



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

RELACIÓN ENTRE LA PARED CELULAR DE LA TESTA
DE DIFERENTES VARIEDADES DEL FRIJOL (*Phaseolus
vulgaris L.*) Y LA SENSIBILIDAD A *Zabrotes subfaciatus*
(*Boheman*)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

VIRIDIANA MORENO RAMOS

ASESOR: M. en C. ENRIQUE MARTINEZ MANRIQUE

CUAUTILÁN IZCALLI, EDO. DE MEX.

2008



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.

*Caminante son tus huellas el camino y nada más,
Caminante no hay camino se hace camino al andar,
Al andar se hace camino y al volver la vista atrás se ve senda
que nunca se ha de volver a pisar,
Caminante no hay camino sino estelas en la mar*

Joan Manuel Serrat

*Hay hombres que luchan un día y son buenos,
Hay otros que luchan un año y son mejores,
Hay quienes luchan muchos años y son muy buenos,
Pero hay quienes luchan toda la vida esos son los
imprescindibles.*

Beltror Brich

Agradecimientos y Dedicatorias

A Dios Nuestro señor

Por darme la vida por darme una familia tan maravillosa llena de amor entusiasmo por enseñarme a ser una persona sabia maravillosa y entusiasta por estar conmigo en las buenos y malos momentos de la vida por enseñarme a amar y amar mi carrera que valorare mucho por el esfuerzo que me acostado gracias.

A mis Padres Fidelia y Juan

Por darme la oportunidad de poder llegar a ser una profesionista para poder enfrentarme a la vida lo cual fue logrado a base de esfuerzos; por darme su cariño y depositar su confianza en mí y por ver una vez más su sueño anhelado hecho realidad. En verdad mil gracias por su apoyo y por compartir conmigo mis triunfos así como los momentos difíciles por los que he pasado y por su gran comprensión cuando emprendí mi vuelo de separarme de ustedes y de sacrificarlos por nueve años pero fue por ser alguien mejor en la vida lo cual trajo un fruto. No existen palabras para agradecerles todo lo que hicieron por mí. ¡Mil gracias por todo los quiero mucho y siempre los llevo en mi corazón!

A mis hermanos Iliana y Juan Francisco

Por confiar en mi en que lo podía lograr, por darme su amistad, su cariño y su comprensión de haberme separado de ustedes estando siempre al pendiente de todo lo me pasaba y aunque pensamos de diferente manera siempre hemos estado juntos gracias los quiero mucho.

A mis sobrinos Yunuen Iliana, Zarath Mitchel, Mia Allelen y Luis Angel

Con su ternura amor y cariño me enseñando a cumplir mis metas establecida con un visión mas amplia llena de bondad y esperando que sigan mis pasos al verlos algún día cumpliendo sus metas y verlos como lo que hoy soy una profesionista. la oportunidad de conocerlos

A mi novio Guillermo Francisco

Gracias por dejarme conocerte y compartir conmigo este momento de mi vida tan importante, por apoyarme, darme tu cariño y amor, confianza y por esa gran comprensión que tuviste durante el desarrollo mi trabajo de tesis, y por haber dado un giro tan importante a mi vida te amo y mil gracias por todo.

A la familia Galván Ramírez

Gracias por dejarme conocerlos y por su apoyo brindado abriéndome las puertas de su casa, por los consejos brindados, por su confianza y por estar al pendiente de mi siempre. Siempre los he considerado parte de mi familia y quiero compartir con ustedes un triunfo más los quiero mucho. Siempre les estaré agradecida por todo lo que hicieron por mí.

A la familia Ibarra Vázquez

Por su apoyo incondicional al darme consejos enseñarme que la vida no es fácil que siempre se necesita de una mano amiga de el cariño de cada uno de los integrantes de la familia que me han apoyado a ser yo misma la mujer profesionista que ahora veo realizado mi sueño gracias de todo corazón.

A M en C. Enrique Martínez Manrique

Por permitirme formar parte del equipo de trabajo dándome su confianza. Por su apoyo y por permitirme seguir aprendiendo cada día algo nuevo.

A mis mejores Amigos Karina Huerta Hernández, a la Ing. Claudia A. Cabrera Arriaga, Francisco Chaparro, Adriana Cruz, Porfirio Vidal, Carmen Montiel, Rosalba y Mónica Acevedo:

Por darme la oportunidad de conocerlos, además de brindarme su amistad durante todo este tiempo estando siempre en las buenas y malas conmigo apoyándome siempre y por confiar en mí. Son una parte importante para el desarrollo de mi tesis y gracias por regalarme un rato de su tiempo.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Bioquímica y Fisiología de Granos y Semillas del CAT-C3

Que contribuyeron a la realización de este proyecto de tesis: Emilio Sánchez C., Rebeca Ramos, D. Karina Jiménez, Selina López A., José L. Cadena C., Gualberto Beltrán y Oscar Moreno. A todos gracias por su apoyo y comprensión.

A todos los integrantes de Unidad de Investigación de Granos y Semillas del CAT-C3, especialmente a MM Gabriela Sánchez H., MC Ma. Cristina Pérez R. y MM Josefina Moreno L. Por su apoyo brindado, su comprensión y sobre todo lo más importante su amistad, además de los consejos que siempre me dieron para que no desistiera de este logro mil gracias las aprecio demasiado. A la querida Laura Ancheita Trujillo por su ayuda brindada durante todo este tiempo, así como su dedicación y tiempo prestado, además de su confianza y de su amistad incondicional. Mil gracias a todas.

A la Doctora Bernal

Por permitirme hacer uso del equipo del HPLC para la determinación de azúcares para la culminación de este trabajo y a las compañeras del L-104 del conjunto E de la Facultad de Química.

A los sinodales

Por su tiempo tan valioso dedicado a la revisión de este trabajo.

ÍNDICE

	Página
Índice de figuras	iii.
Índice de tablas	iv.
Resumen	1
Introducción	2
Justificación	3
1. Antecedentes	
1.1. Orígenes de frijol.....	5
1.2. Características estructurales del frijol.....	6
1.3. Aporte Nutricional.....	8
1.4. Producción del frijol en México.....	12
1.5. Comercialización del frijol.....	14
1.6. Deterioro del frijol en Almacén.....	15
1.7. Insectos.....	16
1.8. Resistencia del frijol a <i>Zabrotes Subfaciatus</i> (Boheman).....	21
1.9. Pared Celular.....	23
1.9.1. Polisacáridos de la pared celular.....	26
1.9.2. Interacciones entre los componentes de la pared celular.....	28
1.9.3. Métodos para la evaluación de pared celular.....	29
2. Objetivos	
3. Materiales y Métodos	
3.1. Cuadro metodológico.....	32
3.2. Material Biológico.....	33
3.3.1. Preparación de la muestra.....	33
3.3.2. Obtención del Residuo Insoluble del Alcohol.....	33
3.3.3. Obtención de las diferentes fracciones de la pared celular.....	33
3.3.4. Cuantificación de los azúcares totales.....	36
3.3.5. Cuantificación de ácido galacturónico.....	36
3.4.1. Cuantificación de azúcares neutros por cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC).....	37

3.4.1.1. Hidrólisis de la muestra.....	37
3.4.1.2. Purificación de la muestra.....	38
3.5. Método estadístico.....	38
4. Resultados y Discusión.....	39
5. Conclusiones.....	51
6. Recomendaciones.....	52
7. Bibliografía.....	53

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Corte longitudinal que muestra la estructura de la semilla del frijol.....	8
Figura 2. Sistema de comercialización del frijol.....	15
Figura 3. Daño total de los granos por causa de los insectos.....	17
Figura 4. Insecto <i>Zabrotes subfasciatus</i> hembra.....	19
Figura 5. Modelo de la pared celular primaria y de la pared celular secundaria.....	24
Figura 6. Estructura de la glucosa.....	26
Figura 7. Estructura de xiloglucanos.....	27
Figura 8. Estructura de Homogalacturonano y Rhamnogalacturonano I.....	28
Figura 9. Extracción de la pared celular.....	33
Figura 10. Espectrofotómetro para azúcares y ácido galacturónico.....	37
Figura 11. Composición de azúcares neutros y ácido galacturónico de las fracciones insolubles de CDTA 2 hrs + CDTA 19 hrs obtenidas de la PC de testa de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo (FM) y Mayocoba (MC) y susceptibles Negro Jamapa (NJ) y Bayo (B) a <i>Zabrotes subfasciatus</i> (<i>Boheman</i>).....	48
Figura 12. Composición de azúcares neutros y ácido galacturónico de las fracciones insolubles de CDTA 2 hrs + KOH 1% obtenidas de la PC de testa de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo (FM) y Mayocoba (MC) y susceptibles Negro Jamapa (NJ) y Bayo (B) a <i>Zabrotes subfasciatus</i> (<i>Boheman</i>).....	49
Figura 13. Composición de azúcares neutros y ácido galacturónico de las fracciones insolubles de KOH 5% + KOH 20% obtenidas de la PC de testa de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo (FM) y Mayocoba (MC) y susceptibles Negro Jamapa (NJ) y Bayo (B) a <i>Zabrotes subfasciatus</i> (<i>Boheman</i>).....	50

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Clasificación taxonómica del frijol.....	6
Tabla 2. Funciones más importantes de la testa del frijol.....	7
Tabla 3. Composición química promedio del frijol común (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>).....	8
Tabla 4. Composición química de diferentes variedades del frijol.....	9
Tabla 5. Perfil de aminoácidos del frijol y otros granos (mg/100 mg de alimento).....	11
Tabla 6. Producción nacional de frijol hasta agosto 2007.....	12
Tabla 7. Principales estados productores de frijol en ciclo otoño-invierno 2007-2007...	13
Tabla 8. Principales estados productores de frijol en el ciclo primavera-verano 2007-2007.....	13
Tabla 9. Condiciones de la plaga <i>Zabrotes Subfasciatus</i> (<i>Boheman</i>) en grano de almacenamiento.....	20
Tabla 10. Comparación de las medias de las diferentes fracciones de pared celular obtenidas de la testa de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo-Mayocoba y susceptibles Negro Jamapa-Bayo a <i>Zabrotes subfasciatus</i> (<i>Boheman</i>).....	39
Tabla 11. Comparación de las medias de las fracciones de Pared Celular obtenidas de la testa de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo-Mayocoba y susceptibles Negro Jamapa-Bayo a <i>Zabrotes subfasciatus</i> (<i>Boheman</i>) agrupadas por su fuerza de extracción.....	40
Tabla 12. Composición de las medias de las fracciones obtenidas de la testa de Pared Celular de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo-Mayocoba (<i>Boheman</i>) y susceptibles Negro Jamapa-Bayo a <i>Zabrotes subfasciatus</i> (<i>Boheman</i>) agrupadas por su fuerza de extracción.....	42
Tabla 13. Relación de azúcares neutros y ácido galacturónico de las medias de la composición de las fracciones obtenidas de la testa de Pared Celular de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo-Mayocoba y susceptibles Negro Jamapa-Bayo a <i>Zabrotes subfasciatus</i> (<i>Boheman</i>) grupadas por su fuerza de extracción.....	42

Tabla 14. Comparación de las medias de las diferentes fracciones insolubles de Pared Celular obtenidas de la testa de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo-Mayocoba y susceptibles Negro Jamapa-Bayo a <i>Zabrotes subfasciatus</i> (Boheman).....	44
Tabla 15. Comparación de las medias de las fracciones insolubles obtenidas de la testa de Pared Celular de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo-Mayocoba y susceptibles Negro Jamapa-Bayo a <i>Zabrotes subfasciatus</i> (Boheman) agrupadas por su fuerza de extracción.....	44
Tabla 16. Porcentaje de recuperación de las medias de las diferentes fracciones solubles cuantificadas químicamente después de precipitarlas con etanol al 85% obtenidas de la testa de Pared Celular de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo-Mayocoba y susceptibles Negro Jamapa-Bayo a <i>Zabrotes subfasciatus</i> (Boheman) agrupadas por su fuerza de extracción.....	45
Tabla 17. Composición de las medias de las fracciones insolubles obtenidas de la testa de Pared Celular de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo-Mayocoba y susceptibles Negro Jamapa-Bayo a <i>Zabrotes subfasciatus</i> (Boheman) agrupadas por su fuerza de extracción.....	46
Tabla 18. Relación de azúcares neutros y ácido galacturónico de las medias de la composición de las fracciones insolubles obtenidas de la testa de Pared Celular de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo-Mayocoba y susceptibles Negro Jamapa-Bayo a <i>Zabrotes subfasciatus</i> (Boheman) agrupadas por su fuerza de extracción.....	47

RESUMEN

El frijol es una leguminosa altamente consumida por la población, principalmente en el área rural de México, y es una fuente de proteínas, minerales y vitaminas.

Un problema importante en almacenamiento de granos es la infestación de insectos. El principal insecto que causa pérdidas al frijol almacenado en México es el gorgojo pinto *Zabrotes subfasciatus* (Boheman). La cubierta externa de las semillas es importante en la protección de estas contra el ataque del brúquido y su dureza esta relacionada a la solubilización de los polisacáridos de la pared celular y por lo tanto a su estructura y composición química. Es por eso que el objetivo de este trabajo fue, evaluar si existe relación entre la interacción química de la pared celular de la testa de diferentes variedades de frijol y la resistencia al ataque del gorgojo del frijol *Zabrotes subfasciatus*. Para conseguir este objetivo, se utilizaron cuatro variedades de frijol comercial; dos de ellas tolerantes Flor de Mayo y Mayocoba y dos susceptibles Negro Jamapa y Bayo, al ataque de *Zabrotes subfasciatus*. Se realizó la extracción de la pared celular de la testa de estos materiales y su fraccionamiento secuencial, analizando la cantidad obtenida, su composición y tipo de azúcares que contenía cada fracción. Los resultados mostraron que la facilidad de extracción de las paredes celulares en las variedades susceptibles fue mayor que en las tolerantes. Sin embargo en el Negro Jamapa fue más fácil la extracción, no así en Mayocoba fue más difícil de entre las cuatro variedades. Además, las paredes celulares de estas dos variedades, Negro Jamapa y Mayocoba, tuvieron la menor y mayor interacción química de los componentes respectivamente. Por último, se pudo decir que sí existe una relación entre la interacción química de los componentes de la pared celular de la testa de frijol Flor de Mayo, Mayocoba, Negro Jamapa, Bayo y su susceptibilidad al ataque de *Zabrotes subfasciatus*.

INTRODUCCIÓN

El frijol es una leguminosa altamente consumida por la población, específicamente en México, es una fuente principal de carbohidratos, proteínas, minerales y vitaminas (F. de León *et al*, 1989), por eso es importante mantener la calidad del grano durante su almacenamiento.

Un problema en el almacenamiento es la infestación de insectos. Las dos especies principales que causan pérdidas al frijol almacenado son el gorgojo pinto del frijol, *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) y el gorgojo pardo del frijol, *Acanthoscelides obtectus* (Say). La primera especie, representa un problema en virtud de su amplia distribución y su gran abundancia en México (Macedo *et al*, 2002). Las pérdidas producidas en el grano, son el resultado de la alimentación del insecto, así como de su acción nociva y de deterioro, lo cual propicia la invasión de microorganismos que en conjunto alteran su calidad nutrimental, sensorial y agronómica (www.inta.gob.ni)(b).

Estudios realizados en Centroamérica confirman que los insectos representan la principal causa de pérdidas en los granos básicos, contribuyendo en un 70% de pérdidas en los granos almacenados (www.inta.gob.ni)(b).

Se ha observado que la cubierta externa de las semillas juega un papel importante en la protección de estas contra el ataque de brúquidos. La resistencia de las semillas en especies de leguminosas al ataque de brúquidos es atribuida a la rugosidad y dureza de la cubierta, siendo la dureza un factor importante que influye en la frecuencia de penetración de las larvas de primer estadio, número de larvas que penetran al grano y número de ventanas de emergencia de adultos (Villaseñor *et al*, 1992).

La pared celular es una estructura que determina la dureza del tejido y está en función de su composición, es decir, depende de la abundancia de celulosa o contenido de lignina que la hacen más dura en relación al contenido de pectina y hemicelulosa. La interacción química es la fuerza o tipo de enlace con la que están unidas las diferentes fracciones de pared celular y determina su facilidad de extracción (Perez y Carpita 2006; Willats *et al*, 2001; Stolle-Smith *et al*, 1999).

El desarrollo del presente trabajo estuvo enfocado en estudiar la relación que existe entre la composición de la pared celular de la testa de dos variedades susceptibles y dos tolerantes del frijol al ataque del gorgo pinto del frijol, *Z. subfasciatus*.

JUSTIFICACIÓN

En México, el cultivo del frijol a lo largo de la historia se ha convertido no sólo en un alimento tradicional, sino también en un aspecto de identificación cultural (FAO, 1990-2000). El 68% de su producción se destina en forma directa al consumo final. (SAGARPA, 2005).

El frijol es una leguminosa altamente consumida por la población, principalmente en el área rural de Latinoamérica. Específicamente en México, tiene gran aceptabilidad y es una fuente de proteínas, minerales y vitaminas (F. de León *et al*, 1989), por lo que es importante mantener la calidad del grano durante su almacenamiento.

Un problema importante en el almacenamiento de granos es la infestación de insectos. Diversas especies de insectos atacan al frijol ya sea a la planta durante su periodo de desarrollo o al grano una vez cosechado. Las dos especies principales que causan pérdidas al frijol almacenado son *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) y *Acanthoscelides obtectus* (Say). Especialmente la primera especie, representa un grave problema en virtud de su amplia distribución y su gran abundancia en México (Macedo *et al*, 2002). Las pérdidas producidas en el grano, son el resultado de la alimentación del insecto, así como de su acción nociva y de deterioro, lo cual propicia la invasión de microorganismos que en conjunto alteran su calidad nutricional, sensorial y agronómica (www.inta.gob.ni)(b).

En nuestro país no existen datos estadísticos oficiales sobre las pérdidas poscosecha de los granos, sin embargo, se manejan datos del 30% o más (Blancas 2001). Estudios realizados en Centroamérica confirman que los insectos representan la principal causa de pérdidas en los granos básicos, contribuyendo en un 70% de pérdidas en los granos almacenados (www.inta.gob.ni)(b).

Se ha observado que la cubierta externa de las semillas juega un papel importante en la protección de éstas contra el ataque de brúquidos. Los mecanismos de defensa involucran un componente químico y uno físico; esto es la textura de la superficie y la estructura de la cubierta evitan agresiones como la penetración de las larvas de insectos (Villaseñor *et al*, 1992). La

resistencia de las semillas en especies de leguminosas al ataque de brúquidos es atribuida a la rugosidad y dureza de la cubierta, siendo la dureza un factor importante que influye en la frecuencia de penetración de las larvas de primer estadio, número de larvas que penetran al grano y número de ventanas de emergencia de adultos (Villaseñor *et al*, 1992). Pero no se ha identificado molecularmente, que determina la resistencia de la testa al ataque del insecto.

Por otra parte, se sabe que la pared celular es una estructura que determina la dureza del tejido y está en función de su composición, es decir, depende de la abundancia de celulosa o contenido de lignina que la hacen más dura en relación al contenido de pectina y hemicelulosa. Además, también depende de la interacción química, la cual influye en la mayor o menor rigidez de la pared celular. La interacción química es la fuerza o tipo de enlace con la que están unidas las diferentes fracciones de pared celular y determina su facilidad de extracción (Perez y Carpita 2006; Willats *et al*, 2001; Stolle-Smith *et al*, 1999).

Es por eso que en el presente trabajo se ha planteado como objetivo, estudiar la relación que existe entre la pared celular de la testa en diferentes variedades de frijol y la tolerancia que provoca al ataque de *Zabrotes subfasciatus*.

Pues el conocer más sobre los eventos moleculares que determinan mayor o menor resistencia al ataque de estos insectos, ayudará a disminuir las pérdidas de la calidad del frijol durante su almacenamiento y al mismo tiempo, podría evitar el uso de compuestos tóxicos y contaminantes como los insecticidas usados actualmente.

1. ANTECEDENTES

1.1. Orígenes del frijol

El nombre científico de la especie es *Phaseolus vulgaris* L. originaria de México y Centroamérica en donde se han encontrado vestigios con una antigüedad de más de 7,000 años. Se identifican dos centros de origen del frijol, uno en el altiplano Mexicano (Valle de Tehuacan, Puebla) y el otro en los Andes Sudamericanos (Perú) (Blancas, 2001).

Existen alrededor de 80 especies de frijol silvestre en el continente americano, de las cuales, sólo cuatro especies fueron domesticadas para servir como alimento y se conservan actualmente en tierras americanas (Solórzano-Vega, 1994). Estas son: *Phaseolus vulgaris* o frijol común con múltiples variedades, son originarias del Continente Americano pero ahora se cultivan ampliamente en Asia y África; *Phaseolus coccineus* o frijol ayocote (*ayecohtli*, *ayecocimatl*) esta especie es originaria de las tierras altas, tropicales y húmedas de México, Guatemala y Honduras; *Phaseolus acutifolius*, frijol tepari o escumite se originó y todavía crece de manera silvestre en México y el sudoeste de los E.E.U.U y *Phaseolus lunatus* o frijol lima originarios de Perú se consumen en todas las áreas tropicales y subtropicales (Soriano, 2006).

El frijol es una planta anual, herbácea, cultivada intensamente desde el trópico hasta las zonas templadas, no soporta heladas y su clasificación taxonómica se muestra en la tabla 1.

Algunos de sus nombres comunes son: frijol, habichuela, judía común, alubia, cholo, ayote, french bean, entre otros (Allen y Allen, 1981)

Tabla 1. Clasificación Taxonómica del frijol

Super reino	<i>Eucariota</i>
Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliofitas</i>
Clase	<i>Dicotiledóneas</i>
Subclase	<i>Rósidas</i>
Orden	<i>Fabales</i>
Familia	<i>Leguminoceae</i>
Género	<i>Phaseolus</i>
Especie	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>

Fuente: Soriano (2006)

1.2. Características estructurales del frijol.

La semilla del frijol tiene 2 estructuras, la cual se muestra en la figura 1, el embrión y la cubierta de la semilla o testa (Moreno C.P.):

a) La testa o cáscara es la estructura externa que envuelve la semilla la cual puede tener muy distintas texturas y apariencias, es dura y está formada por una capa interna y una externa de cutícula y, una o más capas de tejido grueso que sirve de protección y que puede estar constituida por hilio, que es una cicatriz ovalada que aparece en el lugar donde la semilla estaba unida al funículo (Moreno C.P.).

A un lado del hilio se localiza una abertura, el micrópilo y al otro lado se localiza un borde llamado rafe (Moreno C.P.). Las funciones más importantes de la testa se muestran en la tabla 2.

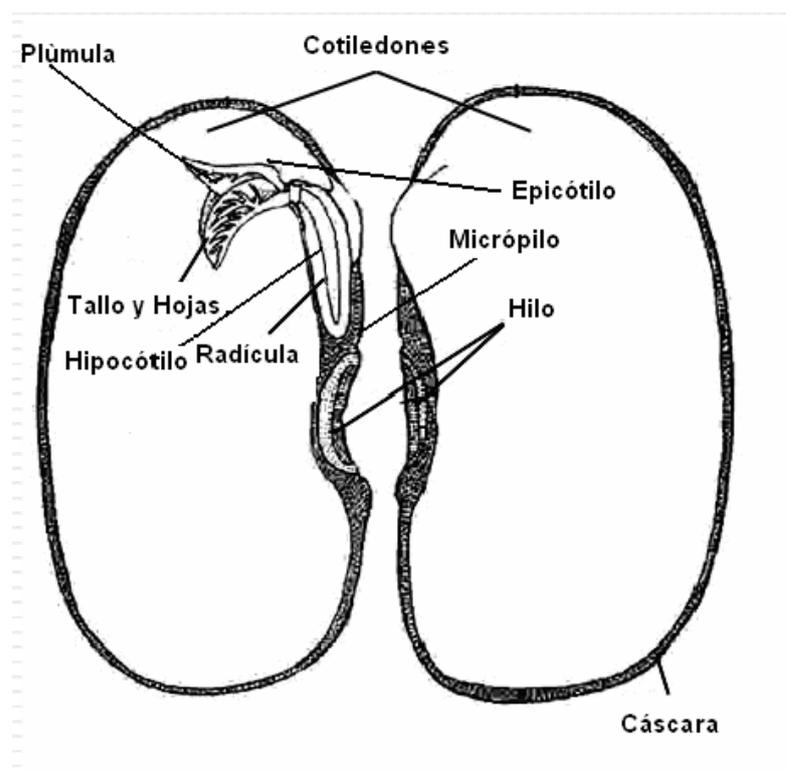
Tabla 2. Funciones más importantes de la testa de frijol

Controlar el grado de impermeabilidad de la semilla al agua y a los gases
Mantener unidas las partes internas de las semillas
Proteger las partes internas contra choques y abrasiones
Servir como barrera a la entrada de microorganismos en la semilla
Regular la velocidad de rehidratación de la semilla, evitando o disminuyendo posibles daños causados por las presiones desarrolladas durante la absorción
Regular la velocidad de los cambios gaseosos (oxígeno y gas carbónico)
Regular la germinación

FUENTE: Arias, (1993)

b) El embrión es el origen de la raíz, hojas y tallo de la nueva planta. El embrión maduro, de las plantas que tienen flores, consiste en un eje parecido a un tallo (eje embrionario) en cuyo extremo están dos cotiledones. Tiene función reproductiva con capacidad para iniciar divisiones celulares y crecer. Se trata de un eje porque inicia el crecimiento en dos direcciones: hacia las raíces y hacia el tallo. Generalmente, el eje embrionario es pequeño con respecto a las demás partes de la semilla (Moreno C.P.).

Los cotiledones, que son parte del embrión, son abultados y constituyen el 90% de la masa de la semilla, exhiben una estructura altamente organizada, contienen células parenquimatosas unidas por una pared celular distinta (Liu, 1995). Estas células contienen gránulos de almidón elípticos embebidos en una matriz proteica consistente de cuerpos proteicos esféricos y relativamente menores a los gránulos de almidón y están rodeados por una membrana lipoproteica (Moreno C.P.).



Fuente: sdnhm.org

Figura.1. Corte longitudinal que muestra la estructura de la semilla de frijol.

1.3. Aporte Nutricional

El frijol se compone mayoritariamente de carbohidratos y proteínas, además de lípidos y minerales. En la tabla 3 se muestra un promedio de su composición química.

Tabla. 3. Composición química promedio del frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*)

Nutrientes	%
Humedad	10.4
Proteínas	22.6
Lípidos	1.5
Carbohidratos	57.6
Celulosa	4.73
Minerales	3.7

Fuente: James, 1981

Entre los granos del frijol existen pequeñas diferencias en su composición, las cuales dependen de la variedad (tabla 4).

TABLA 4. Composición química de diferentes variedades de frijol.

Variedad	Frijol Mayocoba ¹	Frijol Bayo ²	Frijol Negro Jamapa ³	Frijol Flor de Mayo ⁴
Humedad	9.65	6.73	6.26	2.31
Proteína	23.41	26,16	24.41	22.16
Grasa	1.98	1,03	1.11	0.73
Carbohidratos	63.11	59.28	61.26	66.97
Cenizas	3.67	3,20	3.63	3,82

Fuente: 1,4 Vargas *et al.*, (2006); León *et al.* (1993); Mendoza *et al.*, (2002).

El frijol es un alimento con buena calidad nutrimental y representa una de las principales fuentes de proteína para amplias capas de la población mexicana (Bravo *et al.*, 1998) Por esto, la importancia de este grano en la dieta actual del país sigue siendo fundamental. Algunas características importantes de los componentes químicos del frijol se explican a continuación:

Carbohidratos: Sirven de reserva energética y constituyen la fracción principal en los granos de las leguminosas, 55 a 65% del peso seco en promedio. De ellos, el almidón es el principal constituyente, seguido de la fibra dietética y cantidades pequeñas pero significativas de oligosacáridos (Bravo *et al.*, 1998). El almidón del frijol sirve como aporte de energía y de estructuras carbonadas para síntesis posteriores en el metabolismo (González *et al.*, 2005).

Una pequeña cantidad de los monosacáridos están presentes en forma libre y el resto se encuentran como componentes de glucósidos o como unidades en varios oligosacáridos o polisacáridos. La D-glucosa, D-manosa, D-galactosa y D-fructuosa, son los monosacáridos más comunes en el frijol (Cornejo, 1993).

Las células del frijol son una importante fuente de fibra dietética. La fibra está formada principalmente por carbohidratos complejos no digeribles, como la celulosa, hemicelulosa y pectina de las células vegetales y lignina, que no es un carbohidrato. La fibra dietética ha sido definida como el conjunto de lignina y polisacáridos no hidrolizados por las enzimas endógenas del tracto digestivo de los humanos. Esta definición incluye componentes solubles e insolubles en agua. Algunos complejos proteicos, lipídicos, materiales inorgánicos, pentosas, ácidos orgánicos

(como cítrico y málico), y varios polioles (como sorbitol y xilitol), también forman parte de la fibra dietética (www.inta.gob.ni)(a).

La fibra tiene un efecto especial en la función intestinal debido a las siguientes propiedades:

- su habilidad para absorber agua e hincharse
- su capacidad de formar geles
- su facultad de intercambiar cationes
- su aptitud para absorber moléculas orgánicas (como las sales biliares) del intestino

De los azúcares libres, la mayor proporción corresponde a rafinosa, estaquiosa y verbascosa, los cuales se conocen como factores de flatulencia, debido a que el organismo humano no los asimila y son metabolizados por la flora intestinal produciendo grandes cantidades de gases, como CO₂, hidrógeno y metano en diferentes partes del tracto intestinal, además de otras sustancias volátiles malolientes como amoniaco y aminas. El remojo de los frijoles previo a su cocción reduce gradualmente estos problemas de flatulencia y aumentan la digestibilidad del grano (www.inta.gob.ni)(a).

Lípidos: Los glóbulos de grasa se encuentran insertos entre la red que forman las proteínas y los carbohidratos en cada cotiledón, encontrándose principalmente triglicéridos. Entre los ácidos grasos libres se han identificado: ácido láurico, palmítico, esteárico, siendo el palmítico el más abundante. Sin embargo, la mayor fracción la representan los triglicéridos que contienen ácidos grasos insaturados como el oleico, linoleico y linolenico ácidos grasos esenciales, los cuales le confieren al frijol una mayor calidad nutricional (Carpita y Gibeaut 1993).

Proteína: El frijol proporciona entre un 20 a 30% de proteína dependiendo de la variedad. La importancia de su proteína, no solo se debe a su cantidad sino a su calidad. Es una proteína con un alto contenido de Lisina, que es uno de los aminoácidos estratégicos en la nutrición y los niveles de esta, son superiores a la de todos los cereales, que junto con el frijol, forman parte importante de la dieta del mexicano. Aunque se ha reportado que es deficiente en metionina y cisteína por lo que se complementan perfectamente con los cereales (tabla 5).

Por lo tanto, el valor nutrimental de esta leguminosa esta determinado en gran medida por el contenido de proteína y su digestibilidad.

TABLA 5. Perfil de aminoácidos esenciales del frijol y otros granos (mg/100 mg de alimento)

Granos	Maíz	Avena	Arroz	Frijol
Aminoácido				
Isoleucina	350	526	296	927
Leucina	1190	1012	581	1685
Lisina	254	517	255	1593
Metionina	182	234	150	234
Fenilalanina	464	698	342	1154
Tirosina	363	459	226	559
Treonina	342	462	234	878
Valina	461	711	408	1016

FUENTE: FAO, 1970.

Vitaminas y minerales: En general las leguminosas son buenas fuentes de vitaminas del grupo B. En cuanto a los minerales son ricas en calcio, hierro y fósforo, y su asimilación depende de la acción inhibitoria del ácido fítico (www.inta.gob.ni)(a). El frijol contiene más caroteno, tiamina, riboflavina y ácido nicotínico que las frutas (Cornejo, 1993).

Compuesto tóxicos y antinutrimientales: El frijol presenta factores antinutrimientales que incluyen inhibidores enzimáticos, factores de flatulencia, taninos y ácido fítico y compuestos tóxicos como hemaglutininas. La cocción elimina por completo las hemaglutininas, mientras que el inhibidor de tripsina es el más resistente al calor (Mendoza, 2002). La presencia de factores antinutrimientales como inhibidores de tripsina, ácido fítico, oligosacáridos y taninos, reduce su valor biológico; pero es importante mencionar que estos compuestos son inhibidos o inactivados durante la cocción (González *et al.*, 2005).

1.4. Producción de frijol en México.

En México, el cultivo del frijol junto con el maíz, representa toda una tradición productiva y de consumo, cumpliendo diversas funciones de carácter alimentario y socioeconómico que le han permitido trascender hasta la actualidad (SAGAR 2000).

El 68 por ciento de su producción se destina en forma directa al consumo final. Asimismo, su consumo es generalizado entre amplias capas de la población de ingresos bajos, medios y hasta superiores (SAGAR, 2000). La producción de frijol a nivel nacional hasta agosto del 2007 para los ciclos otoño - invierno (2007-2007) y primavera – verano (2007-2007), se muestra en la tabla 7, (SAGARPA, 2007).

Después del maíz, el frijol ocupa el segundo lugar en importancia dentro de la superficie de los diez cultivos principales del país. La producción de frijol en el ámbito nacional es muy vulnerable a las condiciones climatológicas que prevalecen durante el ciclo productivo, debido a que aproximadamente el 87 por ciento de la superficie destinada a este cultivo se ubica en áreas de temporal. La principal limitante en su producción, la constituye sin duda la escasa disponibilidad de agua, fenómeno que se agudiza en regiones con bajo régimen pluvial (SAGAR, 2000).

Tabla 6. Producción nacional de frijol hasta agosto de 2007.

Producto	Producción (Toneladas)
FRIJOL	315,050

Fuente: SAGARPA. Servicio de información y estadísticas agroalimentaria y pesquera (SIAP), con información de las delegaciones de la SAGARPA en los estados.

En las tablas 7 y 8 se observan los principales estados productores de frijol a nivel nacional.

Tabla 7. Principales estados productores de frijol en el ciclo otoño-invierno 2007/2007.

Entidad federativa	Producción (Toneladas)
Sinaloa	139,358
Nayarit	69,894
Chiapas	28,236

Fuente: SAGARPA. Servicio de información y estadísticas agroalimentaria y pesquera (SIAP), con información de las delegaciones de la SAGARPA en los estados.

El frijol prácticamente se produce en todos los estados de la República Mexicana; destacando las regiones templada-semiárida y la cálida con invierno seco, tanto por la superficie sembrada como por el volumen de producción.

Tabla 8. Principales estados productores de frijol en el ciclo primavera-verano 2007/2007.

Entidad federativa	Producción (Toneladas)
Zacatecas	12,439
Chiapas	2,108
San Luis Potosí	75

Fuente: SAGARPA. Servicio de información y estadísticas agroalimentaria y pesquera (SIAP), con información de las delegaciones de la SAGARPA en los estados.

En la Región Cálida con Invierno Seco, se produce frijol bajo condiciones de riego y humedad residual. Los principales estados productores son Sinaloa y Nayarit, las zonas más productivas se localizan en los Municipios de Culiacán, Guasave y los Mochis en Sinaloa, y en Nayarit, el Municipio de Acaponeta. La región templada-semiárida comprende los estados de Chihuahua, Durango, Zacatecas y Guanajuato. En Chihuahua los municipios que destacan en la producción de frijol son el de Cuauhtémoc y Madera, en tanto que en Durango, lo es el de Guadalupe Victoria, mientras que en Zacatecas son el de Ojo Caliente, Fresnillo y Río Grande (siea.sagarpa.gob.mx).

1.5. Comercialización del frijol

La comercialización del frijol se ha realizado de manera ineficiente desde varias décadas atrás, debido a la falta de información y alternativas que plantean los diferentes mercados regionales,

así como a la falta de conocimiento relacionado con los hábitos de consumo de nuestra población, la baja calidad en la presentación del producto y la falta de estrategias para una mejor comercialización y distribución del mismo, repercutiendo negativamente en el precio pagado al productor por su grano (SAGAR 2000).

La forma en que se comercializa la mayor parte de la producción de frijol es a granel, en costales de 50 y 60 kilogramos, sin que tenga alguna clasificación o limpieza. Debido a esta situación el producto es castigado vía precio por el intermediario; aunado a esto, la falta de organización para poder negociar su producto en mejores condiciones, es otro factor que incide para que el productor no reciba una mayor retribución por su producto (SAGAR 2000).

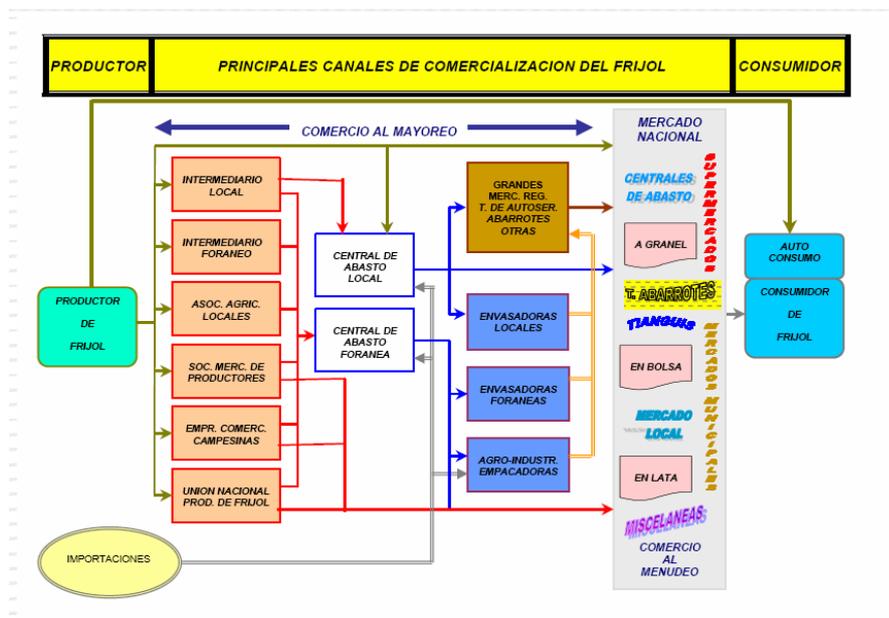
Los principales aspectos que han afectado la comercialización del grano, durante la década de los noventa, se pueden resumir en cuatro grandes apartados:

- a. Costos altos en la movilización de sus cosechas debido a la lejanía que existe entre las principales zonas de consumo y las de producción.
- b. Un alto grado de intermediarismo que existe en la primera etapa de su comercialización, que repercute negativamente en los intereses, tanto de productores, como de los consumidores del grano.
- c. Recomposición interna de la oferta nacional.
- d. Insuficientes apoyos a la comercialización de esta leguminosa en el mercado nacional.

Los canales de distribución y comercialización que presenta el mercado nacional del frijol son diversos y complejos (figura 2), a continuaciones se mencionan los que tienen mayor representatividad en el ámbito nacional, además de citar algunas características de su modo de operar.

1. La venta del grano por parte del productor a los intermediarios locales o foráneos.
2. La venta de este grano a las asociaciones agrícolas locales. Su finalidad es regular la oferta, para que de este modo, puedan obtener mejores precios en el mercado nacional.
3. La venta a través de sociedades mercantiles, integradas por los mismos productores, constituyen canales de comercialización que aún no tienen gran presencia, debido a los

volúmenes poco representativos que mueven en la compra y venta del producto. (SAGAR, 2000).



Fuente: Situación actual y perspectiva de la producción de frijol en México 1990-2000

Figura.2. Sistemas de comercialización del frijol.

1.6. Deterioro del frijol en el Almacén

Para garantizar la disponibilidad de granos y semillas en la cantidad, así como con la oportunidad y calidad requeridas, es necesario recurrir a su almacenamiento y conservación. Cada año se pierden cantidades considerables de granos debido a su manejo y almacenamiento inadecuado, aunado a los deficientes canales de comercialización que aumentan los tiempos de almacenamiento.

En México no existen cifras precisas que indiquen el volumen de pérdida de granos y semillas durante su almacenamiento; sin embargo, se estima que anualmente se pierde entre el 5% y el 25% de la producción total de maíz, trigo y frijol, principales granos básicos del país (www.inta.gob.ni)(a).

Un mal almacenamiento del grano, provoca pérdidas en su peso, calidad nutrimental, germinación y mercadeo y todo junto se refleja en la pérdida de dinero (www.inta.gob.ni)(c).

De acuerdo a esta página los principales factores que determinan y acentúan las pérdidas de granos y semillas en el almacén, son:

- Altos contenidos de humedad del producto almacenado.
- Elevada temperatura y/o humedad en el ambiente.
- Elevado porcentaje de impurezas mezcladas en granos y semillas como por ejemplo; granos o semillas quebradas, restos de plantas, insectos muertos y tierra.
- Carencia de almacenes adecuados.
- Presencia de insectos, hongos, bacterias y roedores.
- Manejo deficiente.
- Desconocimiento de los principios de la conservación.

La conservación apropiada de granos y semillas en el almacén, depende principalmente de las condiciones ecológicas de la región, del tipo de troje, bodega o almacén disponible, del tipo y condición del grano o semilla por almacenar y del tiempo de almacenamiento. Por ejemplo, en las regiones tropicales, donde el clima es cálido y húmedo, se acelera la respiración de los granos y semillas y se favorece el desarrollo de insectos y hongos; sucediendo lo contrario en las regiones de clima frío y seco (www.inta.gob.ni)(c).

El principio de un buen almacenamiento y conservación de granos y semillas es el empleo de bodegas secas, limpias y libres de plagas, donde se almacenen granos secos, enteros, sanos y sin impurezas. Independientemente del tipo de almacén o de recipiente que se utilice, el producto almacenado debe mantenerse fresco, seco y protegido de insectos, pájaros, hongos y roedores (www.inta.gob.ni)(c).

1.7 Insectos

Los insectos son importantes agentes biológicos que pueden causar daños a las semillas tanto en el campo como durante el almacenamiento, reduciendo drásticamente su calidad. Si la población de insectos crece en forma desmesurada, además de reducir la calidad del grano, se produce un incremento en su temperatura y humedad, que le afecta negativamente (Arias, 1993).

Los insectos de granos almacenados mas perjudiciales son aquellos que se alimentan del embrión y que destruyen el poder germinativo de la semilla. Los insectos que viven en el interior de la

semilla se alimentan principalmente del endospermo, lo que provoca la reducción parcial o total de las reservas alimenticias y hace que la semilla pierda su vigor y genere una planta débil o incapaz de sobrevivir en el campo además, el grano disminuye su calidad nutrimental y modifica sus propiedades de procesamiento cuando es destinado a consumo humano (Arias, 1993).

Los insectos de almacén comúnmente se encuentran presentes en silos, trojes, depósitos en general e inclusive en casas-habitación, por lo que la semilla puede infestarse fácilmente al ser almacenada cerca de productos ya infestados (figura 3):



Fuente: Arias, 1993

Figura.3. Daño total de los granos por causa de los insectos

La temperatura y la humedad son los principales factores ambientales que influyen en el desarrollo de los insectos de acuerdo con las siguientes características:

a) Temperatura. La mayoría de los insectos que atacan los granos almacenados son de origen subtropical y tropical. En las regiones muy frías, los insectos alcanzan niveles de reproducción tan bajos que no llegan a caracterizarse como plagas. En los granos que se mantienen bajo los 17°C, el desarrollo de los insectos resulta insignificante. Los límites de temperatura para el desarrollo de la mayoría de los insectos que atacan los granos almacenados varían entre 20 y 35°C (Arias, 1993).

b) Humedad. El contenido de humedad de los granos es un factor crítico para la sobrevivencia del insecto. Los insectos toman de los alimentos la humedad que requieren para sus procesos vitales. El aumento del contenido de humedad favorece la proliferación de los insectos; sin embargo, por sobre un cierto límite, el desarrollo de microorganismos (principalmente hongos) inhibe el de los insectos. Por otra parte, los granos de cereales con humedad inferior al 10 por ciento inhiben la actividad de los insectos (Arias 1993).

La humedad es el factor que más influye en la velocidad de deterioro. El daño ocurre en granos que inicialmente son almacenados con un adecuado contenido de humedad. Esto es porque el grano es higroscópico y tenderá a equilibrarse con la humedad relativa del medio ambiente. Las fluctuaciones en temperatura del almacén propician que se condense la humedad del aire en la superficie del grano, ocasionando que paulatinamente se incremente su contenido de humedad. Los granos almacenados en regiones con alta humedad relativa y constantes variaciones de temperatura son los más propensos a ganar humedad durante el almacenamiento (Serna 2001).

Además de la temperatura y del contenido de humedad de los granos, la composición del aire intergranular (relación oxígeno/gas carbónico) constituye un importante factor para el desarrollo de las poblaciones de insectos que infestan los granos almacenados. En bodegas y silos, la masa de granos forma un microclima que afecta su respiración y la de los organismos asociados a ellos, por lo que la composición del aire intergranular puede resultar profundamente modificada.

El gorgojo pardo del frijol *A. obtectus* (Say) y el gorgojo pinto del frijol *Z. subfasciatus* (Boheman), son de los principales plagas de insectos en el almacenamiento de frijol (*Phaseolus vulgaris*) y donde se desarrollan son severas las pérdidas post-cosecha que ocurren como resultado de la infestación de estos dos Brúquidos (Gatehouse, *et. Al*, 1987).

Debido a que *Z. subfasciatus* es una plaga de importancia económica en almacenamiento del frijol en México, algunos de los daños que provoca son: reducción del peso y pérdida de la calidad y la viabilidad de la semilla del frijol. El grado de pérdida es absolutamente variable y depende del período y de las condiciones de almacenamiento (Macedo *et al.*, 2000). Por esto, es importante conocer algunas de sus principales características (tabla 9):

a) Identificación del gorgojo pinto del frijol *Zabrotes subfasciatus*.

El macho es de color negro con manchas blancas y la hembra es de color pardo. Su longitud es de 2 a 3 mm. Los élitros de las hembras poseen una mancha blanca o una pubescencia uniforme de color grisáceo o café pálido, combinando con un fondo grisáceo oscuro.



Fuente:chinabiodiversity.com

Figura 4. Insecto *Zabrotes subfasciatus* hembra

b) Hábitat y Ciclo de vida

Se distribuye en regiones tropicales y subtropicales de México, Centro América y Sudamérica y se desarrolla adecuadamente en climas cálidos y templados. Su ciclo biológico se completa en 8 semanas, La especie presenta dimorfismo sexual, siendo las hembras más grandes que los machos. La hembra adulto oviposita entre 50 y 60 huevecillos de 2 a 30 horas después de la cópula. El hábito de oviposición es en grupos de 2 a 4 huevecillos, sobre la testa ó entre las rajaduras de los granos de frijol. El adulto vive de 2 a 4 semanas. Las condiciones apropiadas para su desarrollo son 30° centígrados y 70% de humedad relativa (www. inta.gob.ni)(b).

NOMBRE COMÚN	Gorgojo pinto del frijol
(CIENTÍFICO)	<i>(Zabrotes subfasciatus)</i>
ALIMENTACIÓN	Frijol común
	frijol lima
DANO	Daño primario
	come germen
	hace cavernas en el grano
LONGITUD (mm)	
-ADULTO	2 a 3
-LARVA	-
BIOLOGÍA	
#HUEVOS	50 a 60
CICLO DE VIDA CON 15°C	
20°C	25 días
25°C	25 días
30°C	25 días

Fuente: inta.gob.ni

Tabla 9. Condiciones de la plaga de *Zabrotes subfasciatus* en grano almacenado

La larva muda cuatro veces y **forma cavidades en el grano** donde pasará el estado de pupa. El macho adulto puede permanecer en la cámara varios días antes de salir al exterior. La hembra adulta sale inmediatamente e inicia la oviposición. El insecto adulto normalmente no se alimenta de granos, aunque puede consumir agua y néctar (www.inta.gob.ni)(b).

Z. subfasciatus no ataca frijol en el campo. Se considera una plaga de importancia económica en almacenes de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), frijol lima, (*Phaseolus lunatus* L.) y cowpea, además puede atacar soya (www.inta.gob.ni)(b).

Zabrotes subfasciatus deposita sus huvecillos en la vaina o directamente en la semilla, uniéndolos firmemente con una sustancia adherente. La larva al emerger penetra al cotiledón perforando la testa y usualmente pasa su estado larvario haciendo una cavidad en la semilla a mediad que se alimenta. La formación de la pupa se da dentro de la semilla y normalmente la larva antes de pasar al estado de pupa prepara una ventana de emergencia en la testa del frijol para que el adulto emerge de la semilla. La larva se alimenta del cotiledón. Una vez que el adulto emerge ya no consume alimento y sale de la semilla a través de la ruta de escape. Los adultos son muy activos pueden correr y/o volar y se pueden ver corriendo sobre la superficie de las semillas infestadas y es el estado de desarrollo reproductivo (Subramanyam *et al.*, 1996)

El deterioro del frijol durante su almacenamiento, provocado de manera importante por los insectos de almacén, se refleja en la disminución de su calidad nutricional, sensorial y agronómica. La calidad del grano esta asociada con su valor comercial que esta influenciado por características como tamaño, color y uniformidad del grano, además del tiempo de cocción, sabor y espesor del caldo. Por otra parte, el valor nutricional de esta leguminosa esta determinado en gran medida por el contenido de proteína y su digestibilidad, pues este grano es una de las principales fuentes de este nutrimento para la población de escasos recursos (www.scielo.org.ve).

Por lo tanto es importante, plantear alternativas para evitar la pérdida de calidad del frijol provocado por estas plagas de insectos durante su almacenamiento.

1.8 Resistencia del frijol a *Zabrotes subfasciatus*.

Almacenar el frijol, así como otros granos y productos que constituyen una fuente alimenticia para el hombre, ha representado una estrategia para disponer de ellos cuando sea preciso, por ello es necesario protegerlos de agentes que alteren negativamente su calidad, controlando la infestación de los granos almacenados por insectos. Para esto se realizan medidas preventivas como: mantener granos sin daños, medidas higiénicas en los almacenes, control de temperatura y humedad del almacén; sin embargo para los productores estas implementaciones generan un alto

costo de inversión (www.inta.gob.ni)(b). Por otra parte, también se intentan disminuir las pérdidas, utilizando variedades tolerantes al ataque de este insecto.

Algunas investigaciones que se han realizado respecto a este tema, han encontrado que uno de los factores que genera resistencia al ataque de *Zabrotes subfasciatus* en el frijol, es la presencia de inhibidores de alfa amilasa, pues se ha observado una relación directa entre variedades con mayor abundancia de este inhibidor y un menor ataque del insecto (Silva *et al.*, 2000). También se ha determinado que las plantas han desarrollado estrategias de defensa que obstaculizan la acción de los insectos, mediante la producción de inhibidores de las enzimas α -amilasas e inhibidores de tripsina y de quimotripsina (Payan, 2003, Kluh *et al.*, 2004, Gatehouse *et al.*, 1987).

Por otro lado, se ha observado que el contenido de fitohemaglutininas y arcelinas en el frijol, genera resistencia al ataque de *Zabrotes subfasciatus*. El modo de acción de estas proteínas en la protección de las semillas es diferente, ya que los genes evolucionan por duplicación y divergencia de un único gen ancestral. También se sabe que las fitohemaglutininas y arcelinas son tóxicas a los insectos debido a su unión al intestino de las células epiteliales (Kluh *et al.*, 2004, Macedo *et al.*, 2002, Osborn *et al.*, 1988).

Otros trabajos nos presentan que las lectinas, han estado implicadas como factores de antibiosis contra los insectos (Macedo *et al.*, 2002). Gatehouse y colaboradores (1987) han implicado a las lectinas (probablemente similar o igual que la arcelina) en resistencia a *Z. subfasciatus*.

Como se puede ver, se han investigado diferentes causas que confieren resistencia al frijol del ataque de *Z. subfasciatus* pero otra posibilidad, que se ha estudiado poco, es la que genera la cubierta externa de las semillas, que juega un papel importante en la protección de estas contra el ataque del brúquido. Los mecanismos de defensa involucran un componente bioquímico y uno físico; esto es, la textura de la superficie y la estructura de la cubierta evitan agresiones como es la penetración de las larvas de insectos y de diversos patógenos (Villaseñor *et al.*, 1992).

La resistencia de las semillas en especies de leguminosas es atribuida a la rugosidad y dureza de la testa. La dureza es un factor importante que influye en la frecuencia de penetración de larvas

de primer estadio, número de larvas que penetran al grano y número de ventanas de emergencia de adultos (Villaseñor *et al.*, 1992).

Por otra parte, se sabe que la pared celular determina la dureza de la testa, pues su grosor es consecuencia de la acumulación de celulosa y lignina, que son componentes de la pared celular. Además, se ha observado que esta resistencia en las semillas del *P. vulgaris* al insecto, pueden ser debido a la presencia de un heteropolisacarido que posee un contenido inusualmente alto de arabinosa y de fucosa (Gatehouse *et al.*, 1987), estos azúcares también son componentes de la pared celular.

Con base en lo antes expuesto, podemos decir que, otro componente importante en la resistencia del frijol al ataque de *Z. subfasciatus* podría ser, la pared celular de la testa de estos granos.

Pero todavía no se sabe exactamente que es lo que le confiere resistencia al frijol. Por eso, es importante el tratar de identificar el o los componentes moleculares que intervienen en la resistencia del grano, para poder tener variedades tolerantes y disminuir pérdidas y costos durante el almacenamiento de frijol.

1.9 La pared celular

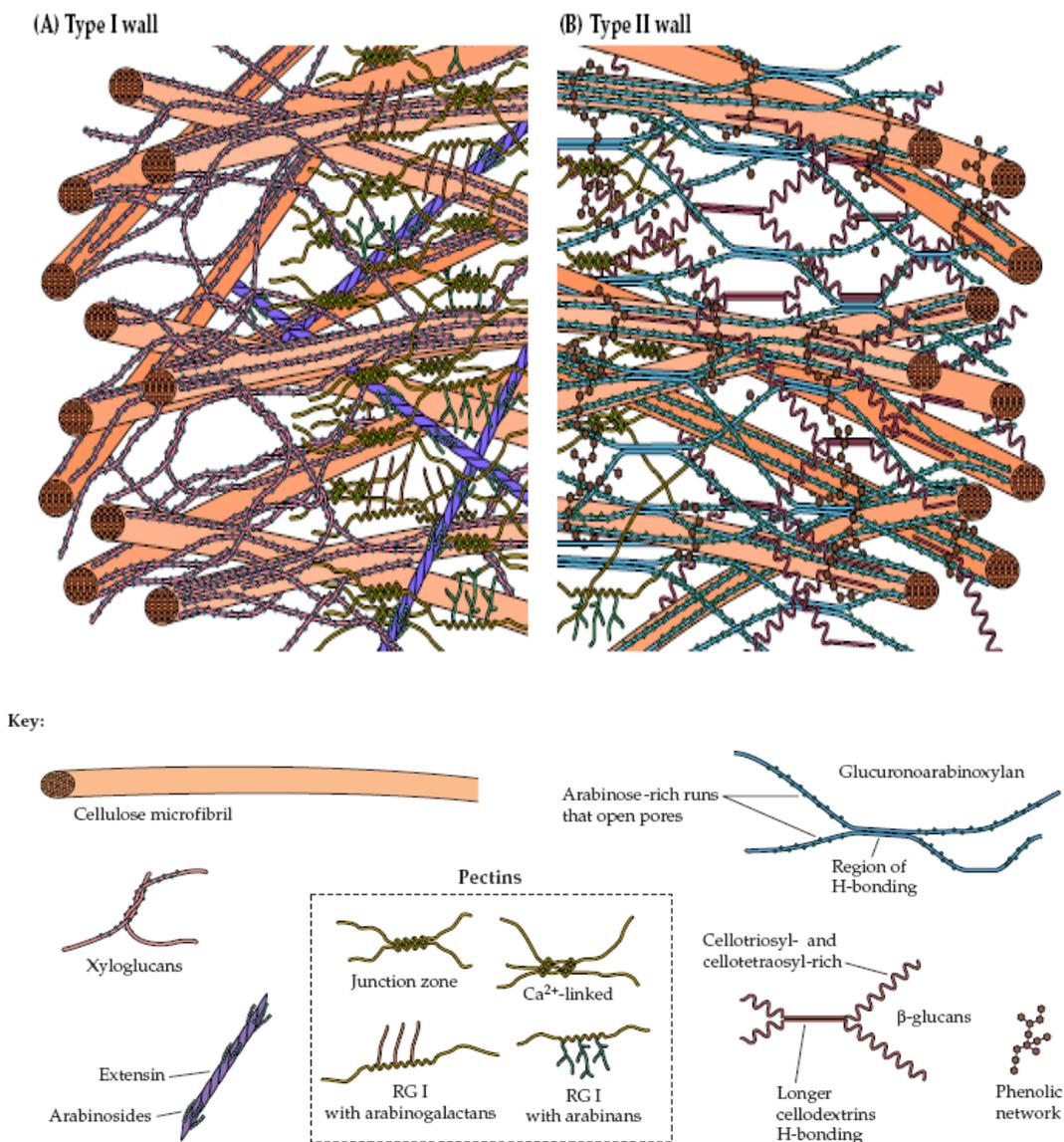
La pared celular es una estructura de células vegetales cuya función principal es proporcionar rigidez, forma y tamaño a las células vegetales (Thompson y Fry, 2000; McDougall *et al.*, 1996). Muchos de los polisacáridos no almidónosos presentes en las plantas se encuentran en las paredes celulares, y todas ellas tienen pared celular primaria y lámina media (Carpita y Gibeaut, 1993; McDougall *et al.*, 1996).

La composición de la pared celular primaria y las interacciones intermoleculares entre los componentes de la pared celular están en constante cambio (McDougall *et al.*, 1996), por lo que se considera un sistema dinámico (Carpita y Gibeaut, 1993) resultado del crecimiento, desarrollo y variedad de los tejidos vegetales (McDougall *et al.*, 1996).

Las paredes celulares están constituidas por diversas moléculas como carbohidratos, proteína, lignina, agua, algunos iones y moléculas inorgánicas y en algunos casos están presentes otras moléculas orgánicas como cutina y suberina (García y Peña, 1995; Cosgrove, 1997; Bennet y

Rose, 1999). La complejidad química de la pared celular se incrementa si se considera que la proporción, composición y organización de la mayoría de estos contribuyentes es variable entre especies, tipos de células y aún entre células vecinas y que se modifican durante el desarrollo y la exposición de la planta a diversos factores ambientales (McNeil *et al*, 1984; Selvendran, 1985; Showalter, 1993).

De manera general se han estimado las proporciones de los constituyentes de la pared celular como sigue: 10% proteína y 90% carbohidratos (Darvill *et al*, 1985).



Fuente: Carpita (2006)

Figura 5. Modelo de Pared Celular Primaria (tipo I) y Pared Secundaria (tipo II)

En el nivel más sencillo la pared celular primaria tiene cuatro componentes principales. Estos son celulosa, polisacáridos no celulósicos (matriz amorfa: dividida en pectina y hemicelulosas), proteínas (como la extensina) y polifenoles (Carpita y Gibeaut, 1993; McDougall *et al*, 1996) (Figura 5 A).

Carpita y Gibeaut (1993) proponen un modelo de pared celular para dicotiledones que está basado en los principales componentes (celulosa, pectinas, xiloglucanos, ramnogalacturonanos, arabinogalactanos y extensina) y las interacciones predominantes en el medio dinámico (enlaces covalentes, puentes de hidrógeno e interacciones iónicas). Este modelo de la pared celular primaria de dicotiledóneas propone dos envolturas de distintas redes de polímeros: una red de celulosa-xiloglucanos interaccionando por puentes de hidrógeno y enlaces covalentes y una red de polisacáridos pépticos sostenidos por enlaces de calcio. Debido a la organización espacial de los componentes químicos, en la pared celular se distinguen dos factores: la microfibrilar y la amorfa (Aspinal, 1980; Darvill *et al.*, 1980).

La sustancia intercelular o lamina media; es la capa más externa, en muchos casos compartida por más de una célula. Se inicia como "placa celular", en el momento de la división celular. Es amorfa y ópticamente inactiva. Se compone principalmente de compuestos pépticos (ácido péptico: unión de moléculas de ácido galacturónico (enlaces α 1-4) esterificadas con metanol; y cuando tienen baja esterificación se conocen como pectatos o ácido péptico, los cuales tienen la capacidad de unirse a iones Calcio. Sus funciones son: determinar la porosidad de la pared celular, proveer de una superficie de carga que modula el pH y el balance iónico, y servir como receptor de moléculas que emiten señales para desarrollar respuesta a organismos simbióticos, patógenos e insectos (Carpita y Gibeaut, 1993; McDougall *et al*, 1996). La lámina media siendo la porción exterior de las células tiene un papel primario en la adhesión intercelular y las pectinas al constituir gran parte de la pared celular y de la lámina media contribuyen a la fuerza mecánica de la pared y a la adhesión entre las células (Carpita y Gibeaut, 1993).

La pared celular secundaria está presente sólo en algunos tipos celulares. Mucho más gruesa que la pared primaria. Es diferente a la pared primaria en estructura morfológica, composición y características bioquímicas; además, es común que su grosor se modifique a lo largo de la superficie celular. Está formada de celulosa y lignina (polímero del fenilpropano), y de otras

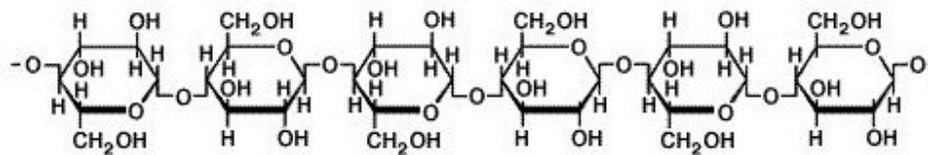
moléculas que varían según la célula (cutina, suberina, sales minerales, etc.) (Preston, 1979) (Figura 5B).

1.9.1. Polisacáridos de Pared Celular

Celulosas

Las fibras de celulosa forman el componente más resistente de la pared celular, tanto a la hidrólisis química como a la enzimática. Están compuestas de cadenas no ramificadas de β -(1-4)-D-glucano. La función de este polímero es la de formar el esqueleto y proveer de la forma y fuerza a la pared celular. La celulosa de la pared celular le confiere rigidez y resistencia ante la ruptura, mientras que las sustancias pécticas y las hemicelulosas le proporcionan plasticidad (Carpita y Gibeaut, 1993). El grado de polimerización de la celulosa en las paredes celulares secundarias es alto y definido, contrario a la pared celular primaria en la que el grado de polimerización de las moléculas de celulosa es variable (Kato, 1980; McNeil *et al.*, 1984).

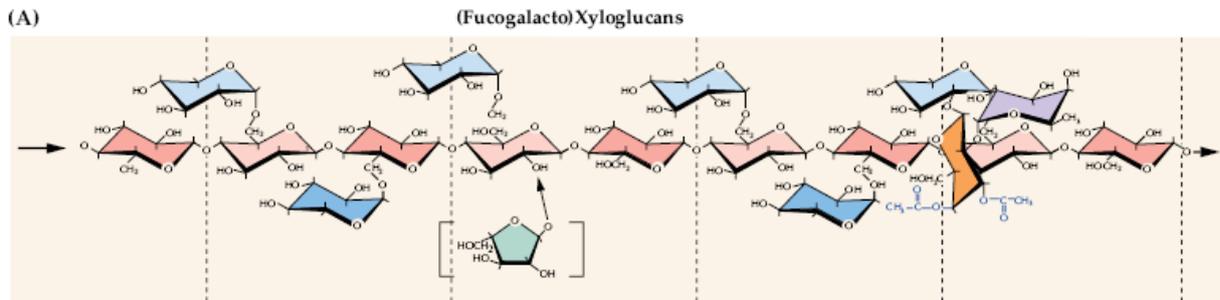
Figura 6. Estructura de la glucosa



Fuente: Carpita, 2006

Hemicelulosas

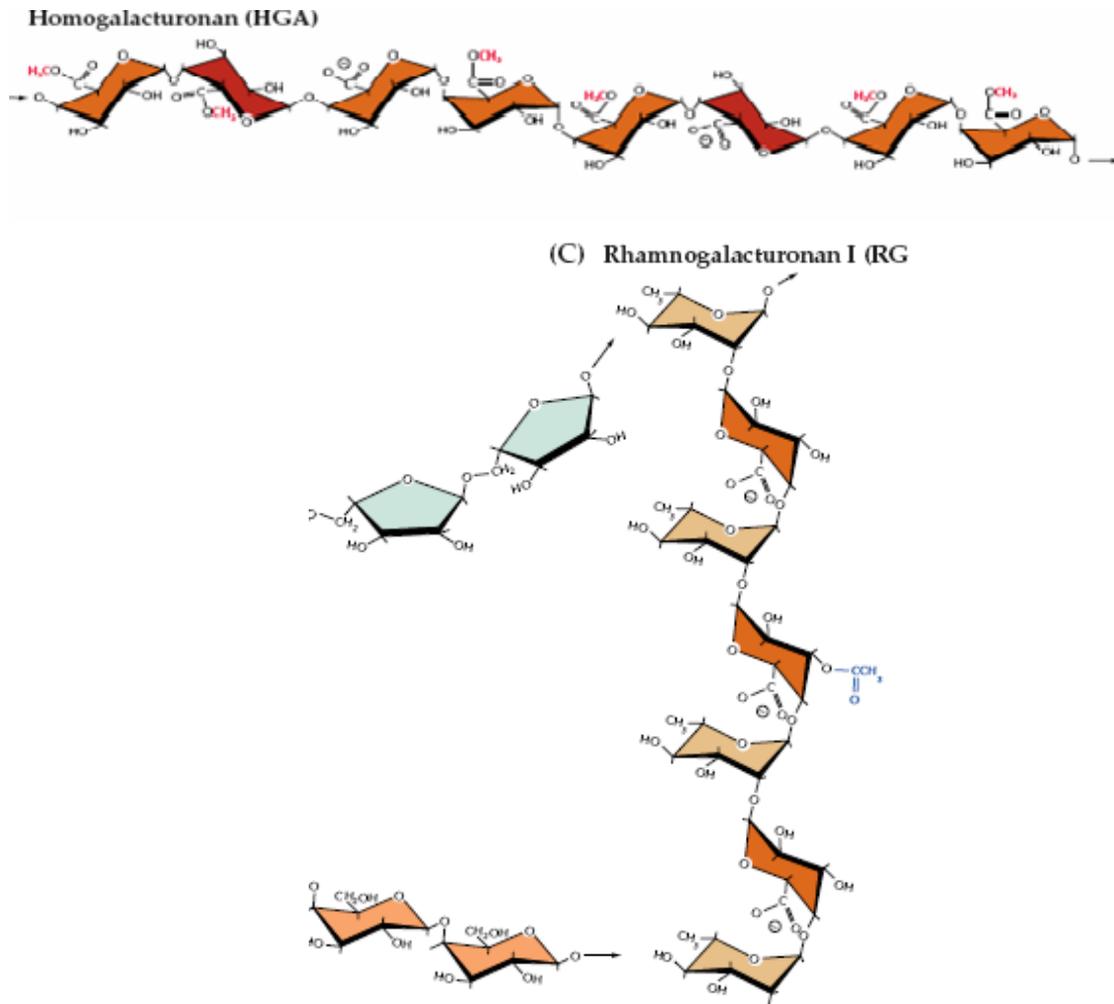
Las hemicelulosas pueden unirse mediante puentes de hidrogeno a la celulosa. Incluyen a los xilanos que es un polisacárido formado por dos xilosas, representan el 5% de la pared celular primaria de dicotiledóneas y el 20% de las paredes celulares secundarias en dicotiledóneas. También los xiloglucanos polisacárido formado por una cadena principal de xilosa y glucosa, están presentes en este grupo y forman el 20% de las paredes celulares primarias de dicotiledóneas (Fry, 1988).

Figura 7. Estructura de xiloglucano

Fuente: Carpita (2006)

Pectinas

Las pectinas son polisacáridos de moléculas de ácido D-galacturónico que están unidas por enlaces α -(1-4), algunos de cuyos grupos carboxílicos están esterificados ya sea con metanol (metoxilados) ó con ácido acético (acetilados). Las pectinas pueden presentar cadenas laterales de azúcares neutros como galactosa, arabinosa, xilosa, entre otros más (Blancas, 2001). La pectina cuenta con tres dominios característicos: homogalacturonanos, formados de cadenas no ramificadas de residuos de ácido galacturónico y en algunos bloques intercalados de ramnosa, galactosa y arabinosa (García y Peña V., 1995); un segundo dominio formado por los ramnogalacturonanos tipo I, que representan el grupo más abundante en dicotiledóneas y están constituidos por una estructura formada por la repetición del disacárido galacturonil-ramnosil, del cual alrededor del 50% de la ramnosa presenta ramificaciones de azúcares entre los que predominan galactosa y arabinosa formando galactanos, arabinanos o arabinogalactanos (Carpita y Gibeau 1993) y un tercer dominio constituidos por los ramnogalacturonanos tipo II, este dominio es escaso en la pared celular primaria y está formado por un eje rico de ácido galacturónico y con cadenas laterales que contienen 11 diferentes azúcares. De acuerdo a su solubilidad en agua, las pectinas se clasifican en tres tipos: las protopectinas, polímeros de alto peso molecular insolubles en agua; los ácidos pectínicos o pectinas altamente metiladas, solubles en el agua (Mc Feeters y Armstrong, 1984) y los ácidos pectínicos o pectinas poco metiladas (pectatos), que pueden interactuar con iones y cuya solubilidad depende de la cantidad de cationes a ellos asociados (Hudson y Buesscher, 1986).

Figura 8. Estructura de Homogalacturonano y Ramnogalacturonano I

Fuente: Carpita (2006)

1.9.2. Interacciones entre los componentes de la pared celular

Los componentes de la pared celular se unen entre sí por medio de enlaces covalentes, iónicos e interacciones: hidrofóbicas y puentes de hidrógeno. Aunque se tiene el conocimiento de todos y cada uno de los enlaces químicos e interacciones fisicoquímicas que se presentan en la pared celular es difícil identificar con verdadera certeza los tipos de enlaces y los sustituyentes presentes en la intrincada estructura que constituye la pared celular (Talbot y Ray, 1992; Carpita y Gibeau, 1993).

En los modelos actuales de organización de polímeros en paredes celulares primarias, se propone que las microfibrillas están embebidas en una matriz de proteínas y polisacáridos no celulósicos entretejidos como xiloglucanos y posiblemente arabinosilanos y glucomanos (Talbot y Ray, 1992; Carpita y Gibeau, 1993). Se ha previsto que una proporción de estos polisacáridos están

unidos por puentes de hidrógeno a las superficies de microfibrillas de celulosa y por virtud de su longitud, son capaces de interactuar con la superficie de más de una microfibrilla y así actúan como un pegamento entre ellas. Dentro de la matriz hay varias posibilidades de formación de puentes de hidrógeno entre polisacáridos y varias opciones de interacciones iónicas y salinas entre polisacáridos y proteínas (Iiyama *et al.*, 1994). Los enlaces iónicos son la forma de unión más frecuente entre los polímeros que contienen grupos con carga eléctrica, ejemplos de lo anterior son: a) el enlace iónico entre la extensina, con carga neta positiva, y los galacturonanos, cargados negativamente; y b) el enlace que ocurre entre las cadenas del ácido galacturónico con los iones de calcio y que actúan como puentes iónicos entre residuos de galacturonano cargados negativamente (Jarvis, 1982). Todas estas fuerzas no covalentes son necesarias para alcanzar una estabilidad.

Enlaces glicosídicos entre cadenas de oligosacáridos y polisacáridos son posibles, a través del hidroxilo hemiacetal al extremo final reductor de una cadena y un grupo hidroxilo de otra cadena. Estas asociaciones se llaman sustituciones covalentes o entrecruzamientos (Talbot y Ray, 1992). La interacción entre los polímeros y sus enlaces mantiene la integridad de la pared celular, y explica parcialmente sus propiedades fisicoquímicas, el aprovechamiento nutricional de los polisacáridos por los herbívoros, su uso comercial potencial, los mecanismos de las plantas para la tolerancia de factores adversos, etc. (Fry, 1986).

1.9.3. Métodos para la evaluación de pared celular.

La extracción de cada grupo de polisacáridos de la pared celular es dependiente de sus características químicas, de las interacciones con los otros componentes y de su localización en la red de compuestos; por ejemplo, las sustancias pécticas son solubles en agua caliente, disoluciones acuosas ligeramente acidificadas, y en disolución acuosa de oxalato de amonio o de otros agentes quelantes (O`Nelly *et al.*, 1990). Sin embargo, la composición y proporción extraída de las sustancias pécticas se modifica con el método y disolvente utilizado para su extracción, así como con el tipo de tejido de la planta y con el estado de desarrollo de la pared (Seveldran *et al.*, 1985).

Las hemicelulosas son por definición, insolubles en agua, pero se disuelven en álcalis, las moléculas menos ramificadas tienden a requerir álcalis más fuertes para solubilizarse. Las hemicelulosas se puede extraer con NaOH o KOH, los cuales rompen enlaces éster, pero no por agentes

quelantes en frío. De las hemicelulosas solubilizadas, una parte precipita al neutralizar la solución en las que están solubilizadas (hemicelulosa A), el resto se obtiene precipitándolas con etanol frío agregado al sobrenadante (hemicelulosa B) (Southgate, 1976; Peña y Ortega, 1984 y 1986). La hemicelulosa A se caracteriza por tener alto peso molecular, insolubilidad en agua fría y bajo contenido de ácido glucourónico y arabinosa, al contrario la hemicelulosa B que contiene moléculas de bajo peso molecular, altamente ramificadas y solubles en agua, con alto contenido de ácido glucourónico y arabinosa (Dekker, 1979).

Para la solubilización de la celulosas se utiliza una solución muy concentrada, alrededor de 20% o 4M, de NaOH o KOH y solo se solubiliza parcialmente; la alfa celulosa es insoluble en 17.5% de NaOH; y generalmente queda en el residuo o fracción de pared celular que no se solubiliza. La celulosa aún con el uso de ácidos y temperatura es difícil de hidrolizarse (Dekker, 1979).

2.- OBJETIVOS

Objetivo General: Evaluar si existe relación entre el nivel de complejidad de la interacción química de los componentes de la pared celular de la testa de diferentes variedades de frijol y la tolerancia al ataque del gorgojo del frijol *Zabrotes subfasciatus* (Boheman)

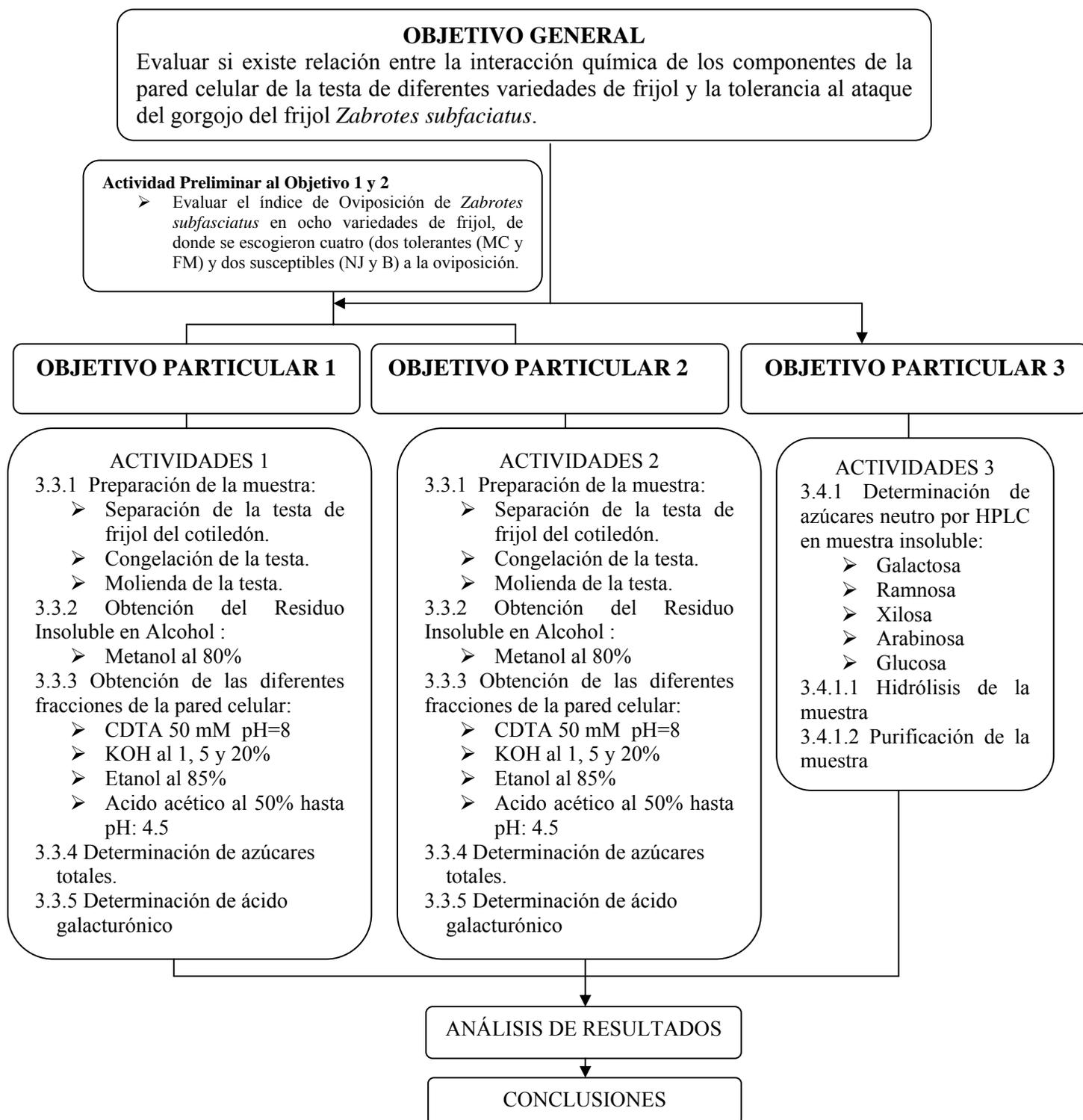
Objetivo particular 1.- Determinar la facilidad de extracción de la pared celular de la testa de frijoles Negro Jamapa y Bayo para evaluar si existe relación con su susceptibilidad al ataque de *Zabrotes subfasciatus* (Boheman)

Objetivo particular 2.- Determinar la facilidad de extracción de la pared celular de la testa de frijoles Flor de Mayo y Mayocoba para evaluar si existe relación con su tolerancia al ataque de *Zabrotes subfasciatus* (Boheman)

Objetivo particular 3.- Determinar el nivel de complejidad de la interacción química de los componentes de la pared celular de la testa de las variedades de frijol usadas para evaluar su relación con la susceptibilidad o tolerancia al ataque de *Zabrotes subfasciatus* (Bohemman).

3.-MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Cuadro metodológico



3.2. Material biológico

En este trabajo se emplearon cuatro variedades comerciales de frijol donadas por la comercializadora “La Merced”(lotes de 5 kg por variedad): Flor de Mayo (Zacatecas última cosecha 2005), Mayocoba (Sinaloa última cosecha 2005), Bayo (Zacatecas última cosecha 2005) y Negro Jamapa (Nayarit última cosecha 2005); las cuales, fueron seleccionadas previamente de entre ocho variedades que se infestaron con *Zabrotes subfasciatus*, y donde se observó que Negro Jamapa y Bayo fueron las más susceptibles a la oviposición del insecto mientras que Flor de Mayo y Mayocoba fueron las más tolerantes. Por esta razón se decidió trabajar con estas cuatro variedades.

Actividades a los objetivos particulares 1 y 2.

3.3.1 Preparación de la muestra

Se realizó la preparación de la muestra separando la testa de los cotiledones de las variedades Flor de Mayo, Mayocoba, Negro Jamapa y Bayo con una navaja, posteriormente fue sometida la cáscara a molienda en un molino de cuchillas marca Arthur H. Thomas Co., Aparatos científicos, motor ¼ HP de 1725 RPM; y las harinas resultantes se tamizaron por medio de una malla # 40 W. S Tyler, (425 µm).

3.3.2 Obtención del Residuo Insoluble en Alcohol

Se colocaron 2.5 gramos de testa en un mortero, se le adicionó nitrógeno líquido, una vez que el tejido se congeló, se pulverizó con el pistilo hasta obtener una harina fina. Se adicionaron cuatro volúmenes de metanol al 80%. La suspensión se transfirió a un matraz con tapón, donde se hirvió durante una hora con agitación magnética (marca Thermolyne nuova II). Se centrifugó (IEC Centra 4B) a 5000 rpm por 15 minutos y se eliminó el metanol por decantación, obteniéndose el residuo insoluble en alcohol.

3.3.3 Obtención de las diferentes fracciones de pared celular

La pastilla se colocó en un matraz con tapón de rosca, se adicionaron cuatro volúmenes de Trans-1,2-Diaminociclo-hexano N,N',N'-Treta Acido Acético (CDTA) 50 mM, pH 8 y se dejó en agitación por 2 horas, luego se centrifugó (centrifuga IEC Centra 4B) a 5000 rpm por 15 minutos a temperatura ambiente, se midió el volumen del sobrenadante y se guardó. Esta

operación de extracción se repitió 2 veces más, pero la segunda extracción se llevó a cabo durante 19 horas y la tercera durante 2 horas como la primera extracción.

La pastilla se colocó en un matraz y se le adicionó borihidruro y cuatro volúmenes de KOH (1%, 5%, 20%) en relación de 3 mg de borihidruro/ml de KOH. En seguida la pastilla se sometió a una atmósfera de nitrógeno gaseoso de 3-5 minutos. Después se puso en agitación magnética durante 2 horas con KOH 1%, se centrifugó a 7000 rpm por 15 minutos se midió el volumen del sobrenadante y se guardó. En el caso de KOH 5% se puso en agitación magnética (marca Thermolyne nuova II) durante 19 horas y se centrifugó a 7000 rpm por 15 minutos se midió, el volumen del sobrenadante y éste se guardó. Para KOH 20% se sometió a una agitación magnética durante 2 horas se midió el volumen del sobrenadante y se guardó. El precipitado se lavó con agua destilada y se centrifugó a 7000 rpm por 15 minutos de 4-6 veces aproximadamente dependiendo del tamaño de la muestra hasta alcanzar un pH 7, ya alcanzado el pH se hizo un lavado con acetona y se centrifugó a 7000 rpm por 15 minutos. La pastilla se colocó en cajas de aluminio para que se secase. El diagrama general de la extracción se muestra en la figura (9).

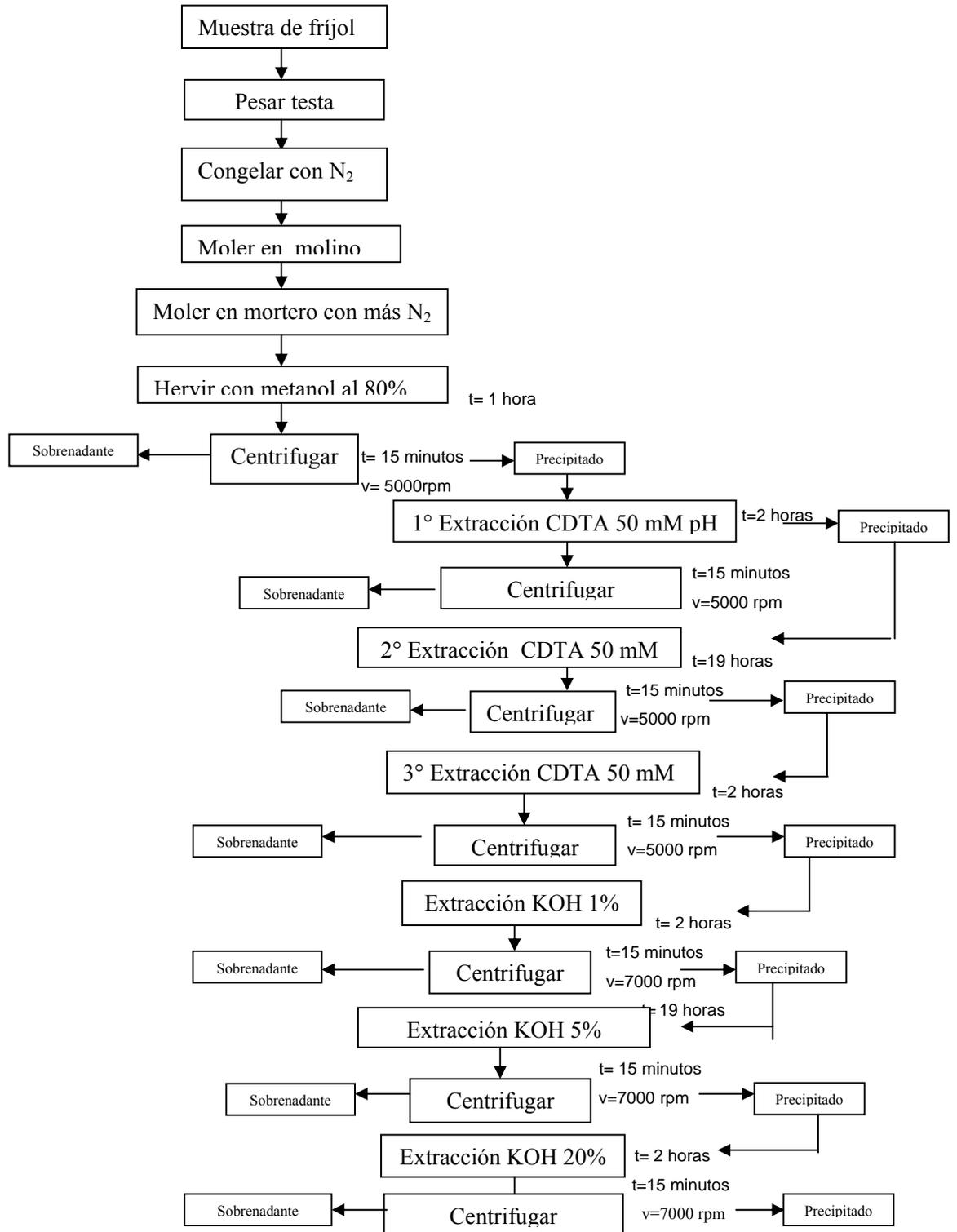


Figura 9. Extracción de pared celular

3.3.4 Cuantificación de azúcares totales

Para la cuantificación de azúcares totales se empleó el método de Fenol-Sulfúrico que se fundamenta en la reacción específica de carbohidratos con un grupo reductor o un grupo potencialmente reductor más fenol en un medio fuertemente ácido (ácido sulfúrico) para formar un compuesto colorido (amarillo-naranja) derivado del furfural (Dubois *et al.*, 1956).

Se tomó un volumen no mayor de 500 μl de muestra (por triplicado), se adicionó agua desionizada cbp 500 μl , luego se agregaron 300 μl de fenol acuoso al 5% (p/v), se agregó 1.8 ml de ácido sulfúrico concentrado y se dejó reposar 10 minutos a temperatura ambiente. Se tomo la lectura en una longitud de onda a 485 nm, en un espectrofotómetro Sequoia-Turner, Modelo 340 (figura 10). Para calcular la concentración del problema se realizo una curva patrón con una solución de glucosa a una concentración de 200 mg/ml.

3.3.5 Cuantificación de ácido galacturónico

Para la cuantificación de ácido galacturónico se empleó el método espectrofotometrico, que se fundamenta en la reacción de carbohidratos con un grupo carboxilo (ácidos urónicos por ejemplo), más o-hidroxifenil en un medio oxidante agresivo (ácido sulfúrico caliente) con tetraborato para formar un compuesto colorido cíclico (Blumenkrantz y Asboe-Hansen, 1973).

Se tomó un volumen no mayor de 400 μl de muestra (3 repeticiones por cada una), se adicionó agua desionizada cbp 400 μl , se agregó 2.4 ml de una solución de tetraborato de sodio 0.0125 M en ácido sulfúrico concentrado, luego se hirvió durante 5 minutos, se enfrió en agua con hielo durante 1 minuto y se agregó al blanco 40 μl de NaOH al 5% (p/v) y a la muestra 40 μl de o-hidroxifenil al 0.15% (p/v), se dejó 30 minutos a temperatura ambiente con agitaciones cada 10 minutos y se tomo la lectura en una longitud de onda a 520 nm, en un espectrofotómetro Sequoia-Turner, Modelo 340 (figura 10). Para calcular la concentración del problema se realizo una curva patrón con una solución de glucosa a una concentración de 1 mg/ml.



Figura 10. Espectrófotometro para azúcares y ácidos galacturonicos

Actividades al objetivo particular 3

3.4.1 Cuantificación de azúcares neutros por Cromatografía de Líquidos de Alta Presión (HPLC)

Se realizó en un cromatógrafo marca Waters modelo 60F, con un detector de índice de refracción marca waters modelo 410, con una columna de 4.6 mm x 25 cm, con una fase estacionaria de Supelcosil LC-NH₂ (5 micrones) y una fase móvil isocrática de Acetonitrilo:Agua (80:20), a una temperatura del detector y la columna de 30°C, a un flujo de 1.3 ml/min y una sensibilidad de 128.

3.4.1.2 HIDRÓLISIS DE LA MUESTRA

1. Se pesaron 5 mg de muestra seca en un tubo de fondo cónico
2. Se disolvieron en 850 µl de agua destilada a la muestra
3. Se agregaron 150 µl de Ácido trifluoroacético (ATF) concentrado y se agitó (con precaución)
4. Se colocaron los tubos tapados en un bloque de calentamiento a 121°C por 4 horas.
5. Se enfriaron los tubos y se evaporó el ATF con nitrógeno gaseoso.
6. Se lavó con 1 ml de 2-propanol (isopropanol) evaporándolo con nitrógeno gaseoso las veces que fue necesario hasta tener un pH=5.
7. La muestra seca se resuspendió en un 1 ml de agua destilada y se agitó.

3.4.1.3 PURIFICACIÓN DE LA MUESTRA

1. Se empacó una columna Biorad con 0.5 ml de Polivinil-Polipirrolidona (PVPP), 0.5 ml de Amberlita IRA 94 y 1.0 ml de Dowex 50 (X4).
2. Se vertieron las resinas preparadas en la columna como se describe a continuación.
3. Se lavó la columna con 5.0 ml de agua desionizada.
4. Se disolvió el extracto en 0.5 ml de agua desionizada. Se aplicó a la columna y se drenó. Se enjuagó el eppendorf con otros 0.5 ml de agua y se drenó el agua de la columna. Se añadieron 4.0 ml de agua desionizada y se colectó la muestra en tubos hasta obtener 5.0 ml.
5. Se congeló el extracto.
6. Se centrifugó a 10,000 revoluciones por 3 minutos.
7. Se filtró con acrodiscos de 0.45 μm (u otros filtros de este tamaño).
8. Se secó la muestra por liofilización.
9. Se guardó la muestra seca en refrigeración hasta usarse.
10. Se resuspendieron las muestras en un volumen mínimo (30-100 ml) de agua destilada y se filtró (0.45 μm), posteriormente se inyectó en el HPLC. Antes de inyectarse la muestra se centrifugó 11,000 rpm (10-20 segundos)

3.5 Método Estadístico

Para el análisis de los resultados se utilizó una prueba de comparación por pares T-Student, usando el programa origin V 4.5. Todas las pruebas se realizaron por triplicado, obteniéndose la media, desviación estándar y coeficiente de variación.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una forma de determinar la facilidad de extracción de las fracciones que componen la pared celular (PC) y su estructuración, es decir, la interacción química entre los diferentes polisacáridos que la componen es mediante la solubilización secuencial de sus componentes con solventes de diferente capacidad para romper los enlaces químicos que la mantienen estable. Dependiendo de la capacidad del solvente para “solubilizar” y del tipo de interacción que exista entre los polisacáridos de la pared celular, será la cantidad de fracción que se obtenga (Rose, 2003; Southgate, 1991; Crescenzi *et al*, 1988). Esto puede complementarse con la determinación del contenido y composición de azúcares de los polisacáridos obtenidos. Aunque el contenido y composición de azúcares no permite el conocimiento detallado de la interacción química de la pared celular, si da un indicativo de la misma. Es importante señalar que una mayor interacción química se relaciona directamente con una pared celular más fuerte que se refleja en un tejido más resistente.

Por lo explicado anteriormente, en el presente trabajo se cuantificaron las diferentes fracciones solubles de pared celular obtenidas de las variedades de frijol tolerantes Flor de Mayo y Mayocoba y las susceptibles Negro Jamapa y Bayo al ataque del insecto *Zabrotes subfasciatus*. La cantidad de cada fracción se cuantificó como azúcares totales en la solución (tabla 10).

TABLA 10. Comparación de las medias entre las diferentes fracciones de pared celular obtenidas de la testa de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo-Mayocoba y susceptibles Negro Jamapa-Bayo a *Zabrotes subfasciatus*.

VARIEDAD	FLOR DE MAYO	MAYOCOBA	NEGRO JAMAPA	BAYO
Fracciones de Pared Celular	g de fracción/100 g de testa			
CDTA 2 HORAS	1.32 ^{a*}	0.64 ^b	1.87 ^c	1.68 ^c
CDTA 19 HORAS	1.19 ^a	0.77 ^b	1.17 ^a	1.09 ^a
CDTA 2 HORAS	1.16 ^a	0.81 ^b	1.49 ^c	1.12 ^a
KOH 1%	5.42 ^a	3.88 ^b	4.66 ^a	5.30 ^a
KOH 5%	7.25 ^a	5.24 ^b	3.38 ^c	2.64 ^d
KOH 20 %	8.25 ^a	7.78 ^a	7.95 ^a	8.52 ^a

* Medias con diferentes letras entre columnas indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

Los resultados obtenidos en las muestras solubles mostraron que, las fracciones de pared celular de la testa, extraídas con CDTA, fueron menos abundantes y estadísticamente diferentes de las otras variedades en frijol Mayocoba; seguido de Flor de Mayo y Bayo con valores similares y el más abundante en estas fracciones fue Negro Jamapa.

Las fracciones aisladas con KOH, fueron más abundantes en la variedad Flor de Mayo seguido por Mayocoba en la fracción de KOH 5% y por Bayo en las fracciones de KOH 1 y 20 % y por último Negro Jamapa (tabla 10).

Estos resultados se observaron más claramente, al agrupar las fracciones de pared celular de acuerdo a su fuerza de extracción, es decir, el tipo de interacción química que las mantiene estables (tabla 11). Las dos fracciones obtenidas con CDTA (2 y 19 horas) están unidas, principalmente; por enlaces iónicos y serían pectinas formadas por cadenas de ácido galacturónico con bajo grado de metilación, que se unen a través de iones Calcio; además de pectinas con alto grado de metilación y solubles en agua, las cuales contribuyen en menor medida a la interacción química y fuerza de la pared celular (Waldron y Selvendran, 1992; Kon, 1968).

TABLA 11. Comparación de las medias entre las fracciones de Pared Celular obtenidas de la testa de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo-Mayocoba y susceptibles Negro Jamapa-Bayo a *Zabrotes subfasciatus* agrupadas por su fuerza de extracción.

VARIEDAD	FLOR DE MAYO	MAYOCOBA	NEGRO JAMAPA	BAYO
	g de fracción/100 g de testa			
Fracciones de pared celular				
CDTA 2 HRS + CDTA 19 HRS	2.51 ^{a*}	1.41 ^b	3.04 ^c	2.77 ^{ac}
CDTA 2 HRS+KOH 1%	6.58 ^a	4.69 ^b	6.15 ^a	6.42 ^a
KOH 5%+ KOH 20%	15.5 ^a	13.02 ^b	11.33 ^c	11.65 ^c

* Medias con diferentes letras entre columnas indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

Las siguientes fracciones, CDTA y KOH 1% pueden ser una mezcla de polisacáridos unidos por enlaces iónicas como las pectinas de bajo metoxilo y enlaces covalentes débiles, probablemente protopectinas, que son pectinas de alto peso molecular unidas por enlaces covalentes débiles a hemicelulosas, que proporcionan una interacción química y fuerza regular a la pared celular (Rose, 2003; Kon, 1968).

Por último, las fracciones obtenidas con KOH 5 y 20% que remueven cadenas de glicanos no celulósicos y que generan un residuo de celulosa; están unidas principalmente por enlaces covalentes fuertes, y contribuyen en gran medida a la interacción química y fuerza de la pared celular y están constituidas principalmente por hemicelulosas unidas a celulosas (Waldron y Selvendran, 1992; Southgate, 1991).

Al analizar los datos de la tabla 2, se pudo confirmar que las fracciones que imparten menor fuerza a la pared celular (CDTA 2+19 h) son menos abundantes en la variedad tolerantes Mayocoba y más abundantes en la variedad susceptibles Negro Jamapa, mientras que las fracciones que contribuyen a la mayor fuerza de la pared celular KOH 5 y 20% son más abundantes en las variedades tolerantes Flor de Mayo y Mayocoba y más escasas en Negro Jamapa y Bayo (tabla 11). Estos resultados nos sugieren que las variedades de frijol tolerantes a *Zabrotes subfasciatus* podrían tener una pared celular más fuerte que las variedades susceptibles. Porque como se mencionó antes, la abundancia de fracciones y el tipo de solvente con el que se extrae, tienen una relación directa con la interacción química y fuerza de la pared celular que se refleja en el tejido, en este caso en la testa del frijol. (Waldron *et al*, 2003; Rose, 2003; Southgate, 1991).

Para tener mejor información del tipo de polisacáridos solubilizados y su posible interacción en la PC; se caracterizaron químicamente las diferentes fracciones solubles de pared celular, mediante el análisis de su composición de ácido galacturónico (AG) y azúcares neutros (AN) (la abundancia de AN se obtuvo de la diferencia entre el contenido de azúcares totales (AT) y ácido galacturónico).

En las fracciones de pared celular agrupadas (tablas 12 y 13), se observó que las variedades de frijol Negro Jamapa y Bayo tienen la mayor concentración de ácido galacturónico en todas las fracciones y que Mayocoba es el que contiene menor cantidad. Además, se encontró que aún en las fracciones más fuertes (KOH 5 y 20 %), en donde ya no se esperaba tener grandes cantidades de AG por la distribución que se conoce de la pared celular en dicotiledóneas (Carpita y McCann, 2000); las variedades susceptibles tienen concentraciones considerables de este compuesto. Por otra parte, la abundancia de azúcares neutros fue mayor en todas las fracciones

para los frijoles tolerantes Flor de Mayo y Mayocoba con respecto a Negro Jamapa y Bayo (tabla 12).

TABLA 12. Composición de las medias entre las fracciones obtenidas de la testa de Pared Celular de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo-Mayocoba y susceptibles Negro Jamapa-Bayo a *Zabrotes subfasciatus* agrupadas por su fuerza de extracción.

VARIETADES	FLOR DE MAYO (g de fracción /100 g de testa)		MAYOCOBA (g de fracción /100 g de testa)		NEGRO JAMAPA (g de fracción /100 g de testa)		BAYO (g de fracción /100 g de testa)	
	AG	AN	AG	AN	AG	AN	AG	AN
Fracciones de Pared Celular								
CDTA 2 HRS +CDTA 19 HRS	1.7 ^{a*}	0.8 ^{a**}	0.72 ^b	0.74 ^a	2.19 ^c	0.32 ^b	2.60 ^d	0.56 ^c
CDTA 2 HRS+KOH 1%	5.8 ^a	3.18 ^a	1.68 ^b	2.92 ^a	5.31 ^a	0.69 ^b	5.96 ^a	1.85 ^c
KOH 5%+KOH 20%	3.4 ^a	11.5 ^a	2.0 ^b	11.1 ^a	4.13 ^c	8.03 ^b	3.09 ^a	7.79 ^b

* Medias con diferentes letras entre columnas de AG indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

** Medias con diferentes letras entre columnas de AN indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

Por otra parte, si se observa la relación AN/AG (tabla 13) se ve más claramente la mayor cantidad de AG de las variedades Negro Jamapa y Bayo en todas las fracciones; por ejemplo, en la fracción de KOH 5 y 20%, tienen una relación de 2 y 2.5 AN por un AG respectivamente, mientras que Flor de mayo y Mayocoba tienen 3.4 y 5.6 AN por un AG.

TABLA 13. Relación de azúcares neutros y ácido galacturónico de las medias entre la composición de las fracciones obtenidas de la testa de Pared Celular de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo-Mayocoba y susceptibles Negro Jamapa-Bayo a *Zabrotes subfasciatus* agrupadas por su fuerza de extracción.

VARIETADES	FLOR DE MAYO (g de fracción /100 g de testa)	MAYOCOBA (g de fracción /100 g de testa)	NEGRO JAMAPA (g de fracción /100 g de testa)	BAYO (g de fracción /100 g de testa)
	AN/AG	AN/AG	AN/AG	AN/AG
Fracciones de Pared Celular				
CDTA 2 HRS +CDTA 19 HRS	0.5 ^{a*}	1.03 ^b	0.1 ^c	0.2 ^d
CDTA 2 HRS+KOH 1%	0.6 ^a	1.7 ^b	0.1 ^c	0.3 ^d
KOH 5%+KOH 20%	3.4 ^a	5.6 ^b	1.9 ^c	2.5 ^d

* Diferentes letras entre columnas indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

Estos resultados indican que los polisacáridos que se están extrayendo de las variedades susceptibles son ricos en AG; mientras que en las variedades tolerantes son más abundantes en azúcares neutros. Esto fortalece la idea de que las variedades tolerantes, especialmente Mayocoba, tienen una pared celular más fuerte que las susceptibles. Pues se sabe que los polisacáridos ricos en AG son principalmente pectinas, las cuales generalmente se encuentran unidas a través de enlaces iónicos y puentes de hidrógeno, por lo tanto, son más fácilmente solubilizadas, sobre todo con agentes quelantes, pero también con agua (Waldron y Selvendran, 1992; Kon, 1968). Por otra parte, la relación de las pectinas con la fuerza de la pared celular se ha estudiado principalmente en tejidos en desarrollo y maduración de frutos y se ha observado una mayor concentración de pectinas en tejidos más suaves como los de frutos maduros que indican una relación directa entre la mayor abundancia de pectinas y menor dureza del tejido (Stolle-Smits et al, 1999).

Es importante señalar que las variedades más contrastantes, en cuanto a su pared celular, han sido la variedad tolerantes Mayocoba y la variedad susceptibles Negro Jamapa.

Para seguir con el análisis de los polisacáridos obtenidos de la PC de la testa de los frijoles examinados, se requería tenerlos sólidos y secos. Por eso, se precipitaron con etanol que es la forma usual de recuperar los polisacáridos de la solución (Southgate, 1991).

Las fracciones insolubles de pared celular de la testa, extraídas con CDTA fueron menos abundantes en frijol Bayo y más grande en Mayocoba. Las fracciones aisladas con KOH a diferentes concentraciones fueron más abundantes en la variedad Mayocoba sobre todo en las concentraciones de 5 y 20% de KOH y los valores más bajos los tuvo el frijol Bayo (tabla 14).

Por otra parte, al agrupar las fracciones por su fuerza de extracción, se observó (tabla 15) que las que imparten menor fuerza a la pared celular (CDTA 2+19 h) son más abundantes en la variedad susceptibles Negro Jamapa y sorprendentemente menos abundantes en frijol Bayo, esto último se pudo explicar porque el rendimiento de la precipitación fue muy bajo, pues sólo se recuperó el 31% de la fracción soluble cuantificada químicamente (tabla 16), lo que significa que realmente no se extrajo menos cantidad de esta fracción, sino que se perdió en el sobrenadante.

TABLA 14. Comparación de las medias entre las diferentes fracciones insolubles de Pared Celular obtenidas de la testa de las variedades de frijol comerciales resistentes Flor de Mayo-Mayocoba y sensibles Negro Jamapa-Bayo a *Zabrotes subfasciatus*.

Fracciones de Pared Celular	Peso seco en gramos/100 g de testa			
	FLOR DE MAYO	MAYOCOPA	NEGRO JAMAPA	BAYO
CDTA 2 hrs.	0.27 ^{a*}	0.54 ^b	0.39 ^c	0.30 ^a
CDTA 19 hrs.	0.99 ^a	0.81 ^b	1.01 ^a	0.56 ^c
CDTA 2 hrs.	0.74 ^a	1.11 ^b	0.78 ^a	0.34 ^c
KOH 1%	5.67 ^a	1.71 ^b	4.94 ^a	5.21 ^a
KOH 5%	4.46 ^a	5.12 ^b	4.23 ^a	3.01 ^c
KOH 20%	6.79 ^a	9.9 ^b	6.68 ^a	5.97 ^a
Residuo	21.32 ^a	19.19 ^a	16.74 ^b	21.32 ^a

* Medias con diferentes letras entre columnas indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

Las fracciones de fuerza intermedia son más abundantes en Flor de Mayo, aunque Negro Jamapa y Bayo no fueron estadísticamente diferentes. Mientras que las fracciones que contribuyen a una mayor interacción química y fuerza de la pared celular KOH 5 y 20% son más abundantes en la variedad tolerantes Mayocoba.

TABLA 15. Comparación de las medias entre las fracciones insolubles obtenidas de la testa de Pared Celular de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo-Mayocoba y susceptibles Negro Jamapa-Bayo a *Zabrotes subfasciatus* agrupadas por su fuerza de extracción.

Fracciones de Pared Celular	Peso seco en gramos/100 g de testa			
	FLOR DE MAYO	MAYOCOPA	NEGRO JAMAPA	BAYO
CDTA 2 hrs.+ CDTA 19 hrs	1.26 ^{a*}	1.35 ^a	1.4 ^a	0.86 ^b
CDTA 2 hrs+KOH 1%	6.41 ^a	2.82 ^b	5.72 ^a	5.55 ^a
KOH 5% + 20%	11.25 ^a	15.02 ^b	10.91 ^a	8.98 ^c
Residuo	21.32 ^a	19.19 ^a	16.74 ^b	21.32 ^a

* Medias con diferentes letras entre columnas indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

Por último el residuo, que es la parte de la PC que tiene mayor interacción química y le da mayor fuerza, está formado principalmente por celulosa. El valor de residuo más alto se obtuvo en Flor de Mayo, aunque de manera inesperada Bayo tuvo la misma cantidad de residuo y Negro Jamapa, como se esperaba, tuvo la menor cantidad de residuo.

Al comparar los resultados de la tabla 2 con la 6, se pudo observar (tabla 16) que la cantidad de las fracciones de polisacáridos que se precipitaron con etanol fueron menores que las solubles, sobre todo en las fracciones de CDTA 2 + 19 horas en donde, con excepción del frijol Mayocoba, se obtuvieron bajos porcentajes de recuperación, siendo el más drástico para Bayo. Esto pudo deberse a que el tamaño de los polisacáridos solubles era pequeño y/o existían también oligosacáridos y monosacáridos; pues se sabe que con EtOH al 85%, no precipitan oligosacáridos o polisacáridos de bajo peso molecular (Southgate, 1991). El alto porcentaje de recuperación en las otras dos fracciones donde los polisacáridos extraídos tienen una mayor estructuración y por lo tanto un alto peso molecular, confirmarían lo señalado anteriormente (tabla 16). Por otra parte, el hecho de que en Mayocoba se recuperara casi el 100% de la fracción de CDTA 2 + 19 horas nos indica que sus polisacáridos que la forman serían de alto peso molecular y/o que no sufrió una hidrólisis durante la extracción, lo que implicaría una fracción de pectinas con mayor interacción química.

TABLA 16. Porcentaje de recuperación de las diferentes fracciones solubles cuantificadas químicamente después de precipitarlas con etanol al 85% obtenidas de la testa de Pared Celular de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo-Mayocoba y susceptibles Negro Jamapa-Bayo a *Zabrotes subfasciatus* agrupadas por su fuerza de extracción.

Porcentaje de Recuperación de Fracciones				
Fracciones de Pared Celular	FLOR DE MAYO	MAYOCOBA	NEGRO JAMAPA	BAYO
CDTA 2 hrs.+ CDTA 19 hrs	50	96	46	31
CDTA 2 hrs+KOH 1%	97	60	93	86
KOH 5% + 20%	73	100	96	77

Debido a la pérdida de azúcares por la precipitación con etanol era importante determinar si los polisacáridos precipitados eran diferentes a los solubles; por eso se realizó el análisis de la composición química de las fracciones insolubles agrupadas por su fuerza de extracción. Los resultados obtenidos mostraron que, las variedades tolerantes Flor de Mayo y Mayocoba tienen una alta concentración de AN en la fracción más débil, extraída con CDTA; mientras que las variedades susceptibles son abundantes en AG en la misma fracción incluyendo CDTA-KOH 1%, que es más fuerte que la primera (tabla 17).

TABLA 17. Composición de las medias entre las fracciones insolubles obtenidas de la testa de Pared Celular de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo-Mayocoba y susceptibles Negro Jamapa-Bayo a *Zabrotes subfasciatu* agrupadas por su fuerza de extracción.

VARIETADES	FLOR DE MAYO (ug de fracción /mg de fracción)		MAYOCOBA (ug de fracción /mg de fracción)		NEGRO JAMAPA (ug de fracción /mg de fracción)		BAYO (ug de fracción /mg de fracción)	
	AG	AN	AG	AN	AG	AN	AG	AN
Fracciones de Pared Celular								
CDTA 2 HRS +CDTA 19 HRS	298 ^{a*}	702 ^{a**}	525 ^b	475 ^b	708 ^c	292 ^c	705 ^c	295 ^c
CDTA 2 HRS+KOH 1%	578 ^a	422 ^a	663 ^a	337 ^b	824 ^b	176 ^c	825 ^b	175 ^c
KOH 5%+KOH 20%	338 ^a	662 ^a	310 ^a	690 ^a	492 ^b	508 ^b	372 ^a	628 ^a

* Medias con diferentes letras entre columnas de AG indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

** Medias con diferentes letras entre columnas de AN indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

Es importante señalar que en las variedades tolerantes existe mayor cantidad de AG que de AN en la fracción CDTA-KOH1% aunque siguen siendo menores que las variedades susceptibles. Por último, la composición de la fracción más fuerte de la PC (KOH 5 y 20%) fue rica en AN en las cuatro variedades de frijol, teniendo la mayor cantidad la variedad Mayocoba.

Por otra parte, al analizar la relación de AN/AG (tabla 18), se pudo observar mejor lo siguiente: a) la variedad Flor de Mayo tiene una gran cantidad de AN en la fracción de pectinas, es decir, que posiblemente tiene una pectina altamente ramificada. Esto se confirmó al analizar el contenido de azúcares neutros en esta fracción (figura 8); b) que la variedad Negro Jamapa tiene una relación mayor de AU en todas las fracciones; c) que Mayocoba junto con Flor de Mayo tienen mayor cantidad de AN que las variedades susceptibles y d) que el contenidos de AN, en la fracción más fuerte, es mayor para la variedad tolerantes Mayocoba y menor para la variedad sensible Negro Jamapa.

TABLA 18. Relación de azúcares neutros y ácido galacturónico de las medias entre la composición de las fracciones insolubles obtenidas de la testa de Pared Celular de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo-Mayocoba y susceptibles Negro Jamapa-Bayo a *Zabrotes subfasciatus* agrupadas por su fuerza de extracción.

VARIEDAD	FLOR DE MAYO	MAYOCOBA	NEGRO JAMAPA	BAYO
UNIDADES	(ug de fracción/mg de fracción)			
Fracciones de Pared Celular	AN/AG	AN/AG	AN/AG	AN/AG
CDTA 2 hrs + 19 hrs	2.36 ^{a*}	0.90 ^b	0.41 ^c	0.42 ^c
CDTA 2 hrs + KOH 1%	0.73 ^a	0.50 ^b	0.20 ^c	0.21 ^c
KOH 5% + KOH 20%	1.96 ^a	2.23 ^a	1.03 ^b	1.69 ^c

* Medias con diferentes letras entre columnas indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

Lo que se observó al comparar la composición de las fracciones solubles y precipitadas, es que en algunos casos, sufrieron cambios en su composición y que estos fueron debidos principalmente a las pérdidas de azúcares de bajo peso molecular que no pudieron precipitar y se quedaron en el sobrenadante.

Por ejemplo, en la fracción de pectinas (CDTA 2 + 19 hrs.) del frijol Mayocoba que prácticamente obtuvo el 100% de recuperación de la fracción, su composición fue básicamente la misma (comparar tablas 13 vs 18), mientras que en la variedad Bayo, que tuvo un 31% de recuperación de esta misma fracción, la composición si cambio, pues paso de tener una relación de 1 AN vs 5 AG en la fracción soluble a 1 AN vs 2 AG en la precipitada, es decir, que se perdió principalmente AG. Esto sugiere que una fracción rica en AG se hidrolizó durante la extracción, disminuyendo su peso molecular y por eso no precipito, lo que es una señal de su baja estructuración. Esto misma tendencia se observó en la variedad Negro Jamapa, pero el cambio fue más drástico, pues paso de una relación de 1 AN vs 10 AG a 1 AN vs 2 AG (comparar tablas 13 vs 18), lo que nos esta indicando una fracción poco estructurada y más frágil que la de Bayo. Esto se pudo confirmar al analizar la composición de la fracción de CDTA 2 + KOH 1% en donde se observó una pérdida considerable de AG en la variedad Negro Jamapa pero en Bayo ya no. Estos resultados confirman que la PC de la testa de Negro Jamapa tiene menos interacción

química y por lo tanto menos fuerte que las otras variedades. Mientras que la PC con más interacción química sería la de Mayocoba.

Para complementar la información que nos permitiera inferir la interacción química de los componentes de la pared celular de la testa de las diferentes variedades de frijol, se realizó la identificación de los azúcares presentes en las fracciones precipitadas.

Los resultados obtenidos mostraron lo siguiente:

a) que las variedades susceptibles tienen un alto contenido de homogalacturonano en todas las fracciones, incluida la que tiene más interacción química que es la de KOH 5 + 20%, en donde se encontró hasta un 50% de este polisacárido en la variedad Negro Jamapa (figura 13). Mientras que en las otras dos fracciones CDTA 2 + 19 hrs (figura 11) y CDTA 2 + KOH 1% (figura 12), se encontró 70 y 82 % de homogalacturonano respectivamente. Estos datos refuerzan la idea de que la PC de la testa de Negro Jamapa tiene una menor interacción química que las otras variedades lo que la hace más fácil de ser atacada por *Z. subfasciatus* y esto se refleja en su mayor susceptibilidad.

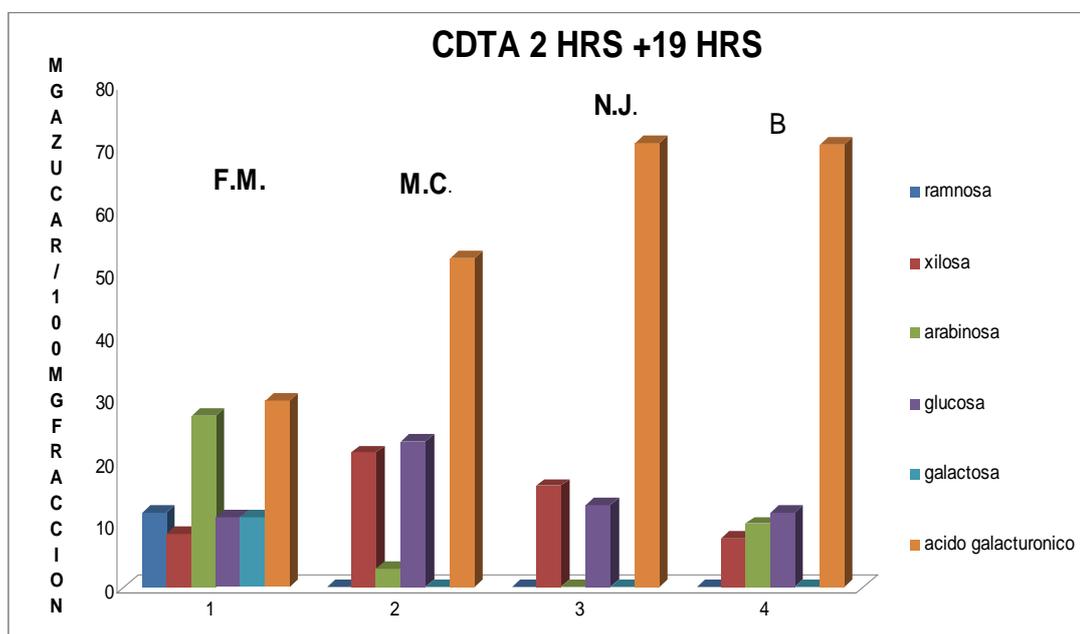


FIGURA 11. Composición de azúcares neutros y ácido galacturónico de las fracciones insoluble de CDTA 2 hrs + CDTA 19 hrs obtenidas de la PC de testa de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo (FM) y Mayocoba (MC) y susceptibles Negro Jamapa (NJ) y Bayo (B) a *Zabrotes subfasciatus*.

b) las variedades tolerantes tienen Ramnogalacturonano I (figuras 8-10), indicado por la presencia de ramnosa y ácido galacturónico que forman la cadena principal del polisacárido y arabinosa y galactosa unidos como cadenas laterales.

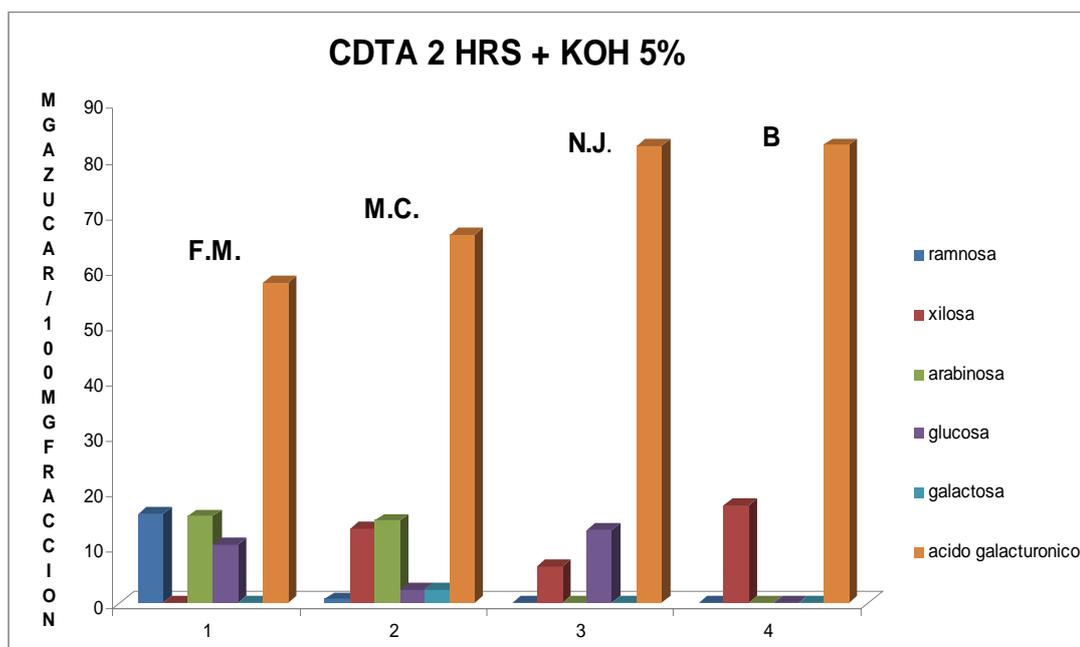


FIGURA 12. Composición de azúcares neutros y ácido galacturónico de las fracciones insoluble de CDTA 2 hrs + KOH 1% obtenidas de la PC de testa de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo (FM) y Mayocoba (MC) y susceptibles Negro Jamapa (NJ) y Bayo (B) a *Zabrotes subfasciatus* (Boheman).

Esto es relevante porque se ha demostrado que la presencia de este polisacárido, en especial por sus cadenas laterales de galactosa, imparte una mayor fuerza a la pared celular, debido a una mayor estructuración de estos azúcares con las fracciones de hemicelulosa e incluso celulosas (Pérez-Almeida y Carpita, 2006; Willats *et al*, 2001; Stolle-Smit *et al*, 1999). Es importante señalar que en Flor de Mayo se detectó este polisacárido en las fracciones de CDTA 2 + 19 hrs (figura 11) y CDTA 2 + KOH 1% (figura 12), mientras que en Mayocoba se detectó en la fracción de CDTA 2 + 19 hrs (figura 11) e incluso en la de mayor fuerza KOH 5 + 20% (figura 13), lo que nos sugiere una mayor interacción química de la PC de esta variedad. Esta mayor interacción química se refleja en una mayor dureza de la testa y a su vez en una mayor tolerancia al ataque de *Z. subfasciatus*.

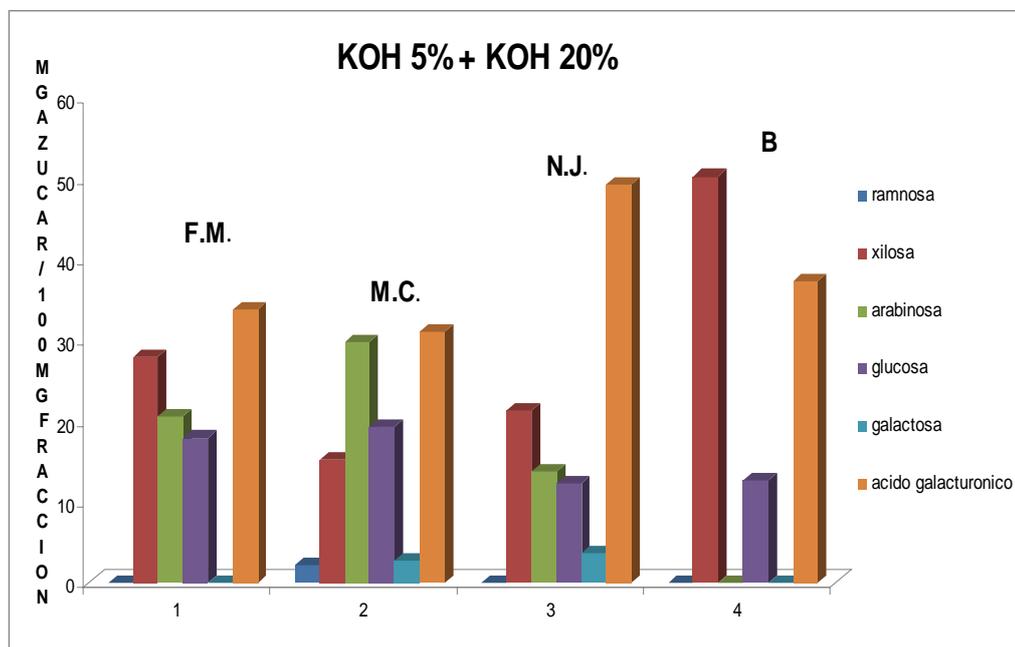


FIGURA 13. Composición de azúcares neutros y ácido galacturónico de las fracciones insoluble de KOH 5% + KOH 20% obtenidas de la PC de testa de las variedades de frijol comerciales tolerantes Flor de Mayo (FM) y Mayocoba (MC) y susceptibles Negro Jamapa (NJ) y Bayo (B) a *Zabrotes subfasciatus* (Boheman).

5. CONCLUSIONES

- La facilidad de extracción de la pared celular de la testa de frijoles susceptibles al ataque de *Zabrotes subfasciatus* es mayor a la de frijoles tolerantes.
- La extracción de la pared celular de la testa de frijol Negro Jamapa fue más fácil que la de las otras variedades.
- La pared celular de la testa del frijol Mayocoba fue la más difícil de fraccionar de las variedades evaluadas.
- La pared celular de la testa de los frijoles mayo coba y Negro Jamapa tuvieron la mayor y la menor interacción química respectivamente de las variedades evaluadas.
- Por lo tanto, se puede inferir que si existe una relación entre la interacción química de los componentes de la pared celular de la testa de los frijoles evaluados y el grado de tolerancia al ataque del gorgojo del frijol *Zabrotes subfasciatus*.

6. RECOMENDACIONES

- Para continuar con la caracterización de los polisacáridos que forman la pared celular de la testa de las diferentes variedades de frijol sería importante analizarlos por medio de:
 - a) Cromatografía de permeación en gel y de intercambio iónico.
 - b) Además de realizar el análisis de los enlaces glicosídicos de las fracciones seleccionadas
- Teniendo en cuenta que la pared celular esta formada por otros componentes (proteínas, taninos y ligninas) que son minoritarios pero pueden influir en su interacción química, sería importante cuantificarlos y evaluar si existen diferencias entre los materiales con que se trabajaron.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Allen, O. y Allen, E. (1981). The Leguminosae a source book of characteristics, uses and nodulation. University of Wisconsin Press, USA. 812 pp.
2. Anderson J. W. y Beardall (1991). Molecular Activities of Plant Cells. Blackwell Scientific Publications. London, Great Britain. 384 pp.
3. Aspinall, G.O. (1980). Constitution of plant cell wall polysaccharides. In : J. Mac Millan (Ed.) Encyclopedia of Plant Physiology 13:1-13
4. Arias C. (1993). Manual de Manejo Poscosecha de granos a nivel rural. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Oficina para América Latina y el Caribe; Santiago Chile. Departamento de Agricultura. URL:(a)<http://www.fao.org/docrep/X5027S/x5027S01.htm#Composicion%20quimica%20del%20grano>.
5. Blancas Morales Victor H. (2001). Estudio de las modificaciones en la pectina que ocurren durante el remojo de las semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris*). Tesis. Facultad de Química. UNAM. 52 pp.
6. Blumenkrantz N. y Asboe-Hansen G. (1973). New method for quantitative determination of uronic acids. Analytical Biochemistry, 54: 484-489 .
7. Bravo, L., P. Siddhuraju, and F. Saura-Calixto. (1998). Effect of various processing methods on the *in vitro* starch digestibility and resistant starch content of indian pulses. J. Agric. Food Chem. 46: 4667-4674.
8. Bennet, A.B., Rose J.K.C. (1999). Cooperative disassembly of the cellulose-xyloglucan network of plant cell-walls: parallels between cell expansion and fruit ripening. Trends Plant Sci. 4(5): 176-183.
9. Carpita, N. C. (1990). The chemical structure of cell walls of higher plants. En D: Kritchevsky; C. Bonfield; J. W. Anderson (Eds.) Dietary Fiber. Plenum Press. N. Y. United States of America. p 15-30.
10. Carpita N. and Gibeaut D. (1993). Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. The plant Journal. 3 (1): 1-30.

11. Carpita N. McCann. (2000). The cell wall. In *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. Eds. Buchanan B. Gruissem W. Jones R., American Society of Plant Physiology, USA. Pp. 52-108.
12. Cornejo-Villegas (1993). *Alternativas en la producción de tempeh con diferentes variedades de frijol de consumo nacional*?. Tesis. FES Cuautitlán UNAM.
13. Cosgrove, D.J. (1997). Assembly and enlargement of the primary cell wall in plants. *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* 13: 171-201.
14. Crescenzi V., I. DEA, S. Paoletti, S. Stivala and Sutherland I. (1988). Biomedical and biotechnological advances in industrial polysaccharides. Gordon and Breach Science Publishes, USA. Pp. 447-449. In *Models from hydrogen bonding in polysaccharides*. Jeffrey G.A.
15. Darvill, A. G., Albersheim, P., Mc Neil, M., Lau, J.M., Yorks, W:S., Stevenson, T.T., Thomas, J., Doares, S., Gollin, D.J., Chelf, P., Davis, K. (1985). Structure and function of plant cell wall polysaccharides. In: K Roberts, A. W. B. Johnston, C. W. Lloyd, P. Shaw, H. W. Woolhouse (Eds.) *The cell surface in plant growth and development*. *J. cell Sci. (Supplement 2)*, Cambridge. p 203-218.
16. Darvill, J. E., Mc neil, M., Darvill, M., Albersheim, A.G., Delmer, D. P. (1980). The primary cell walls of flowering plants. In: N.E. Tolbert (Ed.) *the biochemistry of plants*, Vol. 1. Academic Press, N.Y., USA. p. 92-162.
17. Dekker, R. F. H. (1979). The hemicellulase group of enzymes. En: J.M.V. Blanshard; J. R: Mitchell (Eds.). *Polysaccharides in Food*. Butterworths. London, Great Britain. P. 93-108.
18. Dubois M., Gilies K., Hamilton J., Rebers P., Smith F. (1956). Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3):350-356.
19. FAO 1990–2000. *Situación actual y perspectiva de la producción de Frijol en México*. www.fao.org
20. FAO (1970). *Contenido de aminoácidos de los alimentos y datos biológicos sobre las proteínas*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

21. F. de León, L., Bressani R. y G. Elías Luiz. (1989). Efecto de la cáscara sobre el mecanismo de endurecimiento del frijol común (*Phaseolus vulgaris*). Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 3 (39):405-417.
22. Fry, S.C. (1988). The growing plant cell wall: chemical and metabolic analysis. De Logman Scientific and Technical 9.102-112.
23. Fry, S.C. (1986). Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. Annual Review of Plant Physiology 37: 165-186.
24. García H.E. R., Peña-Valdivia, C.B. (1995). La pared celular. Componentes fundamentales de las células vegetales. 1a ed. UACH. México. 96 pp.
25. Gatehouse Angharad M. R., Philip Dobie, Richard J. Hodges, Julie Meik, Arpad Pusztai and Donald Boulter (1987). Role of Carbohydrate in insect resistance in *Phaseolus vulgaris*. J. Insect Physiol. Vol. 33, No. 11. 843-850.
26. González Iniestra J.L.; Pérez Ibarra F.J.; Guzman Rocha N.E.; Infante Gallegos J.A.; Laredo Gonzalez R.F. (2005). **Factores Antinutricios y Actividad oxidante en variedades mejoradas de frijol común (*Phaseolus vulgaris*)**. Agrociencia ISSN 1405-3195. Vol. 39 N0.6. 603-610. URL:http://biblioteca.universia.net/html_bura/ficha/params/id/2090690.html
27. Goodwin, T. W.; E. I. Mercer (1990). Introduction to plant biochemistry. Pergamon Press. Oxford, England. 677 pp.
28. Hudson, J. M., Buesscher, R. W. (1986). Relationship between degree of pectin methylation and tissue firmness of cucumbers pickles. J. Food Sci. 51, 138-149.
29. Iiyama, K.; T. Bahc-Tuyet; B. A. Stone. (1994). Covalent cross-links in the cell wall. Plant Physiology 104:315-320.
30. Jarvis, M. C. (1982). The proportion of calcium-bound pectin in plant cell walls. Planta 154:344-346.
31. James Aduke (1981) Hand-book of legumes of world economic importanc. Plendum Press; N.Y.
32. Kato, K. (1980) Ultrastructure of the plant cell wall: biochemical viewpoint. J. MacMillan (Ed.). Vol. 13. Encyclopedia of Plant Physiology. p. 29-46.

33. Kon S. (1968). Pectic substance of dry beans and their posible correlation with cooking time. *Journal of Food Sciencie*. 33: 437-438.
34. Kluh Ivan, Martin Horn, Jana Hýblová, Jan Hubert, Lucie Doleckova-Maresová, Zdenek Voburka, Ivan Kudlíková, Frantisek Kocourek, Michael Mares (2004). Inhibitory specifcity and insecticidal selectivity of α -amylase inhibitor from *Phaseolus vulgaris*. *Phytochemystry* 66 (2005) p. 31-39.
35. León R.A.; Angulo I.; Jaramillo M.; Requena F. y Calabrese H. (1993). Caracterización química y valor nutricional de graos de leguminosas tropicales para la alimentación de aves. FONA IAP-CENIAP. *Zootecia Tropical*. Vol. 11(2) 151-170.
URL:<http://www.ceniap.gov.ve/pbd/RevistasCientificas/ZootecniaTropical/zt1102/texto/granosdeleguminosas.htm>
36. Liu Keshun (1995). Cellular, Biological, and Physicochemical Basis for the Hard-To-Cook Defect in Legume Seeds. *Critical Reviews of Food Science and Nutrition*. 35:263-298.
37. Macedo R. M. Ligia, Machado F. M. G., Camillo N. J. y Maragoni S. (2002). Talisia esculenta lectin and larval development of *Callosobruchus maculatus* and *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Biochimica et Byophysica Acta*. 1571:83-88.
38. McDougall G., Morrison I., Stewart D., and Hulmán J. (1996). Plant cell walls as dietary fibre: range, structure, processing and function. *Journal Science Food Agriculture*. 70: 133-150.
39. Mc Feeters, R. F., Armstrong, S.A. (1984). Measurement of pectin methylation in plant cell walls . *Anal. Bioche*. 4: 1-16.
40. McNeil, M., Darvill, A.G., Fry , S. C., Alberheim, J.B. (1984). Structure and fuction of the primary cell walls of plants. *Annual Review Plant Biochemistry* 53: 625-663.
41. Méndez Vega Roberto F. (2002). Influencia del remojo en las pectinas de la lamina media del cotiledón de los frijoles (*Phaseolus vulgaris*). Tesis. Facultad de Química. UNAM. México. 63 pp.

42. Moreno Casasola Patricia. Vida y obra de Granos y Semillas. Ciencia. Vol. 3. URL:http://omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/146/htm/sec_5.htm
43. O'Nelly, M.; P. Albersheim; a. Darvill. (1990). The pectic polysaccharides of primary cell walls. In: P. M. Dey; J. B. Harbone (eds.). Methods in Plant Biochemistry. Academic Press, New York, Unites States of America 2: 415-442.
44. Osborn T. C., Burow M. and Bliss F. A. (1988). Purification and characteristics of arcelin seed protein from common bean. Plant Physiol. 86, 399-405.
45. Peña-Valdivia, C. B.; M. L. Ortega-Delgado. (1984). Unavailable carbohydrates in common bean cotyledon (*Phaseolus vulgaris L.*) Canario group. Qualitas Plantarum Plant Foods fro Human Nutrition 34: 87-95.
46. Peña-Valdivia, C. B.; M. L. Ortega-Delgado. (1986). Partial chemical composition, free soluble sugars and unavailable carbohydrates in the embrionic axis and seed coat of (*Phaseolus vulgaris L.*) Canario Group. Qualitas Plantarum Plant Foods for Human Nutrition 36: 27-34.
47. Payan Francoise (2003). Structural basis for the inhibition of mammalian and insect α -amylases by plant protein inhibitors. Biochimica et Biophysica Acta Acta 1696:171-180.
48. Preston, R. D. (1979). Polissacharide conformation and cell wall function. Annual Review of Plant Physiology 30:55-78.
49. Pérez Almeida I. y Carpita C. N. (2006). Las β -Galactosidasas y la dinámica de la pared celular. Interciencia , Vol. 31, No. 7. Caracas.
50. Rose J. K. C., Catalán C., Gonzalez- Carranza, Z. Roberts, J. A. (2003). Cell wall disassembly. In the Plant Cell Wall. Ed. Rose JKC, Annual Plant Reviews, V. 8, Blackwell Publishing Ltd., UK. pp. 297-299.
51. SAGAR (2000). "Situación actual y perspectiva de la producción del frijol en México 1990-2000".
52. Silva Carlos P.; Walter R. Terra; Jose Javier-Filho, Maria F.; Grossi de Sá; Eliza M. Isejima; Rentao A. DaMatta; Flavio C. Miguens; Thais D. Bifano (2000). Digestion of legume starch granules by larvae *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera:

- Bruchidae) and the induction of α -amylases in response to different diets. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 31:41-50.
53. Situación actual y perspectiva de la producción de frijol en México 1990-2000. www.siea.sagarpa.gob.mx/publicaciones/archivos/frijol90-00.pdf
54. Selvendran, R. R. (1985). Developments in the chemistry and biochemistry of pectin and hemicellulosic polymers. In: K. Roberts, A. W. Johnston, C.W. Lloyd, P. Shaw, H. W. Woolhouse (Eds). "The cell surface in plant growth and development". *Journal Cell Science (Supplement 2)*, Cambridge. 51-88 pp
55. Serna S. S. R. O. (2001). Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. AGT. Editor S.A. México. p. 118.
56. Subramayan B.; Hagstrum D. W. (1996). Integrated Management of insects in stored products. Marcel Dekker, Inc. New York. Basel. Hong Kong. pp. 9-13
57. Showalter, A. M. (1993). Structure and function of plant cell wall proteins. *Plant Cell* 5: 9-23.
58. Stolle-Smits, T., Brkhuizen, G., Kok, M.T.C., Pijnenburg, M., Recourt, K., Derksen, J., Voragen, A.G. J. (1999). Changes in cell wall polysaccharides of green bean pods during development. *Plant Physiol.* 121: 363-37.
59. Solorzano-Vega, E. (1994). El cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris L.*). Ed. Univ. De Chapingo, México.
60. Soriano Bello Eva L. (2006). **El uso del frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*) como planta medicinal.** Tesina de Diplomado de Tlahui-Educa. México. URL: <http://www.tlahui.com/medic/medic21/frijol.htm>
61. Sotelo A.; Mendoza J.; Agrote R. M. (2002). **Contenido de ácido fítico en algunos alimentos crudos y procesados. Validación de un método colorimétrico.** *Journal of the Mexican Chemical Society. Sociedad Química de México.* Vol 46. No. 4. México. 301-306. URL: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/475/47546402.pdf>
62. Southgate D. A. T. (1991). Determination of food carbohydrates. Elsevier Applied Science. Second Edition London and New York. pp. 1-194

63. Talbott, L. D., Ray, P.W. (1992). Molecular size and separability features of pea cell wall polysaccharides. Implication from models of primary wall structure. *Plant Physiol.* 98: 357-368.
64. Thompson E. and Fry C.(2000). Evidence for covalent linkage between xiloglucano and acidic pectins in suspension-cultured rose cell. *Planta.* 211: 275-286.
65. Villaseñor, Valenzuela J. A. Y Vera G. J.(1992). La testa del frijol de la variedad Negro Jamapa como defensa contra el ataque de *Zabrotes subfaciatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Agrociencia. Serie Protección Vegetal* (3): 39-49.
66. Waldron K. W. and Seveldran R. R. (1992). Cell wall changes in matures asparagus stem tissue after excision. *Phyochemistry*, Vol. 31, No. 6. pp. 1931-1940.
67. Waldron, K.M., Parkes, M. L., Smith, A. C. (2003). Plant cell walls and food quality. *Comprehesive Reviewa in Food Sciencie and Food Safety.* 2: 101-119.
68. Willats W. G. T., Mccartney L., Mackie W. and Knox J. P. (2001). *Plant Molecular Biology.* 47: 9-27.

Referencias de Internet

69. www.chinabiodiversity.com/search/aspecies/eng...
70. (a)http://www.inta.gob.ni/informacion_postcosecha/capacitaciones_tecnicas/publicaciones/cereales_leguminosas/main.htm
71. (b)http://www.inta.gob.ni/informacion_postcosecha/capacitaciones_tecnicas/publicaciones/insectos/index.html
72. (c)http://www.inta.gob.ni/informacion_postcosecha/capacitaciones_tecnicas/publicaciones/factores_fisicos/main.htm
73. <http://www.sdnhm.org/education/binational/curriculum/semillas/act1estructura.html>
74. SAGARPA (2005). Servicio de información y estadísticas agroalimentaria y pesquera (SIAP), con información de las delegaciones de la SAGARPA en los estados”. <http://www.sagarpa.gob.mx>

-
75. SAGARPA. “Servicio de información y estadísticas agroalimentaria y pesquera (SIAP), con información de las delegaciones de la SAGARPA en los estados 2007”. <http://www.sagarpa.gob.mx>.
76. www.siea.sagarpa.gob.mx
77. http://www2.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222002000200009&lng=es&nrm=is