el combate de enfermedades o infestación de otras plagas que afectan al maíz por ésto se propone utilizar el quitosán como prevención o control. Ya que los agroquímicos sintéticos han sido efectivos para controlar microorganismos fitopatógenos y plagas, sin embargo, a pesar de ser efectivos, su uso continuo ha ocasionado resistencia, así como problemas ambientales y de salud humana. Por esta razón, existe una clara necesidad de desarrollar nuevas alternativas como el quitosán, para enfrentar plagas y enfermedades de gran importancia económica.

REFERENCIAS CONSULTADAS

- 1.- Abarca, L., Bragulat, R., Castellá, G., A. F. y Cabañes, F. J. 2000. Hongos productores de micotoxinas emergentes. Revista Iberoamericana de Micología. 17,63-68p.
- 2.- Abasto y Comercialización de Productos Básicos. 1988. Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática.
- 3.- Abasickong, F. S. 1988.Effect of insect culture on the nutrient composition of grain maize. Bioresource technology. 66, 59-61p.
- 4.- Agrios N. G. 1995. Fitopatología. Segunda edición. Noriega Editores. México. 273-276p.
- 5.- Aplabaza, H.1994.Introducción a la entomología general y agrícola.Ediciones Universidad Católica de Chile.90 p.
- 6.- Arias, B. D., C., McGee y Burris, S.J.1988. Evaluación del potencial de polímeros como agentes envoltantes de fungicidas en el tratamiento de semillas de maíz para el control de pythium Spp. Agronomía tropical 48,471-488p.
- 7.- Becerra, S. S., 2001. Envase y embalaje de alimentos: Bioenvase y películas comestibles de quitosán en tomate (*Lycopersicon esculentum* mill). Tesis de Licenciatura. México.
- 8.- Bhaskara, V.B., Arul, J., Angers, P., y Couture, L.1999.Chitosán treatment of wheat seeds induces resistance to *Fusarium graminearum* and Improves seed Quality. J. Agric. Food Chem. 47, 1208-1216p.
- 9.- Bullermann, LI.B.2001. *Fusarium*.Guide to Food Bourne Pathogens. Ed. Wiley-Interscience. Toronto EUA. 87p.
- 10.- Carrillo, L. *Aspergillus*. Los hongos de los alimentos y Forrajes.44-60 p.
- 11.- Carrilo, Leonor. 2003. Micotoxinas. Microbiología Agrícola. 6,1-7p.
- 12.- Company, LI.M.1984. El maíz su cultivo y aprovechamiento. Ediciones Mundi-Prensa. España.Cap. 4,63 p.

- 13.- Coronado, M. 1999. Introducción a la Entomología, Morfología y Taxonomía de los insectos. Noriega Editores. México. 56p.
- 14.- Cuero, G.R.1999. Antimicrobial Action of Exogenous Chitosan. Chitin and Chitinases, R.A.A. Muzzarelli ed. 315-322.
- 15.- Domínguez.1995. Plagas y Enfermedades de las plantas Cultivadas. Sexta edición. Ed. Dossat., Barcelona, España. 53, 279p.
- 16.- Davidson. 1992. Plagas de insectos. Noriega Editores. México. 105 p.
- 17.- Desarrollo y Control de Enfermedades de las Plantas.1980. National Academy of sciences. Consejo Nacional de Investigación. Vol. 1. Ed. Limusa. México, 7-15p.
- 18.- Debach. 1990. Control Biológico de las plagas de insectos. Editorial CECSA. Caracas, Venezuela. 115 p.
- 19.- Deepak, B., Santos, G., 2001. Aspergillus. Guide to Food Bourne Pathogens. Ed. Wiley-Interscience. Toronto EUA.35 p.
- 20.- Hayes, EE.R., Davies, D. H. 1978. Charaterizacion of chitosan I: Thermorreversible chitosan gels, Chitin, In Proc. First Interna. Conf. Chitin and Chitosan, Muzzarelli, R. A. A. and Priser J. (Eds.), MIT Sea Grant Report, 193-198.
- 21.- Lubin David. El maíz en la nutrición humana. 1993. Alimentación y Nutrición No 25. FAO. Roma, Italia. 1-5 p.
- 22.- Fernández, M. C., Heinämäki, J., Krogars, K., Jörgensen, C. A., Karjalainen, M., I raizoz, A. y Yliruusi, J. 2004. Solid-State and Mechanical Properties of Aqueous Chitosan-Amylose Starch Films Plasticized With Polyols. *AAPS PharmSciTech*. 5(1)15p.
- 23.- Filar, L. J., Wirick, G., 1978. Bulk and solution propoeties of chitosan. In Proc. First Interna. Conf. Chitin and Chitosan, Muzzarelli, R.A. A. and Priser J. (Eds.), MIT Sea Grant Report, 169-181.
- 24.- Fusariosis. Gibberella zeae.
www.zoetecnocampo.com/Documentos/fusarium/fusarium.htm
- 25.- Gálvez, V. Ma. del Carmen.2001. El quitosán como agente de inhibición micótica en patógenos de pepino. Tesis de licenciatura. México.

- 26.- Genel, M.1986.Almacenamiento y conservación de granos y semillas. Editorial C.E.C.S.A. México. 52 p.
- 27.- González, A.U. 1995. El maíz y su conservación. Editorial Trillas, México.177-181,218 p.
- 28.- Granados, G. R.2001. El maíz en los Trópicos. FAO.
- 29.- Gudrups, I., Floyd, S., King, G.Jennifer, B.P., A. N.2001. A comparison of two methods of assessment of maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky, and the influence of kernel hardness and size on susceptibility. *Journal of Stored Products Research*. 37, 287-302p.
- 30.- Hadwinger, L.A., Chiang, C.C., Victor, S.,Horovitz, D. 1989. The molecular biology of chitosan in plant pathogen interaction and its application in agriculture. In *Chitin and chitosan*, Skjak-Braek, G. Anthonsen, T.,Sandford, P.,Eds.Elsevier Applied science, London U.K., 119-138.
- 31.- Hall, D.W. 1981. FAO. Cuadernos de fomento agropecuario. Manipulación y almacenamiento de granos alimenticios en las zonas tropicales y subtropicales. ONU. Roma. 54, 55, 69, 70 p.
- 32.- Hosene, R.C., Faubion, J.M.1992.Physical Properties of cereal grains. Storage of cereal grains and their products.Cuarta edición. Ed. St. Paul Editorial American Association of cereal chemist. Inc. Cap. 1,1-20 p.
- 33.- Iteleji, K.E., Maiev, D.E., Woobshuk, C.P.2004.Maize weevil, *Sitophilus zeamais* (*Motschulsky*) adult survival, reproduction and control in stored com under three temperature management strategies.International Quality Grains Conference Proceedings.
- 34.- Inbar, M., Doostdar, H., y Sonoda, R.1998. Elicitors of plant defensive systems reduce insect densities and disease incidence. *J. of Chemical Ecology*. 24(1)135-149p.
- 35.- Jauch. 1985. Patología Vegetal. Editorial El ateneo Buenos Aires. Argentina. 80p.
- 36.- Jugenheimer, W. R. 1981. Variedades Mejoradas. Métodos de Cultivos y Producción de Semilla. Editorial Limusa México. 620-623p.
- 37.- Koenning, S., Payne G.1999. Micotoxins in corn.Plant Pathology Extension. College of Agriculture, Food and Natural Resources. North Carolina.

- 38.- Las plagas de los productos alimenticios almacenados en la región de OIRSA.
www.oirsa.org
- 39.- Leuba, J.L., Stossel, P. 1986. Chitosan and other polyamines: Antifungal activity and interaction with biological membranes. In chitin in Nature and Technology, Muzzarelli, R., Jeauniux, C., Goody, G.W., Eds.; Plenum Press: New York, 215-222p.
- 40.- Lienart, Y., Driguez, H. y Domard, A.1989. Chitosan as elicitor of β -D-Glycanases from *Rubus* cells. Chitin and Chitosan., Skjaj-Brak G., Anthonsen T., Sandford P., Eds., Elsevier Applied Science, London U.K.,225-233.
- 41.- Lindbland, C.1976. Almacenamiento del grano Editorial Concepto S.A. México. 7, 13p.
- 42.- Luna, M. M. 2004. Actividad insecticida e insectistática de quitosán y derivados sobre *sitophilus zeamais* Motschulsky (coleoptera: curculionidae). Tesis de licenciatura. Universidad de Concepcion Chile. 70-71p.
- 43.- Maíz en Grano. 1993. Especificaciones y métodos de análisis. 182, 1-9p.
- 44.- Majeti, N.V., Ravi K. 2000. Review of chitin and chitosan applications. Reactive and functional Polymers 46,1-27p.
- 45.- Manual de manejo poscosecha de granos a nivel rural-Aireación de los granos.
www.fao.org/docrep/x50275/x502750l.htm#Manejo de la aireación
- 46.- Mendoza, Z.C.1993. Diagnóstico de Enfermedades Fungosas. Universidad Autónoma Chapingo. Taller editorial del Departamento de Parasitología Agrícola. México. 50-53 p.
- 47.- Microorganismos. Su importancia y Control.
www.programapostcosecha.htm
- 48.- Moreno, M. E. 1976. Contaminación por hongos en granos almacenados México Editorial Pax México. 32-54 p.
- 49.- Moreno, M. E. 1988. Manual para la Identificación de hongos en granos y sus derivados, México. 9-40p.
- 50.- Moreno, M.E., Rivera, A., Badilo, M.A. 1998. Effect of fungi and fungicides on the preservation of wheat seed stored with high and low moisture content. J. Stored Prod. 34(4)231-236p.

- 51.- Morales, Z.J., Salazar R.A. 2001. Norma. Estimación del efecto antifúngico de una película de quitosán sobre los polímeros de calidad y grado de madurez de la fresa Fragaria vesca variedad solana durante la vida útil. Tesis de Licenciatura. México. 46p.
- 52.- Muzzarelli R. A.A. 1974. Chitin. Oxford: Pergamon Press. 12p.
- 53.- Ouakfaoni, S.E., Asselin, A. 1992. Diversity of chitosanase activity in cucumber. Plant Science. 85,33-41p.
- 54.- Paliwal, L. 2001. El Maíz en los trópicos. Grupo de cultivos Alimentarios Extensivos.
- 55.- Pedersen, R.J.1992. Insects: Identification damage and detection storage of cereal grains and their products. Cuarta edición. St. Paul, Editorial American Association of cereal Chemists. Inc. Cap. 12,435-441p.
- 56.- Pedroza, A. 1991. Departamento de Zonas Áridas. Compendio de las principales plagas que atacan a los cultivos en México Chapingo, México. 399, 414, 419, 420p.
- 57.- Principales factores condicionantes para el desarrollo de los hongos y la producción de micotoxinas.
www.engrmix.com/s_articles_view.asp?art=365&AREA=MYC
- 58.- Ramayo. 1993. Tecnología de los granos. Universidad Autónoma Chapingo. Industrias Agrícolas. México. 42p.
- 59.- Ramírez. 1992. Almacenamiento y Conservación de granos y semillas. Cía. Editorial Continental. México. 35p.
- 60.- Real, N.M. 2001. Plaguicidas en alimentos. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. 15p.
- 61.- Reetarani, S.P., Vandana G., y Mukund V. D. 2000. Chitinolytic enzymes: an exploration. Enzyme and Microbial Technology. 26,473-483p.
- 62.- Rinaudo, M., Domard, A. 1989. Solution properties of chitosan. Chitin and Chitosan., Skjaj-Brak G., Anthonsen T., Sandford P., Eds., Elsevier Applied Science, London U.K., 71-87p.

- 63.- Robles, R. 1992. Producción de granos y forrajes. Editorial Limusa. Cuarta edición. México. 80-89p.
- 64.- Rudrapatnam, N., Tharanathan, Farooqahmed S. Kittur. 2003. Chitin. The undisputed biomolecule of great potencial, Critical reviews in food science and nutrition. 43(1), 61-87p.
- 65.- Ruiz, H., J.1978. The distribution and cuantitative importance of chitin in fungi. In Proc. First Interna. Conf. Chitin and Chitosan, Muzzarelli, R.A. A. and Priser J. (Eds.), MIT Sea Grant Report . 11-21p.
- 66.- Salunke, D.K., Chavan J.K., Kadam S.S.1985. Postharvest Biotechnology of cereals, Florida. Cap. 6, 93-96p.
- 67.- Sandford, P.A. 1989. Chitosan: Commercial Uses and Potencial Applications. Chitin and Chitosan., Skjaj-Brak G., Anthonsen T., Sandford P., Eds., Elsevier Applied Science, London U.K., 51-69p.
- 68.- Sauer, D.B., Meronuck, R.A., Cristensen, C.M. 1992. Microflora. Storage of cereal grains and their products. Cuarta edición. St. Paul, Editorial American Association of cereal Chemists. Inc. Cap. 9,339p.
- 69.- Secado de granos.
www.tecnopoint.com/es/biblioteca/industrias/alimentos/granos/secado_de_granos.html
- 70.- Silva, G.L., Orrego, O., Hepp, R. y Tapia, M.2005. Búsqueda de plantas con propiedades insecticidas para el control de *Sitophilus zeamais* en maíz almacenado. Pesq. agropec. Bras. Brasilia, 40(1),11-17p.
- 71.- Situación Actual y perspectiva del maíz 1990-2004. Centro de Estadística Agropecuaria.
- 72.- Smith, D.R. y White, D.G. 1988. Diseases of corn In G.F. Sprague and J. W. Dudley, eds. Corn and corn improvement, Tercera edición. Madison, WI, USA. American Society of Agronomy.
- 73.- Somashekar, D. y Joseph R. 1996. Chitosanases-Properties and applications: a review. Bioresource Technology. 55,35-45p.
- 74.- Struszczyh, H., Pospieszny, H. y Kotlinski, S. 1989. Some new applications of chitosan in agriculture. Chitin and Chitosan., Skjaj-Brak G., Anthonsen T., Sandford P., Eds., Elsevier Applied Science, London U.K., 733-743p.

- 75.- Takai, M., Shimizu.1989. Physical Properties of chitin sheet from loligo pen. Chitin and Chitosan., Skjaj-Brak G., Anthonen T., Sandford P., Eds., Elsevier Applied Science, London U.K., 475-479p.
- 76.- Teich, H.A.1989.Epidemiology of corn (*Zea mays L.*) ear rot caused by *Fusarium* spp. *Fusarium* mycotoxins. Taxonomy and Pathogenicity Ed. Elsevier Netherlands. 19, 319-328p.
- 77.- Tequida, M.M., Cortez, R.M., Burgus, R., López, S.S., Carina E., Corrales, M.C. 2002. Efectos de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus Níger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*. Revista iberoam. Micol. 19,84-88p.
- 78.- Trejo, V., Aragón, N., y Miranda, P. 2001. Estimación de la permeabilidad al vapor de agua en películas a base de quitosán. Revista de la Sociedad Química de México, 45(1), 1-5p.
- 79.- Vázquez, A.M. 2001. Avance y Perspectiva, Vol. 20p.
- 80.- Vega, V.D., Ramírez, M. 2004. Situación y Perspectivas del Maíz en México. Universidad Autónoma Chapingo. México.
- 81.- Velázquez, L.2003.Algunos usos del quitosán en sistemas acuosos. Revista Iberoamericana de Polímeros. Universidad de los Andes, Facultad de Ciencias. Vol. 4(2), 91-96p.
- 82.- Warham, E.J., Butler, L.D. Sutton B.C. Ensayos para la semilla de maíz y de trigo. CIMMYT.
- 83.- Walton, V.E., Hat M.O.1962. Cosechas Productivas Compañía Editorial Continental, S.A. México. 251-257p.
- 84.- Wainwright, M. 1995. Introducción a la Biotecnología de los hongos. Ed. Acribia España. 16p.
- 85.- Wilson, D.M. y Abramson, D.Mycotoxins. Storage of cereal grains and their products. Cuarta edición. St. Paul, Editorial American Association of cereal Chemists. Inc. Cap. 10,432p.
- 86.- Wu, A.C., M., B.W.1978. A study of the variables in the quitosán manufacturing process in relation to molecular weight distribution, chemical characteristics and waste treatment effectiveness. In Proc. First Interna. Conf.

Chitin and Chitosan, Muzzarelli, R.A. A. and Priser J. (Eds.), MIT Sea Grant Report. 88-102p.

- 87.- Wang, S.L., Hwang, J.R.2001.Microbial reclamation of shellfish wastes for the production of chitinases.Enzyme and Microbial Technology.28,376-382.
- 88.- Zavaleta, M.E. 1999. Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas. Terra. 17(3), 201-207p.
- 89.- Zillinsky, J.F. Guía para la Identificación de enfermedades en cereales de grano pequeño. Centro Internacional de Mejoramiento de maíz y Trigo. CIMMYT, México. 61-64p.