



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN**

**ALMACENAMIENTO HERMÉTICO DE GRANO DE
FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) INFESTADO CON EL
GORGOJO *Acanthoscelides obtectus* SAY.**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERA EN ALIMENTOS
P R E S E N T A:
L U C I A C E B A L L O S A R R I A G A

ASESOR: DR. ERNESTO MORENO MARTÍNEZ



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.

Agradezco a mis padres por estar conmigo siempre, porque sin la formación que me dieron y sin su apoyo yo no hubiera llegado hasta aquí, ya que el adulto que ahora soy, esta influenciado en gran parte de sus enseñanzas.

A mis hermanos y a mi marido porque me han dado ese empujoncito que necesito como aliento para seguir adelante; cuando pensé que no podía más, ellos siempre creyeron lo contrario.

Doy gracias a la Directora Suemi Rodríguez Romo, por confiar en mi voz de estudiante y por colocarme en un proyecto para poder titularme de forma correcta y obtener así mi título de Ingeniera en Alimentos.

Al Doctor Ernesto Moreno Martínez, por creer en mí y por ingresarme a su equipo de trabajo, para demostrar mis conocimientos y mi perseverancia. También agradezco al proyecto PAPIIT con título “Validación en campo del silo hermético UNAM para granos básicos” con clave de registro IN209207, por el financiamiento de mi trabajo de tesis.

A Marco Antonio García Perea, que siempre ha estado ahí para resolver los problemas que surgieron en la realización de mi tesis, por aguantarme todo este tiempo y por hacer un espacio en sus actividades diarias, solo para que yo alcanzara mi meta de ser una ingeniera. En verdad no tengo palabras para agradecer todo el apoyo que me ha dado.

Gracias a todos mis maestros, a mis sinodales, a mis compañeros de la generación 26 de Ingeniería en Alimentos y a la UNAM, porque esta época de mi vida ha sido la mejor.

Por ahí dicen que lo que en verdad vale la pena no es fácil y en particular obtener mi título ha sido toda una proeza, pero todo esto deja muchas enseñanzas y ganas de salir siempre adelante.

LUCIA CEBALLOS

Índice.....	i
Índice de cuadros.....	iii
Índice de figuras.....	iv
Resumen.....	v

Índice

1. Introducción.....	1
2. Objetivos	
2.1 Objetivo general.....	3
2.2 Objetivos Particulares.....	3
2.3 Hipótesis.....	3
3. Antecedentes	
3.1 Frijol.....	4
3.2 Importancia del frijol en México.....	5
3.3 Especificaciones de calidad del frijol.....	6
3.4 Almacenamiento.....	9
3.4.1 Humedad.....	11
3.4.2 Temperatura.....	12
3.4.3 Fumigación y aplicación de insecticidas.....	13
3.4.4 Almacenamiento abierto.....	14
3.4.5 Almacenamiento hermético.....	16
3.4.5.1 Principio del almacenamiento hermético.....	17
3.4.5.2 Primeras estructuras del almacenamiento hermético..	18
3.5 Pérdida de granos durante el almacenamiento.....	18
3.6 Efectos de las condiciones de almacenamiento sobre el frijol.....	19
3.7 Hongos en leguminosas.....	21
3.7.1 Hongos de campo.....	22
3.7.2 Hongos de almacén.....	22
3.7.3 Daños de hongos en semillas.....	23
3.8 Insectos que dañan al frijol.....	24
3.8.1 <i>Acanthoscelides obtectus</i> Say.....	25
3.8.1.1 Etapas de desarrollo.....	26
3.8.1.2 Daños del frijol por <i>A. obtectus</i>	28

4. Material y métodos	
4.1 Ubicación del experimento.....	29
4.2 Material de experimentación.....	29
4.3 Cuadro metodológico.....	30
4.4 Descripción de técnicas a aplicar	
4.4.1 Prueba de germinación.....	31
4.4.2 Determinación de micobiota.....	31
4.4.3 Ajuste de humedades 8%,10% y 12%.....	33
4.4.4 Propagación de los insectos.....	34
4.4.5 Establecimiento del experimento.....	35
4.4.6 Determinación de humedad.....	35
4.4.7 Evaluación de oxígeno y bióxido de carbono en la atmósfera de almacenamiento hermético.....	36
4.4.8 Mortalidad.....	37
4.4.9 Emergencia.....	37
4.4.10 Daño en el grano.....	38
4.4.11 Daño interno.....	38
5. Diseño experimental	
5.1 Variables de estudio.....	39
6. Resultados y análisis de resultados	
6.1 Prueba de germinación.....	40
6.2 Micobiota del grano.....	41
6.3 Efectos de los contenidos de humedad del grano.....	42
6.4 Efecto del almacenamiento hermético.....	43
6.5 Mortalidad de los insectos.....	47
6.6 Emergencia de los insectos.....	49
6.7 Frijol dañado.....	52
6.8 Daño interno.....	55
7. Conclusión.....	58
8. Bibliografía.....	59
9 Anexos.....	67

Índice de cuadros

Cuadro 1. AQP general del frijol.....	7
Cuadro 2. AQP de las variedades de frijol.....	8
Cuadro 3. Aporte Nutricional del frijol representado en miligramos.....	8
Cuadro 4. Construcciones de almacenes abiertos.....	15
Cuadro 5. Sales para ajustar el contenido de humedad del grano de frijol.....	34
Cuadro 6. Porcentajes de germinación del lote experimental del grano.....	40
Cuadro 7. Disminución en la concentración de oxígeno durante 35 días de almacenamiento hermético, en tres contenidos de humedad del grano de frijol. (Tomando como base 20.9% de O ₂ al inicio del experimento).....	44
Cuadro 8. Bióxido de carbono producido por la actividad de respiración dentro del almacenamiento hermético durante 35 días en grano de frijol con tres contenidos de humedad. (Tomando como base 0.03% de CO ₂ al inicio del experimento).....	46
Cuadro 9. Mortalidad de <i>A. obtectus</i> en frijol durante 35 días de almacenamiento hermético y abierto, en tres contenidos de humedad.....	48
Cuadro 10. Número de insectos <i>A. obtectus</i> que emergieron en frijol durante 35 días de almacenamiento hermético y abierto, en tres contenidos de humedad.....	50
Cuadro 11. Porcentaje de frijol dañado por la emergencia de <i>A. obtectus</i> durante 35 días de almacenamiento hermético y abierto, en tres contenidos de humedad del grano de frijol.....	53
Cuadro 12. Porcentaje de daño interno en el grano de frijol en tres contenidos de humedad, durante 35 días de almacenamiento hermético.....	55

Índice de figuras

Figura 1. Plántula de frijol del género <i>Phaseolus vulgaris</i> L	4
Figura 2. Partes estructurales de la semilla de frijol.....	5
Figura 3. <i>Acanthoscelides Obtectus</i> Say en fase adulta.....	26
Figura 4. Etapas de metamorfosis del <i>A. Obtectus</i>	27
Figura 5. Cuadro metodológico de la experimentación.....	30
Figura 6. Etapas de crecimiento de <i>P. vulgaris</i>	31
Figura 7. Unidades experimentales selladas para el almacenamiento hermético....	35
Figura 8. Analizador digital de gases Illinois modelo 6600.....	37
Figura 9. Posición de semillas para la radiografía.....	38
Figura 10. Número de colonias del género <i>Fusarium</i> y <i>Alternaria</i> desarrolladas en la micobiota final.....	41
Figura 11. Contenido de humedad del grano de frijol durante el tiempo de almacenamiento.....	42
Figura 12. Disminución de la concentración de oxígeno y aumento en la concentración de bióxido de carbono en presencia de <i>A. obtectus</i> en contenidos de humedad 8%, 10% y 12% por un período de 35 días.....	46
Figura 13. Aumento de la mortalidad durante la experimentación de 35 días en almacenamiento abierto y hermético de frijol a tres diferentes contenidos de humedad.....	49
Figura 14. Emergencia de <i>A. obtectus</i> en frijol a tres diferentes contenidos de humedad bajo condiciones herméticas y abiertas durante un período de 35 días.....	51
Figura 15. Porcentaje de grano dañado por <i>A. obtectus</i> en frijol con tres diferentes contenidos de humedad durante un período de almacenamiento de 35 días.....	54
Figura 16. Daño producido por <i>A.obtectus</i> en la fase final de su desarrollo, representado por las cavidades de emergencia del adulto.....	54
Figura 17. Daño interno del grano a contenidos de humedad 8 %, 10 % y 12 % durante almacenamiento hermético por 35 días.....	56
Figura 18. Radiografía del grano, presenta siete larvas en el interior del grano.....	57

Resumen

El propósito de este trabajo fue determinar el papel del almacenamiento hermético sobre el grano de frijol infestado con *Acanthoscelides obtectus* Say, bajo tres diferentes contenidos de humedad 8, 10 y 12 %. Se comparó el efecto del almacenamiento hermético y abierto en relación al desarrollo de *A. obtectus*, para lograrlo se realizaron siete muestreos, uno cada cinco días con tres repeticiones, en total fueron 126 unidades experimentales. Se realizaron evaluaciones de germinación estándar, contenido de humedad, microbiota, niveles de oxígeno y bióxido de carbono, mortalidad de insectos, emergencia de insectos y porcentaje de grano dañado y daño interno de grano de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad mayocoba.

Para el sistema de almacenamiento hermético se sellaron frascos con parafilm, papel aluminio y cinco capas de cera caliente; dejando una parte plástica en la tapa para la toma de lecturas de las concentraciones de oxígeno y bióxido de carbono. Los cambios en la concentración de gases a causa de la respiración fue una de las causas de la mortalidad de los insectos durante el almacenamiento hermético, además de la desecación de etapas larvales en bajos contenidos de humedad. La emergencia por otro lado, juega un papel importante, ya que indica si las condiciones de almacenamiento son aptas para el desarrollo del gorgojo, el porcentaje obtenido fue directamente proporcional al daño interno y externo producido sobre el grano. Para obtener el porcentaje de grano dañado se hicieron conteos por unidad experimental de cada contenido de humedad y almacenamiento. Para observar el daño interno se realizaron radiografías del grano para detectar presencia de cavidades pupales en el interior realizadas por larvas del insecto dentro del grano.

Las mediciones de gases en las muestras herméticas, indicaron una disminución en la concentración de oxígeno, resultando el contenido de humedad de 12 % más representativa por el descenso del día 5 al 35 de 12.3 % a 1.6 %, indicando una mayor actividad de los insectos, por lo tanto también un aumento importante en la concentración de bióxido de carbono de 4.5 % a 8.5 %. La mortalidad al 100 % durante el almacenamiento hermético en el contenido de humedad de 12 % se presentó el día 25 con un 2.7 % de oxígeno y 8.2 % de bióxido de carbono. Para los contenidos de humedad de 8 % y 10 % la mortalidad al

100 % sucedió el día 20, la humedad de 8 % presentó una concentración de oxígeno de 8.6 % y 6.75 % de bióxido de carbono. En el contenido de humedad de 10 % la concentración de oxígeno fue de 2.5 % y 8.8 % de bióxido de carbono. Al día 10 de la experimentación no ocurrió emergencia de insectos en las humedades de 8 y 10 %, durante este día la concentración de oxígeno fue de 8.4 % y 6.8 % de bióxido de carbono en la humedad 8 % y en el contenido de humedad de 10 % se obtuvo una concentración de oxígeno de 3.7 % y de bióxido de carbono un 8.9 %. La humedad de 12 % no presentó emergencia de insectos a partir del día 25.

El almacenamiento hermético del grano de frijol infestado con *A. obtectus*, resulto ser viable para mantener al grano libre de daño físico al generar una atmosfera desfavorable para el desarrollo de los insectos. El almacenamiento hermético fue efectivo, al inactivar las larvas dentro de los granos, al llegar a 0 insectos emergidos para el día 10 en los contenidos de humedad de 8 y 10 % con concentraciones de oxigeno de 8.4 y 3.7 % respectivamente y para el día 25 con el contenido de humedad de 12 % con un nivel de oxigeno de 2.7 %.



Introducción

El frijol es base de la dieta de la población latinoamericana y de países en desarrollo ya que aporta un 20 % de proteínas, las cuales son más asimilables que la de los cereales. Destinado en su mayor parte para la alimentación en 90.5 % del cual un 26 % representa las empacadoras, un 5 % la industria, el 6 % como semilla y el 5 % como merma (Claridades, 2003). Es merma por los daños durante el almacenamiento.

Actualmente algunos almacenes son simples y otros complejos, pero cuentan con el mismo principio básico, el cual depende de la región, clima o desarrollo económico del país. Entre las plagas que pueden atacar a una cosecha del campo a la bodega provocando pérdidas económicas y nutrimentales, son los roedores, aves, insectos y hongos pero el mayor ataque lo realizan los insectos y los hongos (Ellias *et. al.* 1986). La magnitud del daño tiene como variables la adaptación, temperatura, humedad y capacidad de reproducción (Cuatepotzo, 1985).

Aproximadamente 250 especies de insectos atacan a los granos así como a los productos y de éstas especies, solo 20 son de importancia (Dell'Orto, 1985). La principal plaga del frijol es el gorgojo; existen dos especies en México, el gorgojo pinto o mexicano *Zabrotes subfasciatus* Boheman y el gorgojo pardo del frijol *Acanthoscelides obtectus* Say, que se alimentan exclusivamente de este grano. Se les considera una plaga primaria ya que atacan granos enteros, tanto en campo como en el almacén (Dell'Orto, 1985), principalmente en climas cálidos y templados donde encuentran condiciones apropiadas para su desarrollo y reproducción (Aldana y Claves, 1985). El ataque de estos insectos estima una pérdida del 22 % de la producción nacional (Menéndez, 1977) y un 20 % de pérdidas durante el almacenamiento, siendo mayor en regiones cálidas, tropicales, subtropicales y templadas del país (Sifuentes, 1981). Los insectos constituyen una contaminación potencial para el grano, disminuyendo la calidad ya que la presencia de huevecillos, excremento, cuerpos de adultos y cavidades pupales (García, 2004), característicos del gorgojo impide el uso del grano tanto en el campo como en su consumo teniendo un 35 % de pérdidas registradas en Centroamérica y en consecuencia una pérdida económica invertida en el sector agrícola.



La actividad metabólica que generan los insectos aumenta la temperatura y la humedad del almacén, provocando una proliferación de esporas de hongos. Entre los hongos que atacan a una cosecha, se pueden encontrar los hongos de campo del género *Fusarium*, *Cladosporium*, *Mislievec*, *Tuite* y *Penicillium* que atacan desde el cultivo y los hongos de almacén *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* y *Mucor* (Hall, 1971; Christensen y Kaufmann, 1969) que se presentan en la bodega. Ambos pueden producir toxinas, las cuales se producen durante la formación de granos en el campo, durante etapas finales de maduración, la cosecha, la poscosecha y el almacenamiento (Godínez *et. al*, 1990).

Al almacenar el frijol, así como otros granos básicos para la alimentación es necesario mantenerlas con la misma calidad nutrimental desde el campo hasta el momento de consumirlos, por lo tanto se requiere de un buen almacenaje (García, 2004). El almacenamiento hermético tiene como principio básico la eliminación de oxígeno existente en el aire del depósito ó contenedor hermético hasta un nivel que se suprima ó inactive el desarrollo de organismos nocivos aerobios y aumento en la concentración de bióxido de carbono por la respiración que efectúan los organismos presentes en este sistema (FAO, 1980). El almacenamiento hermético a nivel rural es una alternativa para la alimentación de autoconsumo, por lo que es importante conocer los límites de tiempo para que el grano permanezca en óptimas condiciones sin alterar su calidad nutrimental, disminuyendo el grado de deterioro por la acción de insectos y hongos (Christensen y Kaufmann, 1976). Por esta razón este trabajo se desarrolla con el propósito de evaluar el efecto del almacenamiento hermético en el desarrollo de *A. obtectus* en frijol bajo tres contenidos de humedad.



2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Estudiar el efecto del almacenamiento hermético del grano de frijol con tres contenidos de humedad, sobre el desarrollo de *Acanthoscelides obtectus* Say.

2.2 Objetivos particulares

- Comparar el efecto del almacenamiento hermético con el abierto en el desarrollo de *A. obtectus*.
- Determinar los niveles de oxígeno y bióxido de carbono para el control del gorgojo *A. obtectus*.
- Establecer el contenido de humedad del grano y el tiempo de almacenamiento donde el insecto no cause daño.
- Determinar el daño realizado por el gorgojo *A. obtectus* sobre el frijol, bajo almacenamiento hermético.
- Establecer si el almacenamiento hermético es viable para almacenar el grano de frijol, conservando su calidad.

2.3 Hipótesis

Contenidos de humedad bajos del grano de frijol infestado con *A. obtectus* durante el almacenamiento hermético, reducirá la emergencia de insectos y por lo tanto el porcentaje del grano dañado.



3. Antecedentes

3.1 Frijol

Cultivado desde hace 8000 años formó parte de los cuatro productos agrícolas maíz, frijol, calabaza y chile base de la alimentación Mesoamericana (Claridades,2003). Es un cultivo que se cree sea nativo de la zona ubicada entre México y Guatemala. La diversidad de variedades de frijol que se producen en nuestro país está directamente relacionada con la estructura de mercado que muestra una diversidad de preferencias. En la actualidad se siembran 20 variedades y 50 criollas en el territorio nacional (Claridades, 2003). El frijol común se cultiva en trópicos y zonas templadas de América, África y Asia (Agarival, 1987). Pertenece al género *Phaseolus*, el cual comprende hierbas anuales perennes, erectas y volubles; además es una especie de terófila, es decir, no soporta heladas (Cornejo, 1993).



Figura 1. Plántula de frijol del género *Phaseolus vulgaris* L.

Se siembran aproximadamente dos millones de hectáreas en la República Mexicana de la cual el 85 % se cultiva bajo condiciones de temporal. La principal causa de pérdida es la infestación por gorgojos y la presencia de hongos en las zonas dañadas por el gorgojo (Christensen y Kaufmann, 1974; Cartin, 1979 y Sifuentes, 1981).

La semilla de frijol puede tener varias formas, cilíndrica, de riñón, esférica u otras, pero todas las leguminosas comparten las siguientes partes básicas:

- a) La testa es la estructura externa que envuelve el grano. La testa tiene la propiedad de mantener unidas las estructuras internas del grano, protegerlas de golpes o abrasiones, sirve de barrera a la entrada de microorganismos,



regula la velocidad de rehidratación, la velocidad de cambios gaseosos y la germinación. Se constituye por el hilio, esta es una cicatriz ovalada que aparece en el lugar donde el grano estaba unida al funículo. A un lado del hilio está una abertura llamada micrópilo.

- b) El embrión tiene una función reproductiva, consiste de un eje embrionario con dos cotiledones, la radícula y la plúmula. Es un eje porque inicia el crecimiento en dos direcciones, hacia las raíces y tallo. Los cotiledones son abultados y constituyen el 90 % de la masa del grano, exhiben una estructura altamente organizada. Como se muestra en la Figura 2.

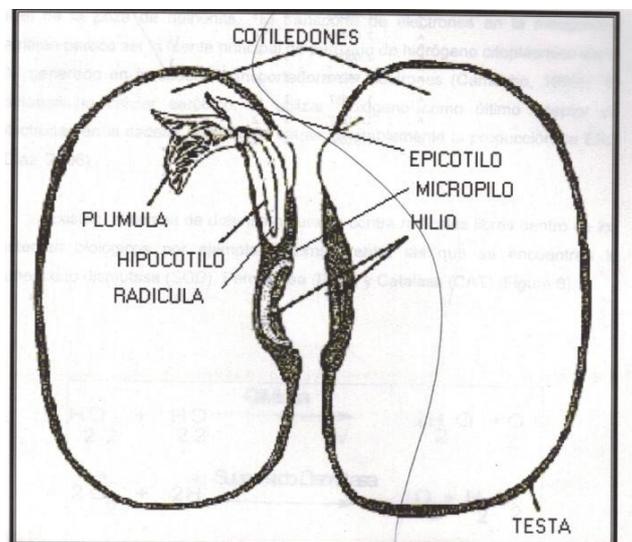


Figura 2. Partes estructurales de la semilla de frijol

3.2 Importancia del frijol en México

El frijol ocupa junto con el maíz una posición de primer orden dentro de la alimentación mexicana por su amplia adaptación, abundancia y bajo costo ya que aporta prácticamente la totalidad de proteínas que consumen estratos sociales de menores ingresos (Abasto y comercialización de productos básicos “frijol”, 1988). Presenta un consumo anual per cápita de 16 kg, por lo que se cultiva en todo el territorio nacional, su rendimiento es de 0.629 ton/ha ubicándolo dentro del promedio anual durante el período 1992-2002. El rendimiento promedio es a menudo bajo, por no usar variedades mejoradas, uso incorrecto de fertilizantes, inadecuado control de plagas, presencia de malezas en el campo y en el almacén (Parsons, 1983).



Se ha ubicado como el segundo cultivo que mayor superficie ocupa en México detrás del maíz (Agro Red, 2003). Tiene una producción mundial por hectárea de 25,082,000 (Claridades, 2003). El frijol se cultiva en todas las entidades federativas. Los principales Estados productores en orden de importancia son, Zacatecas, Durango, Chihuahua, Guanajuato, Jalisco y Chiapas. Los Estados de Zacatecas y Durango aportan en promedio más del 40 % de la producción nacional. El Estado con mayor consumo es el Estado de México y el de menor consumo es Baja California Sur (Abasto y comercialización de productos básicos “frijol”, 1988).

En la comercialización se conjugan diversos factores desfavorables para el abasto tales como:

- a) El factor que remite al alto costo para movilizar y distribuir grandes cantidades a zonas de consumo relativamente dispersas y distantes de las zonas productoras.
- b) El auge cobrado dentro de la producción nacional de algunas variedades por el rendimiento por hectárea pero que en consumo tienen una baja o nula demanda.
- c) La elevada presencia de intermediarios en la primera etapa de comercialización donde el productor vende a precios inferiores a los de garantía.
- d) Las barreras de salida establecidas con el objeto de garantizar abasto regional presionando precios hacia la baja incluso de variedades de demanda, que desfavorece los ingresos del campesino, (Abasto y Comercialización de productos básicos, 1988).

Al ser un alimento base de la población deben solucionarse los problemas de almacenamiento para garantizar así su destino final al consumo ya que a una escases posible de este producto se tendrá que recurrir a la importación.

3.3 Especificaciones de calidad del frijol

Para garantizar la calidad del frijol evitando algún problema desde el campo hasta el consumidor, el frijol debe contar con una serie de condiciones para mantener su calidad. La calidad inicial de los granos y semillas depende de los siguientes factores (García, 2004; Aguilera *et. al.*, 1986):



- a) Condiciones climáticas durante la maduración del grano.
- b) Grado de maduración al momento de la cosecha de frijol con variedades de contraste menor al 5 %.
- c) Decoloración menor al 12 %.
- d) Daños mecánicos, menor del 8 %.
- e) Impurezas, menor del 18 %.
- f) Humedad, menores al 22 %.
- g) Temperatura.
- h) Microorganismos presentes en el grano.
- i) Grano picado por gorgojo, menor al 2 % y presencia menor de 2 insectos por kilogramo de grano.
- j) Roedores.

Al ser una leguminosa, el frijol se distingue por aportar un alto contenido de proteínas más asimilable, al ser comparada con los cereales. En el Cuadro 1 se muestra un Análisis Químico Proximal (AQP) general del frijol, el cual tiene como aporte principal las proteínas, aportando más del 20 % (Bourges, 1992).

Cuadro 1. AQP general del frijol

ANÁLISIS QUIMICO PROXIMAL	
Humedad	10.4 %
Proteína	22.6 %
Grasa	1.5 %
Fibra	4.2 %
Minerales	3.2 %
Carbohidratos	57.6 %

(Aduke, 1981)

El Cuadro 2 señala el aporte de las variedades de mayor consumo en el mercado. La variedad mayocoba se refiere al grupo de frijoles azufrados. El Cuadro 3 marca el aporte nutrimental que aportan diferentes variedades de frijol. Destacando como mayor aporte las proteínas.



Cuadro 2. AQP de las variedades de frijol

Especie	Humedad %	Proteína %	Lípido %	CHOS %	Fibra cruda %	Ceniza %
Frijol bayo	10	18.94	2.6	60.83	3.93	3.7
Frijol negro	8.5	17.65	3.4	62.04	4.72	3.69
Frijol rojo	10.4	22.5	1.5	61.9	4.2	3.7
Frijol castaño	11.2	22.3	1.5	61.2	4.4	3.8

(Cornejo, 1993; Arias, 1993)

Cuadro 3. Aporte Nutricional del frijol representado en miligramos

Especie	Tiamina	Riboflavina	Ac. Nicotinico	Ca	P	Fe	Cu	Na	K
Amarillo	0.52	0.12	2.05	347	478	4.75			
Azufrado	0.52	0.14	1.27	254	483	5.31			
Bayo gordo	0.62	0.14	1.71	200	361	6.95	0.86	0.6	1350
Blanco	0.6	0.15	1.82	185	450	4.79			

(Quintín, 1977)

El frijol se caracteriza por contener los compuestos químicos siguientes:

- Proteína. Contiene grandes cantidades de aminoácidos esenciales que se complementan con cereales.
- Lípidos. Mayor fracción de triglicéridos neutros, los principales ácidos grasos saturados son palmítico, esteárico, araquidónico y los insaturados oléico, linoléico y linolénico.
- Carbohidratos. Monosacárido, glucosa y fructosa son fuentes de energía, una pequeña cantidad de monosacáridos están presentes en forma libre y el resto esta como componente de glucósidos o unidades en oligosacáridos o polisacáridos. Los oligosacáridos no reductores más abundantes son la rafinosa, estaquiosa, verbascosa. Los cuales son responsables de la producción de flatulencia en el hombre, es originada por que no pueden ser digeridos los oligosacáridos no reductores por la



carencia de la enzima alfa – galactosidasa. Estos compuestos se depositan en la parte baja del tracto intestinal donde son atacados por bacterias que los metabolizan y forman grandes cantidades de bióxido de carbono e hidrógeno. La celulosa es un polisacárido estructural que permite rigidez y fuerza al grano. Además presenta alto contenido de fibra y lisina.

- d) Minerales. Es rico en calcio alrededor de 100 mg por cada 100 g; varía en cada especie. Hierro a 7 mg por 100 g.
- e) Inhibidor de tripsina. Este bloquea crecimiento en ratas, baja la energía metabolizante, reduce absorción de grasa y la digestibilidad de proteínas, causa hipertrofia pancreática y estimula la secreción de jugos biliares. Esta se elimina durante la cocción.
- f) Hemaglutininas. Sustancias termolábiles, aglutinan glóbulos rojos con efecto similar a los inhibidores de tripsina. También es eliminada en la cocción.
- g) Isoflavinas. Actividad Antitiamina
- h) Saponina. Efecto antinutricional si se consume tres veces mayor a la que se encuentra en el alimento
- i) Glucósidos cianogénicos. Algunas leguminosas contienen compuestos cianogénicos en forma de glucósidos, que por hidrólisis enzimática liberan ácido cianhídrico. La toxicidad se relaciona con la cantidad liberada, se elimina por cocción (Leiner,1977).

3.4 Almacenamiento

El almacenamiento es tan viejo como la civilización humana. Evidencias arqueológicas indican que el grano es almacenado desde 7000 años atrás. El mecanismo social que desarrolló esta necesidad fue abastecer arroz a una sociedad organizada que promovió la construcción de varias estructuras sólidas e incrementar la producción de comida para comunidades no agrícolas (Masefield, 1950). El almacenamiento a gran escala surge paralelamente a las grandes concentraciones de población. Con la revolución urbana se generó la necesidad de almacenar como respuesta a un imposible auto abasto; de esta manera aparecieron los primeros tipos de granero (Trueba, 1989). Almacenar frijol así como otros granos y productos ha sido una estrategia del hombre para disponer de ellos en temporada de escasez



por ello es necesario protegerla de agentes que alteren negativamente su calidad y preservar características originales hasta el momento de ser consumidos (García, 2004).

Cuando la cosecha finaliza es necesario el almacenamiento de semillas bajo las mejores condiciones posibles asegurando que el máximo potencial de germinación y sus características de calidad sean preservados. Los granos almacenados son una gran masa porosa rodeada de aire intersticial. Constituyen un material biológico que respira. La temperatura, humedad relativa, plagas, daños a la semilla, deben ser controlados para un buen almacenamiento y traslado de granos preservando así su calidad original, para destinarlos al consumo humano ya que al ser dañado se destina a consumo animal. El tiempo de almacenamiento y el contenido de humedad están estrechamente correlacionados. El producto, debe tener un contenido de humedad adecuado para que sea almacenado con seguridad. El contenido ideal para almacenar frijol es de 11 % (Puzzi, 1977). El período de almacenamiento relativamente corto es por una semana pero algunas veces es necesario almacenar por varios años (Raymond, 1999). Los principios básicos de un almacenamiento son mantener grano fresco y seco además de proteger al grano de insectos, roedores y hongos (Linblad y Drubeh, 1976).

Elegir un adecuado almacenamiento tiene gran importancia económica, ya que las condiciones en que se mantenga el producto indicaran la calidad de este. Se pueden dar micotóxicas por *Fusarium*, *Cladosporium* y *Aspergillus*. Así mismo la acción de las lipasas y lipoxígenasas endógenas del grano o la oxidación química de los lípidos puede provocar la formación de compuestos de sabor y olor desagradables. En otros casos hay un descenso del poder de germinación de granos. Los granos almacenados respiran y si este fenómeno es demasiado rápido puede motivar a la producción de calor y vapor de agua, permitiendo así el desarrollo indeseable de insectos y de hongos. La velocidad de las diversas reacciones de deterioro depende de la temperatura y de la humedad relativa. El almacenamiento al abrigo del aire atmosférico motiva un aumento a la relación de CO_2 / O_2 inhibiendo el desarrollo del moho y la respiración (Cheftel, 1992). La tecnología del almacenamiento que tiene por objeto la conservación material y la calidad del grano almacenado en niveles económicos aceptables, está integrada por



una serie de factores entre los que se cuenta, los métodos, el tipo de estructura, condiciones asociadas al grano, el medio ambiente y los equipos utilizados (Seanéz, 1981).

3.4.1 Humedad

El agua se encuentra retenida en los granos y semillas en tres formas, cada una de ellas se representa en el contenido total de agua en el grano.

- a) Agua libre. Retenida entre los espacios intergranulares de las moléculas del grano, posee propiedades específicas que las fijan en esos sitios.
- b) Agua absorbida. Existe una interrelación entre las moléculas del agua y las de las sustancias que constituyen al grano.
- c) Agua combinada. Se encuentra unida químicamente y forma parte integral de las moléculas que constituyen materiales de reserva o entran en la formación de alguno de los órganos de la semilla.

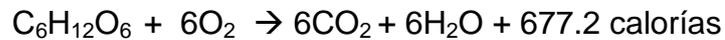
El equilibrio entre el agua del grano y el agua del aire se realiza porque el grano es higroscópico, es decir, pierde o gana humedad del aire que lo rodea, en función de la temperatura y el punto de equilibrio, resultando en una transferencia de humedad (Christensen y Kaufmann, 1976) en el volumen de grano almacenado. Cuando se trata de granos secos, se alcanza el equilibrio en un porcentaje específico para cada tipo de grano en condiciones dadas por la humedad relativa. La humedad relativa es el porcentaje de la cantidad de humedad del aire en relación de la cantidad máxima de humedad que puede retener el aire a esa temperatura (Lindbland y Druben, 1979).

Cuando las concentraciones de humedad del grano incrementan, también lo hace la temperatura, esta se transmite del grano más caliente hacia el frío, donde se condensa y cambia el contenido de humedad (Ramírez, 1966), ocasionando el desarrollo de los insectos y de hongos; por lo tanto la temperatura y el contenido de humedad en los granos son factores primordiales para la conservación.



3.4.2 Temperatura

La respiración y el calentamiento se consideran juntos, porque son parte del mismo fenómeno y del mismo proceso biológico que ocasiona daño, como lo indica la siguiente fórmula de respiración:



La actividad de respiración y la tendencia del grano así como sus productos al deterioro durante el almacenamiento están considerablemente influenciadas por condiciones del producto. Esta es una causa por la que es importante establecer el máximo valor de humedad relativa de seguridad para el almacenamiento de cualquier grano y su producto. Cuando el grano respira consume alimento de su materia de reserva liberando calor y bióxido de carbono, es rápida o lenta según la temperatura y la humedad del grano. La temperatura externa del almacén no tiene efecto inmediato sobre el grano en silos grandes (Lindblad y Drubeh, 1976).

Cada grano o semilla tiene característicamente una determinada conductividad térmica, es decir, cierta velocidad con la que el calor pasa de las zonas calientes hacia las más frías en la masa de grano siendo diferente y específica para cada grano. La forma, tamaño y textura determinan la velocidad y conductividad térmica. Una vez producida una zona de calor en cualquier parte de la masa del grano, el calor se transmitirá con mucha lentitud hacia áreas frías. La respiración y la producción de calor en el grano con la de los insectos y la de los microorganismos, producen en conjunto la elevación de la temperatura, lo cual afecta, el volumen total del grano. La temperatura junto con la humedad relativa al ser altas propician un buen desarrollo de larvas de insectos y esporas de hongos, dañando fácilmente al grano; deteriorando así características nutricionales, germinales y comestibles de éste.

En un laboratorio es más fácil medir la cantidad de bióxido de carbono producido que la cantidad de calor producido. Muchos estudios de laboratorio orientados a la evaluación de factores que contribuyen el daño de los granos almacenados, han sido encaminados principalmente a efectuar mediciones de las cantidades de bióxido de carbono producido (Christensen y Kaufmann, 1976), ya que la velocidad de respiración en granos esta íntimamente ligada con la



disponibilidad de oxígeno y es función de la temperatura. El llamado calentamiento espontáneo de grano almacenado se debe al proceso respiratorio realizado por organismos vivos. El bajo calor específico de los granos impide que los calentamientos en las zonas más húmedas se disipen fácilmente, por esto la temperatura de granos en zonas reducidas, incrementa la velocidad de respiración y así continúa ascendiendo la temperatura y el contenido de humedad (Ramírez, 1966).

3.4.3 Fumigación y aplicación de insecticidas

El secado, aireación refrigerante y el uso de insecticidas se destinan para evitar pérdidas excesivas en calidad y cantidad de grano (Hall, 1980). Pero el uso de insecticidas tóxicos en la materia prima provoca rechazo automático por contaminación; riesgo a la salud pública y al ambiente, ya que se utiliza cualquier insecticida incluyendo químicos tóxicos como el lindano, paratión, paratión metílico, carbaril (Moreno *et. al.*, 2000). Muchos agricultores utilizan insecticidas para controlar a los insectos del grano, pero algunos insecticidas son peligrosos; otros son muy caros y a veces no es posible conseguirlos. La diferencia entre fumigar y aplicar insecticida radica en:

- a) Fumigaciones. Controla poblaciones de insectos en el grano, actúan en estado gaseoso y además tiene un efecto inmediato sin propiedades residuales. A nivel comercial se pueden usar fumigantes a base de fosforo de aluminio (Gestión Phostoxin, Detia, Gastoxin). Se distribuye el fumigante sobre un papel o recipiente abierto en el suelo colocándolo alrededor del arrume y se cubre con un plástico por 72 horas. La fumigación no es el mejor recurso para el control de insectos cuando el producto está a granel y permanece más de 3 meses en almacenamiento durante climas cálidos. La fumigación no permite el control total en población de insectos, huevecillos y pupas, los últimos son estados más resistentes a la acción fumigante (Godínez *et. al.*, 1990).
- b) Insecticida. La capacidad residual y su acción letal se prolonga por un tiempo determinado dependiendo del tipo y calidad del insecticida, condiciones ambientales y el grano. Malathion deodorizado en la región del Noroeste se incorpora al trigo cuando ingresa a la bodega, reduciendo humedad y temperatura. Un insecticida aplicado en forma preventiva



permitirá un óptimo control de plagas en regiones con condiciones climatológicas favorables para su desarrollo. Es necesario contar con insecticidas de diversa naturaleza ya que utilizado frecuentemente, produce una resistencia gradual por parte de los insectos (Christensen, 1957).

Las sustancias químicas se limitan por su naturaleza tóxica y residual, por lo tanto no se aplican en consumo humano o animal; algunas sustancias no se aplicarían tampoco a granos ya que pueden resultar fitotóxicas en determinadas ocasiones. (Moreno y Vidal 1981; Moreno y Ramírez, 1982; Moreno y Ramírez, 1985; Moreno *et. al.*, 1985).

3.4.4 Almacenamiento abierto

Los granos almacenados están expuestos al ataque de plagas, principalmente insectos, hongos y roedores por lo que se ha investigado y aplicado métodos diversos para su combate y control. La humedad puede variar no sólo por el contacto del grano con el aire sino también por la actividad de plagas, presencia de materia extraña, grano dañado que provee mayor higroscopia, la instalación y materiales de construcción del almacén. La temperatura se encuentra ligada con la humedad del grano, ya que la tasa de desarrollo nocivo depende del nivel de temperatura y la humedad (Cuatepotzo, 1985).

El calentamiento del almacén se da por la diferencia del porcentaje de temperatura entre el aire interno, externo, la actividad de los insectos, los hongos y la respiración. La respiración disminuye cuando bajan las concentraciones de oxígeno; esta reducción minimiza el desarrollo normal de los insectos y los hongos (Oxley y Wickenden, 1963; Burrell, 1968; González, 1982). Si no hay un buen control de plagas puede esparcirse por todo el volumen del almacenaje induciendo a pérdidas de la semilla destinada a consumo humano.

El endurecimiento de frijol es frecuente cuando se almacena por largo tiempo con alta humedad en el grano, alta temperatura en el ambiente y alta humedad relativa, esta puede prevenirse:

- a) Secando el frijol hasta humedades por debajo de 14 %.



- b) Almacenándolo en ambientes fríos y frescos.
- c) Evitando almacenamiento por tiempos prolongados.
- d) Inspeccionando constantemente por lo menos cada semana.
- e) Uso de silos, bodegas horizontales o verticales, de diferente forma y capacidades. En el Cuadro 4 se indican diferentes tipos de construcción para almacenamiento abierto de grano, con sus capacidades límite de almacén.

Cuadro 4. Construcciones de almacenes abiertos

TIPO DE ESTRUCTURA	MATERIAL DE CONSTRUCCIÓN	MECANIZACIÓN	CAPACIDAD PROMEDIO	PRODUCTOS
Red Nacional	Construido con techo y paredes de concreto	No	5,000 ton	Almacenamiento a granel
Dos Aguas	Techo de lámina, paredes de mampostería	No	5,000 ton	Almacenamiento de sacos
Butter	Techo lámina, pared de hierro	Si	15,000-30,000 ton	Almacenamiento a granel
Hangar	Techo de lámina, pared mampostería, puede ser reforzado	No	10.000-15,000 ton	Reforzado a granel, sin reforzar mercancía envasada
Silo Vertical	Concreto armado o metálico	Totalmente Mecanizado	80,000-200,000 ton	Almacenamiento a granel
Tejabanes	Estructura descubiertas por los 4 costados, techo dos aguas, pilares de metal	No	5,000-10,000 ton	Mercancía envasada

(Seanéz, 1981).



3.4.5 Almacenamiento hermético

El almacenar granos para satisfacer las necesidades de una gran concentración de población ha comprobado que el almacenamiento hermético es un método alternativo de preservación de granos siendo aplicable en volúmenes pequeños y grandes (Sigout, 1980; Sartori y Vitti, 1991; Kawasugi *et. al.*, 1994; Varnava, 1995; Moreno *et. al.*, 2000). Desde 9000 a 7000 años A. C. en Europa se utilizaba el almacenamiento de granos en fosas subterráneas siendo la primer forma hermética (Sigout, 1980). El almacenaje subterráneo en pozos desde tiempos prehistóricos hasta el presente como un método tradicional, permite a los insectos y a los hongos reducir las concentraciones de oxígeno para impedir su proliferación.

En áreas tropicales de varios países de América Central incluyendo México, el almacenamiento hermético ha sido usado empíricamente (Moreno *et. al.*, 2000). Los resultados de esta alternativa de almacenamiento consisten en la disminución de oxígeno y el aumento en la concentración de bióxido de carbono, en un volumen sometido a un sistema cerrado evitando el daño por insectos y hongos. (García, 2004). Los campesinos venden sus granos a precios bajos después de cosecharlos al no tener una manera de almacenarlos adecuadamente por temporada alta de cosecha. Si consideramos que las sustancias químicas usadas en el control de plagas tienen efectos residuales que atentan contra la salud del hombre, animales y que además algunos insectos han desarrollado cierta resistencia a los tratamientos químicos, se requiere poner en práctica métodos de control para plagas que sean eficaces y que no contaminen al grano. El inconveniente en el almacenamiento hermético para grandes volúmenes es mantener la hermeticidad, permitiendo a los estados inmaduros del insecto, larva y huevecillo son menos tolerantes que los adultos, permitiendo la eclosión y emergencia de larvas que infestan rápidamente al grano almacenado (Annis, 1987).

En el medio rural este sistema de almacenamiento puede resolver el problema de almacenamiento de granos básicos para el autoconsumo y para mantener la calidad de los granos que posteriormente podrán venderse a precios justos para el productor primario (García, 2004). Si el campesino almacena grano cuyo contenido de humedad es mayor de 13 % no debe usar almacenamiento hermético, por la transferencia de temperatura y humedad. El grano que tiene un contenido alto de



humedad debe almacenarse de manera que el aire pase por todos los granos (Lindblad y Drubeh, 1976).

3.4.5.1 Principio del almacenamiento hermético

El principio del almacenamiento hermético es un sistema cerrado por lo que no hay intercambio de materia con el exterior. Esto disminuye la concentración de oxígeno aumentando la concentración de bióxido de carbono de la atmósfera intergranular hasta un nivel en que se suprime o inactiva el desarrollo de organismos nocivos que dependen de tal elemento para subsistir (FAO, 1980; Bailey, 1980; Banks, 1981). Este es un método de control exitoso de insectos, como fue demostrado por estudios en los efectos del hermetismo incompleto sobre las poblaciones de insectos (Oxley y Wickenden, 1963; Burrel, 1968). Los insectos mueren cuando el aire en el almacén contiene 3 % o menos de oxígeno y los hongos detienen su desarrollo cuando el nivel de oxígeno es de 1 % o menos (Moreno *et. al.*, 2000).

Los factores principales para controlar la respiración del grano son la humedad relativa, temperatura, aireación y condiciones del grano. Al controlar todo a niveles bajos, el grano puede ser almacenado por varios años (Pixtón, 1967). El almacenamiento hermético ofrece una forma simple de guardar el grano en un estado libre de insectos por largos períodos para reservas de carestía o estrategias de mercado sin el uso de insecticidas químicos (García, 2004).

El tiempo que tardan los insectos en morir bajo un almacenamiento hermético depende notablemente del grado de la infestación, cantidad de granos, temperatura y tamaño del almacén. Algunas especies de hongos que sólo se desarrollan cuando el grano tiene contenido de humedad elevado, más del 15 %, pueden crecer en una concentración de oxígeno hasta de un 0.2 %. Otras especies sobreviven a atmósferas con 80 % de bióxido de carbono. La esporulación de los hongos es más sensible a cambios en la concentración de bióxido de carbono que el crecimiento mismo. Concentraciones del 2 % al 10 % pueden reducir la esporulación de ciertas especies. En condiciones de anaerobiosis el desarrollo es nulo (Christensen, 1978).



3.4.5.2 Primeras estructuras de almacenamiento hermético

- a) Estructuras semisubterráneas. El almacenaje prolongado de grano excedente en Argentina, durante la segunda guerra mundial, consistió en zanjas debajo o sobre el suelo revestido de concreto y cubiertas de techos flexibles (Anon, 1949). Posteriormente los cajones Cyprus construidos en los 50's consistían en pozos cónicos revestidos de concreto coronados por domos con armazón de concreto. Las versiones mejoradas de estas estructuras se construyeron en Kenya para reserva nacional de grano (De Lima, 1990).
- b) Estructuras sobre el piso a escala pequeña. El almacenaje de grano en calabaceas selladas (Mc Farlane, 1970) para evitar fuertes infestaciones, estos cilindros deben estar completamente llenos para aumentar la velocidad de reducción de oxígeno.
- c) Almacenaje hermético moderno. Estructuras rígidas sobre el suelo. El sellado de costales apilados y bultos de grano en almacenes en China usando un revestimiento plástico es un régimen de preservación llamado triple-low. Este es un control de insectos por la reducción de la concentración de oxígeno por la actividad metabólica dentro de los bultos de grano en combinación con la tostina y disminución de temperatura (Wang *et. al.*, 1993; Xu y Wang, 1993).
- d) Estructuras a nivel de piso. Estas estructuras fueron diseñadas en Inglaterra para almacenaje de emergencia usando revestimientos flexibles de plástico apoyados por un armazón de malla. Estos revestimientos fueron hechos de plástico butilo, algunas veces laminados. Recomendados para almacenaje convencional y hermético de grano seco (Kenneford y O'Dowd, 1981); pero no podían ser utilizados en climas tropicales o subtropicales ya que los revestimientos se deterioraban y la permeabilidad del gas incrementaba (Navarro y Donahaye, 1976; O'Dowd y Kenneford, 1982). El mayor acercamiento a registros de menores concentraciones de oxígeno y aumento de bióxido de carbono son pozos forrados con revestimiento plástico con el fin de mejorar el sello hermético (Donahaye *et. al.*, 1967; Dunkel *et. al.*, 1987).

3.5 Pérdidas en el almacenamiento de granos

Sifuentes, en 1981 y Flores en 1977 señalan que en México los insectos afectan del 10 % al 20 % de la producción de frijol almacenado; así mismo, indica que el problema se acentúa más en las regiones tropicales secas y húmedas de los



Estados de Morelos, Guerrero, Michoacán, Veracruz, Tabasco, Chipas, Oaxaca y Yucatán. La disminución de la calidad se produce porque el frijol cosechado puede aparecer deshidratado, arrugado con daño en la cutícula y daño mecánico. Todas las pérdidas de calidad y de precio al momento de la comercialización, se pueden evitar o disminuir (Obrador, 1984).

Un almacenamiento inadecuado de frijol tiende a una pérdida de peso, baja calidad nutricional y comercial. Algunos insectos se comen las mejores partes del grano, siendo estas las que contienen vitaminas y minerales (Lindblad y Drubeh, 1976). Los daños se clasifican de acuerdo al momento en que el grano es afectado:

- a) Precosecha. Pérdidas causadas por enfermedades y plagas de los cultivos.
- b) Cosecha. Pérdidas que ocurren justo antes de la cosecha o durante la cosecha.
- c) Poscosecha. Pérdidas que ocurren a partir de la cosecha hasta el momento del consumo y uso de granos.

3.6 Efectos de las condiciones de almacenamiento sobre el frijol

La merma de peso durante el almacenamiento que no haya sido producida por disminución de humedad es una indicación de la pérdida de valor nutritivo. Esto es consecuencia de la exposición del producto a condiciones extremas de temperatura y humedad durante la desecación y almacenamiento, propiciando el desarrollo de hongos, el ataque de insectos, roedores y pájaros. El efecto de la invasión de los insectos sobre el valor nutritivo de los productos varía según la composición del grano y la especie de insecto. Los gorgojos, que se nutren principalmente de los hidratos de carbono del grano consumen pequeñas proporciones de proteína y vitaminas. Pueden ingerir aproximadamente el 12 % de las proteínas disponibles. Los coleópteros, cuanto menor humedad tiene el grano atacado, más exclusivamente se alimentan del germen; hablando de cereales, relacionado con la capacidad germinativa del grano. Un aumento en las cantidades de excrementos de insectos lleva a una mayor lipólisis y con la elevación de la temperatura, se acelera la actividad de la lipasa y de las enzimas en general (Hall, 1971).



La pérdida de peso y de elementos nutritivos significa mermas cuantitativas, por otra parte, ha de tenerse en cuenta la calidad del producto restante. Generalmente el aspecto, el color y el sabor sirven para formar criterios de calidad, en casos particulares se consideran también datos químicos, contenido de aceite, acidez, humedad y presencia o carencia de toxinas. Los granos dañados se deterioran por efecto de la transformación química que se producen dentro de las células. La hidrólisis y la oxidación del aceite de las células vegetales pueden provocar un aumento de acidez que puede evolucionar hasta la rancidez (Hall, 1971). La pérdida de nutrientes se debe a cambios en los carbohidratos, proteínas, lípidos y vitaminas:

- a) Carbohidratos. El contenido total de azúcar en agua ligada tiende a aumentar durante el almacenamiento, la glucosa y fructosa no aumentan tanto como se espera por el rompimiento de sucrosa y rafinosa.
- b) Proteína. En un periodo largo alrededor de 8 años de almacenamiento estudiado por Pistón y Hill (1967), el contenido de proteína cruda se mantiene sin ningún cambio. Durante un almacenamiento a altas temperaturas (37 °C) se presentaron daños en las proteínas.
- c) Lípidos. Los cambios deteriorales de lípidos en granos son debido a la oxidación. Este deterioro de grasas comienza con la acción de lipasas, enzimas estereosas ampliamente distribuidas. Su acción es hidrolizar enlaces éster del sustrato, principalmente en los triacilgliceridos. Existen diversos tipos de lipasas, éstas son activas en interface agua-lípido y su actividad conjunta causa la liberación de ácidos grasos (Badui *et. al.*, 1993). Las lipooxigenasas son un grupo de enzimas con un centro activo ion Fe (Belitz y Grosch 1997) que lleva a cabo la oxigenación de diversos compuestos insaturados como los ácidos grasos. Durante el almacenamiento las lipasas suministran ácidos grasos libres que contienen el sistema insaturado no conjugado para la lipooxigenasa generando compuestos de olores y sabores desagradables (Badui *et. al.*, 1993). Los granos contiene antioxidantes los cuales protegen contra la acción del oxígeno. Por tanto la rancidez desarrollada en granos es raramente encontrada. La hidrólisis de lípidos es más rápida que la hidrólisis de carbohidratos o proteínas (Lee, 1960; Roberts, 1976).



- d) Vitaminas. A lo largo del almacenamiento presentan una disminución ya que son termolábiles y al presentar un cambio de temperatura fuerte se ven afectadas.

3.7 Hongos en leguminosas

Los hongos son organismos eucarióticos pertenecientes al Reino Fungi, eucarióticos, que se caracterizan por tener un cuerpo formado de estructuras filamentosas con ramificaciones, conocidas con el nombre de hifas. El conjunto de hifas constituyen el micelio. La porción de micelio que penetra al sustrato del medio de cultivo absorbe agua y nutrientes (Adams, 2003) es el micelio vegetativo; la porción que se proyecta por encima del sustrato es el micelio aéreo también denominado reproductivo, de ésta porción se originan esporas especiales o cuerpos de fructificación portadores de conidias. Los hongos se reproducen por medio de esporas, de manera sexual o asexual, que pueden derivar en forma directa del micelio vegetativo o de la superficie de cuerpo especiales de fructificación aéreos (Koneman, 2001).

Los hongos que invaden productos agrícolas que potencialmente pueden producir toxinas, lo hacen durante la formación de granos en el campo en etapas finales de su maduración, la cosecha, poscosecha o almacenamiento. Los hongos se dividen en dos grupos, hongos de campo y hongos de almacén (Christensen, 1957) en relación a la ubicación del ataque y los contenidos de humedad que requieren. Existen factores que determinan el crecimiento fúngico como la humedad, temperatura, composición atmosférica del almacenamiento, pH, período de almacenamiento y conducción del grano (Bothast, 1977). Por otro lado Christensen y Kaufmann reportaron en 1976 que habían aislado de granos y semillas más 150 especies de hongos. Los hongos se controlan con contenidos de humedad bajos, en equilibrio con la humedad relativa baja, además de mantener en óptimas condiciones al grano (Christensen y Kaufmann, 1974). Esto es difícil en países tropicales por tanto se requieren alternativas para el almacenamiento en estas zonas (Moreno, 1988).



3.7.1 Hongos de campo

Los hongos de campo atacan a la semilla en desarrollo, las cuales presentan un contenido de humedad superior al 20% con base en peso húmedo (Bothast, 1977). Estos hongos, detienen su desarrollo una vez que la semilla pierde humedad al alcanzar su madurez fisiológica. Las esporas que sobreviven en granos húmedos provocan pérdida de coloración natural, brillo, disminución del valor comercial, reducción del poder germinativo y el vigor de la semilla ocasionando putrefacción en raíces cuando la humedad relativa esta entre 90 % y 100 % (García, 2004).

Entre los hongos de campo se encuentra el género *Fusarium*, con las especies *F. moniliforme*, *F. roseum*, *F. tricinctum*. productores de micotoxinas llamadas fumonisinas. También los géneros *Cladosporium*, *Mislievec*, *Tuite*, *Penicillium* y algunas especies, *P. oxalicum*, *P. funiculosum*, *P. cyclopium*, *P. variable* y *P. Citrinum*, *Alternaria*, *Heminthosporium*, *Curvularia*, *Nigrospora*, *Helminthosporium* (Christensen y Kaufmann 1969, Hall, 1971). Sin dejar atrás al género *Aspergillus* con las especies *A. flavus* link, y *A. parasiticus speare* productores de aflatoxinas (Godinez *et. al.*, 1990).

Los géneros *Aspergillus* y *Fusarium* continúan muchas veces dañando grano almacenado si la humedad del sustrato es lo suficientemente elevada produciendo micotóxicas; productos metabólicos proteicos, las cuales son peligrosas para el hombre. Algunos metabolitos fúngicos pueden inducir el cáncer o producir lesiones orgánicas en especies animales después de la ingestión repetida de pequeñas cantidades (Koneman, 2001). La persistencia de los metabolitos fúngicos en los alimentos puede ser mayor que la del propio moho productor. Pueden encontrarse micotóxicas en ausencia de mohos viables. (Microorganismos de los Alimentos, 2000).

3.7.2 Hongos de almacén

Los hongos de almacén se encuentran en semillas que ya han sido cosechadas y presentan contenidos de humedad entre 13 % y 20 % o en equilibrio con humedades relativas entre 70 % y 90 %. Los daños que causan estos hongos depende de la severidad del ataque y del hongo que se trate (Bourges, 1992).



La acción que tienen estos hongos sobre los granos es la disminución del poder germinativo, decoloración del grano, calentamiento, cambios bioquímicos, producción de toxinas y pérdida de materia seca (Bothast, 1977).

Entre los géneros de hongos de almacén están *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* y *Mucor* (Hall, 1971; Christensen y Kaufman, 1969) con las especies *A. Glaucus*, *A. Flavus*, *A. restrictus*, *A. Niger*, *A. Candidus*, *A. versicolor*, *A. ochraceus*. El grupo más frecuentemente relacionado con el deterioro de los granos es *A. glaucus*, debido a que tiene especies que se desarrollan en diversos contenidos de humedad (Reyes, 1988).

3.7.3 Daños de hongos en semilla

Las consecuencias de la calidad y enfermedad del grano en el campo y almacén por ataque de hongos son la pérdida de germinación y vigor; puede agravarse el daño si el grano ha sufrido daño mecánico durante la cosecha, trilla y siembra produciendo pudrición y muerte (Agarwal, 1987), o bien sobrevivir y constituir una fuente de contagio para el nuevo cultivo o las semillas cercanas en el almacén (Younie *et. al.*, 2005). Las pérdidas provocadas por hongos son:

- a) Disminución de germinación. La germinación se reduce drásticamente en un corto período por fuertes invasiones de hongo y alto contenido de humedad. Producen enzimas que detienen la germinación y crecimiento de las semillas
- b) Manchado. Hongos de campo y almacén manchan al embrión y a todo el grano disminuyendo su calidad comercial destinándolo a molineras. Puede manchar el grano sin afectar la germinación.
- c) Calentamiento y enmohecimiento. El calentamiento inicia por la respiración del grano, hongos e insectos. Donde ocurra transferencia de humedad inicia crecimiento de hongos y bacterias termófilas que pueden elevar la temperatura hasta 75 °C. Después por procesos bioquímicos puede llegarse a combustión mientras hay enmohecimiento apelmazamiento y descomposición total (Christensen y Kaufmann, 1974).
- d) Cambios bioquímicos. Endurecimiento de frijol es decir incremento en tiempo para la cocción, si se mantiene más tiempo en el campo tiende a envejecer (Guzmán, 1989).



- e) Pérdida de viabilidad. Es la reducción del poder germinativo ya que el hongo ataca al cotiledón principalmente (Christensen y Kaufmann, 1976).
- f) Cambio nutrimental. Disminuye la calidad del grano para alimentación y comercio. Durante el metabolismo del hongo se reducen azúcares, se alteran las proteínas, se rompen cadenas de lípidos formando ácidos grasos libres y triglicéridos. También hay cambios de vitaminas, pero al parecer los minerales permanecen intactos (Bothast, 1977).
- g) Producción de toxinas. Las micotóxicas son metabolitos secundarios del hongo. Las más conocidas son las aflatoxinas, producidas por *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* con potencialidad cancerígena.

3.8 Insectos que dañan al frijol

Lepiz en 1982 menciona 28 especies de insectos que atacan al frijol en condiciones de almacén de las cuales la más importante son el gorgojo pardo de frijol, *Acanthoscelides obtectus* Say y el gorgojo pinto o mexicano *Zabrotes subfasciatus* Boheman; ambos insectos afectan a esta leguminosa en su fase larvaria principalmente y la contaminación en su forma adulta. Estos insectos se encuentran ampliamente distribuidos en América, Asia Occidental, África y Europa. (Loya, 1977; CIAT, 1979; Aldana y Claves, 1985). Menéndez en 1977 menciona que la pérdida promedio nacional ocasionada por estos gorgojos del frijol es de 22 % en la producción. El daño producido ocasiona pérdidas en América Latina entre 13 % y 15 % aproximadamente. Con base al daño que ocasionan los insectos se han agrupado en:

- a) Especies primarias. Son capaces de dañar granos enteros, tienen gran importancia económica.
- b) Especies secundarias. Atacan granos partidos o que previamente han sido dañados por las especies primarias y se multiplican con facilidad en productos obtenidos de la molienda de grano.
- c) Especies terciarias. Se multiplican en granos y productos en avanzado estado de deterioro causado por otros insectos o microorganismos (Dell'Orto, 1985).

El cultivo es susceptible cuando el riego es insuficiente (Ramírez, 1991) o las vainas empiezan a formarse y tarda la cosecha (Luna y Evangelista, 1992). Los



insectos pueden iniciar en granos cosechados, se mantienen en vainas y leguminosas silvestres como hospederos ya que pueden alimentarse del néctar de las flores (Pierre y Pimbert, 1981). El insecto perfora el grano, donde pasan las primeras etapas de su vida. El daño se manifiesta por reducción de peso y daño en la calidad del grano (Klein, 1986).

3.8.1 *Acanthoscelides obtectus* Say

Este gorgojo o también llamado bruco del frijol ataca a cualquier tipo almacenado y puede ocasionar serias infestaciones, se le considera plaga primaria importante, ya que ataca granos enteros, tanto en el campo como en bodega. Fue descrito desde 1831 por Thomas Say, pero hasta 1860 fue notorio como plaga de importancia económica para el frijol (Ramirez, 1966).

Las características de adulto son: la cabeza pequeña, con ojos grandes y salientes, antenas largas y aserradas. Cuerpo ovoide grueso y cubierto de pelos, más ancho de la parte posterior del abdomen. Fémur posterior con un diente grande y dos pequeños, capaz de volar. El adulto es de color pardo con pequeñas bandas transversales en los elítrios, mide entre 3.5 a 4.5 milímetros de longitud son de mayor tamaño que los *Zabrotes* y presentan un color café grisáceo. La hembra se diferencia por observación a microscopio de órganos genitales o por los últimos segmentos abdominales. Sólo se alimenta de frijol, ataca principalmente al cotiledon del grano en su etapa larvaria, algunos autores los indican como huéspedes de garbanzo y en forma experimental en lentejas y arvejas. Se considera originario de regiones tropicales, subtropicales y templadas de casi todo el mundo. En la Figura 3 se muestra al gorgojo *A. Obtectus* en su fase adulta mostrando todas las características mencionadas para la identificación.

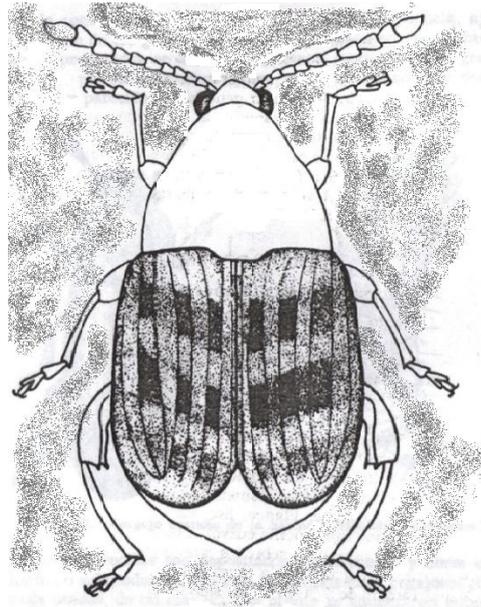


Figura 3. *Acanthoscelides Obtectus* Say en fase adulta.

3.8.1.1 Etapas de desarrollo

El ciclo de vida del *A. obtectus* es corto en su fase adulta, en promedio de diez a doce días, pero antes debe pasar por etapas de metamorfosis, para adquirir las características de adulto que lo identifican de una especie a otra. Entre las etapas del gorgojo están, la fase inicial larvaria, la pupal y finalmente el adulto. La transformación del adulto tarda entre cuatro a seis semanas (Lindblad y Drubeh, 1976)

- a) Larva. El huevecillo se desarrolla hasta larva en un período de siete a diecisiete días, se desarrolla dentro del grano y come la parte interna. La larva esta cubierta por piel rígida llamada cutícula, al crecer la cambia según su tamaño puede ocurrir 3 o más veces antes de alcanzar su tamaño completo. Se caracteriza por ser pequeña de color blanco y peluda al nacer. Antes de transformarse en pupa prepara el lugar donde emergerá cortando la testa del grano sin dañar la cutícula, haciendo una ventana circular en la cascarilla, visible en frijol de color claro (Dell'Orto, 1985).
- b) Pupa. En esta fase de transformación donde la larva no necesita alimentarse, forma un capullo y realiza movimientos pequeños hasta acercarse a la ventana pupal donde emergerá. La pupa cambia



gradualmente de color blanquizco a oscuro a medida que alcanza su madurez pupal que tarda entre 8 y 20 días.

- c) Adulto. Este emerge de la cámara pupal dejando un orificio (Dell'Orto, 1985). hasta finalizar la transformación en adulto, en un período de tres a cuatro semanas (Carrero y Planes 1995). El adulto presenta una coloración pálida y textura suave al salir y después de 2 a 72 horas endurece adquiriendo un color característico de la especie (Lindblad y Drubeh, 1976). En esta fase el adulto no se alimenta y da inicio a una nueva generación. En la siguiente Figura 4 se muestran las tres fases de metamorfosis del gorgojo hasta su fase adulta.

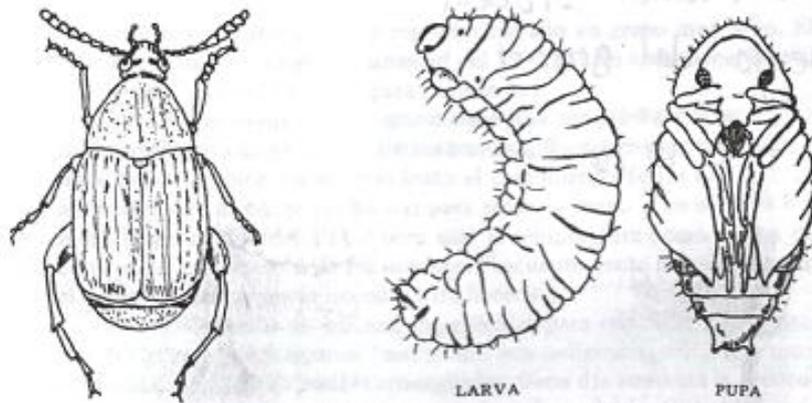


Figura 4. Etapas de metamorfosis del *A. obtectus*.

El *A. obtectus* presenta una fecundidad máxima de 70 huevecillos por hembra. La hembra introduce los huevos dentro de las vainas de granos fisiológicamente maduros. Durante el almacenamiento los coloca libremente entre los granos. Los huevecillos miden en promedio 0.8 mm de longitud y 0.3 mm de ancho. Su color es blanco, liso, de forma cilíndrico-ovoide, con los extremos ligeramente curvos. De los huevos emergen pequeñas larvas, que recorren los granos para posteriormente penetrar en su interior. La perforación de entrada con un poco más de 0.2 mm de diámetro es prácticamente imposible de observar a simple vista y a través de ella pueden penetrar una o varias larvas. Para alcanzar su madurez larvaria se requieren entre 27 a 54 días. La celda pupal se localiza debajo de la superficie del grano y esta cubierta con una fina membrana. Cuando la larva completa su desarrollo antes de pupar, corta la testa de grano sin dañar la cutícula, formando una ventana



característica fácilmente visible en los granos de colores claros. El adulto empuja la cubierta para salir del grano dejando un orificio característico de forma circular (Ramírez, 1966). Al emerger los adultos, la copula puede efectuarse casi inmediatamente y la hembra es capaz de depositar huevecillos en 24 horas después de fecundada (Subramanyam y Hagstrum, 1996). Su ciclo biológico dura 4 - 6 semanas dependiendo de la temperatura de 21 °C a 30 °C y 70 % a 80 % de humedad relativa, alargándose si la temperatura es menor. Las condiciones climáticas y la humedad relativa del aire de cada región, contribuyen a la incidencia de insectos (González, 1982), la alta temperatura disminuye o cesa la oviposición y los adultos viven menos (Lamieson *et. al.*, 1974) ningún gorgojo complementa su desarrollo a 11 °C (Baur, 1993).

3.8.1.2 Daños del frijol por *A. obtectus*

Los daños ocasionados por insectos no solo conciernen al aspecto cuantitativo del consumo y destrucción del grano sino también cualitativo porque generan la pérdida del poder germinativo de la semilla, pérdida de peso, pérdida nutricional, pérdida de calidad, contaminación por sus cuerpos y excretas siendo inaceptable para el consumo humano (FAO, 1980), además de ser un medio de transporte para esporas de hongos de campo. El insecto, huevecillos, larva y pupa pueden estar presentes dentro del grano, los cuales no se pueden detectar o remover fácilmente continuando la contaminación.

Se puede encontrar más de un insecto por grano, puede hospedar hasta 15 larvas. El nivel de humedad del grano tiene que ser del 9 % o menor para hacer más lento el desarrollo de insectos (Lindblad y Drubeh, 1976).



4. Materiales y métodos

4.1 Ubicación del experimento.

El proyecto de investigación se llevó a cabo en la Unidad de Investigación de Granos y Semillas (UNIGRAS), ubicada en el Centro de Asimilación Tecnológica y Vinculación (CAT), de la Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlán. La UNIGRAS se estableció en la FES-Cuautitlán en el año de 1996. Teniendo como objetivo principal realizar investigación y desarrollo tecnológico útil y de alta calidad, enfocado a reducir las pérdidas, cuantitativas y cualitativas de los granos y semillas en su etapa de poscosecha.

4.2 Material de experimentación.

Gorgojo. La especie de gorgojo *A. obtectus* obtenida inicialmente del laboratorio de entomología del Colegio de Postgraduados y del Instituto Nacional de Investigación Forestal Agrícola y Pecuaria (INIFAP) de Zacatepec Morelos fue criado en el laboratorio de Entomología de la UNIGRAS.

Grano de frijol. La variedad mayocoba (Peruano), producido en la entidad de Culiacán, Sinaloa fue adquirido en la central de abastos de la Ciudad de México. El grano se limpió manualmente con cribas quitando las impurezas (fragmentos del mismo producto) y materias extrañas (residuos vegetales y cuerpos extraños, como tierra, vainas etc.) ya que representan una forma de deterioro de éste por el transporte de microorganismos y posibles insectos. El grano adquirido se sometió a pruebas físicas y biológicas para conocer el estado inicial del lote (Moreno, 1996). El frijol se colocó durante 40 días en un refrigerador a 5 °C para eliminar posibles huevecillos y larvas de insectos que se encontraran en la semilla. Se utilizó grano de frijol mayocoba, ya que esta variedad fue recomendada por el laboratorio de entomología del INIFAP de Zacatepec Morelos y utilizada por García en 2004 para fines similares.



4.3 Cuadro metodológico

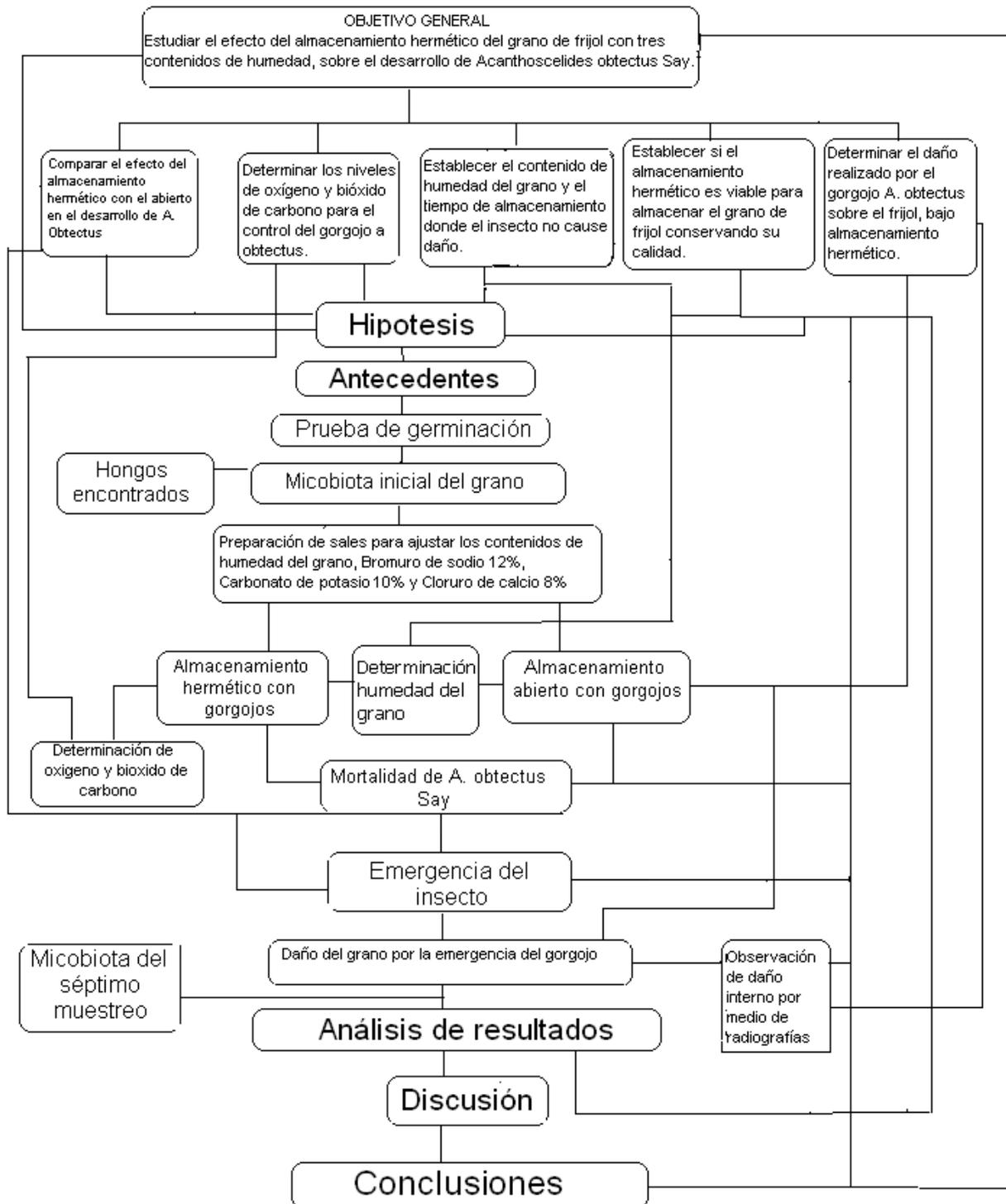


Figura 5. Cuadro metodológico de la experimentación



4.4 Descripción y técnicas a aplicar

4.4.1 Prueba de germinación

Esta prueba indica el vigor que tiene una semilla para producir una planta normal. Se realizó la prueba con papel absorbente húmedo donde se colocaron 50 granos de frijol alineados en diez columnas con 5 filas. Posteriormente se cubrieron con otro papel absorbente y se enrolló. Se realizaron cuatro repeticiones. Se hizo un acomodo diferente para observar si las semillas tendían a germinar con mayor facilidad, para este acomodo se alternaron las semillas, dando mayor espacio; para este acomodo se alinearon las semillas, dando mayor espacio; para este acomodo se realizaron cuatro repeticiones. Las ocho repeticiones se colocaron dentro de una incubadora a 25° C por 9 días, se realizaron dos observaciones; la primera a los cinco días y al final de la prueba. En cada una se hicieron conteos de las semillas germinadas, duras o muertas, obteniendo un porcentaje de germinación de acuerdo a la Association of Official Seed Analysts (AOSA). La Figura 6 muestra las diferentes etapas de crecimiento de la plántula de frijol común desde su germinación.



Figura 6. Etapas de crecimiento de *P. vulgaris*

4.4.2 Determinación de micobiota

La micobiota de los granos almacenados está constituida por una gran variedad de microorganismos, siendo los hongos los principales. La disponibilidad de agua y la temperatura son los principales factores que influyen en el crecimiento de los microorganismos en granos almacenados. Los hongos atacan con gran facilidad a granos perforados o dañados originando pudrición (Cartin, 1979 y Sifuentes, 1985).



Se utilizaron dos medios de cultivo para determinar la micobiota, malta sal agar (MSA) para hongos de almacenamiento y papa dextrosa agar (PDA) para hongos de campo (Moreno, 1996). El medio de cultivo PDA esta constituido por:

Infusión de papa	200g
Dextrosa	20 g
Agar	15g
Agua destilada	1000 ml

Para preparar el medio de cultivo PDA comercial, se suspendieron 39 g del medio directo deshidratado en un litro de agua destilada y se calentó hasta ebullición durante un minuto. Después se esterilizó en autoclave por 15 min a 121 °C. En cada caja Petri se añadió aproximadamente de 15 a 20 ml de medio según la norma (NMX-F-255-1978). Posteriormente se mantuvo en una incubadora durante 24 hrs para comprobar esterilidad del medio elaborado sin riesgo a una contaminación por patógenos ambientales. Al fin de este periodo se sembraron las semillas en el medio de cultivo.

Para la determinación de hongos de campo se utilizó Malta Sal Agar (MSA), este se constituye de:

Malta	20g
NaCl	60g
Agar	20g

Para este medio al igual que el PDA se mezclaron sus componentes con agua destilada, se esterilizó durante 15 minutos a 121 °C y después se vertió a cajas Petri.

En la primera micobiota, se utilizaron 300 semillas para cada tipo de agar, Se diluyó hipoclorito comercial del 6 % al 3 % con agua destilada, se lavó la semilla con esta dilución agitándola durante 1 minuto para eliminar microorganismos presentes en la testa del grano de frijol, posteriormente los granos son secados con papel absorbente dentro de la campana de flujo laminar. La siembra se realizó dentro de la campana de esterilidad.



Se realizaron tres repeticiones para cada tipo de medio de cultivo y cinco subrepeticiones con 15 semillas por caja Petri. Las siembras se introdujeron en una incubadora a 25° C durante 8 días. Se realizaron dos observaciones, la primera revisión se realizó al quinto día para observar la nueva colonia emergida y al octavo día la segunda para observar el crecimiento de la colonia y la producción de esporas para la identificación del hongo.

En la segunda micobiota se siguió el mismo procedimiento mencionado anteriormente trabajando esta vez con todas las muestras de los diferentes contenidos de humedad. Se hicieron tres repeticiones para cada medio de cultivo de cada una de las muestras trabajadas a lo largo de la experimentación de los tres contenidos de humedad 8, 10 y 12 %, de los dos sistemas de almacenamiento, colocando 12 semillas por caja petri, teniendo al final 378 unidades experimentales para la determinación de la segunda micobiota.

La identificación de hongos en géneros, especies y variedades se hace sobre bases morfológicas, en especial por las estructuras reproductoras, tipo, volumen y color (Burrows, 1984). El anexo 9.1. muestra el método de identificación de microcultivo en portaobjetos.

4.4.3 Ajuste de humedades a 8, 10 y 12 %

Para realizar el experimento se adecuó el grano de frijol a tres diferentes humedades. Se prepararon tres soluciones saturadas con diferentes sales (grado técnico) para obtener humedades relativas (H.R.) en equilibrio con el contenido de humedad (C.H.) del grano a 8, 10 y 12 % (Winston y Bates, 1960). El cuadro 5, muestra el tipo de sal requerido para cada contenido de humedad utilizado.



Cuadro 5. Sales para ajustar el contenido de humedad del grano de frijol.

CONTENIDO DE HUMEDAD	SAL	PESO DE SAL	LITROS DE AGUA DESTILADA
8 %	Cloruro de Calcio	1 kg	900 ml
10 %	Carbonato de Potasio	1.1 kg	1 L
12 %	Bromuro de Sodio	1Kg	900 ml

Winston y Bates, 1960.

Después de preparar las sales se mantuvieron en una incubadora a 25°C, hasta llegar a una humedad constante. En los recipientes con las soluciones saturadas se utilizaron termo higrómetros digitales para conocer la H.R. a la cual llegó al equilibrio con el contenido de humedad del grano y permanecieron a una humedad constante. Los tres contenidos de humedad del grano llegaron al equilibrio entre los días 18 y 20 de exposición con las sales. La humedad del grano de 8 % se obtuvo con la solución saturada de cloruro de calcio en equilibrio con una humedad relativa de 22 %, el contenido de humedad de 10 % en equilibrio con la sal saturada carbonato de potasio a una humedad relativa de 46 % y el contenido de humedad 12% se obtuvo entre el equilibrio de la sal bromuro de sodio y la humedad relativa de 59 %.

4.4.4 Propagación de los insectos

Para disponer de gorgojos suficientes para llevar a cabo el experimento se propagó la población de *A. obtectus* en el laboratorio siguiendo las recomendaciones del CIAT, 1979.

La variedad de frijol mayocoba se infestó con la especie en estudio, colocando en cinco frascos grandes 2.5 kg de frijol y aproximadamente 700 insectos. Los frascos se colocaron en la cámara de cría a 28 °C ± 2 con 75 % de humedad relativa y un fotoperiodo automatizado de 18 horas luz y 6 horas oscuridad. El tiempo para determinar la experimentación está fundamentado en el ciclo de vida de los insectos, que es de 28 días según García, 2004.



4.4.5 Establecimiento del experimento

Se utilizaron frascos de vidrio de 250 ml, donde se colocaron 150 g de frijol de acuerdo a la humedad correspondiente de 8, 10 y 12 %. Formando para cada contenido de humedad 3 repeticiones, tanto en almacenamiento hermético como para el abierto, teniendo 18 muestras por observación, se completaron las muestras para siete observaciones; siendo un total de 126 unidades experimentales.

En cada frasco se colocaron 20 gorgojos adultos de *A. obtectus*, éstos con menos de 24 horas de haber emergido, para homogeneizar las edades de los insectos utilizados y evitar efectos por la diferencia de edades. Durante el tiempo de experimentación se colocaron los dos sistemas de almacenamiento en la cámara de cría con una temperatura de 25 °C \pm 2, una humedad relativa de 75 % y un fotoperiodo de 18 horas luz y 6 horas de oscuridad.

En el caso del almacenamiento hermético se sellaron los frascos para evitar intercambio de gases con el exterior. Primero se selló la boca del frasco con parafilm, después se puso papel aluminio, posteriormente se utilizó una tapa perforada con una parte plástica para realizar las mediciones de gases de oxígeno y bióxido de carbono. Finalmente el frasco con parafil, papel aluminio y la tapa se sometió a cinco baños de cera caliente para asegurar el hermetismo.

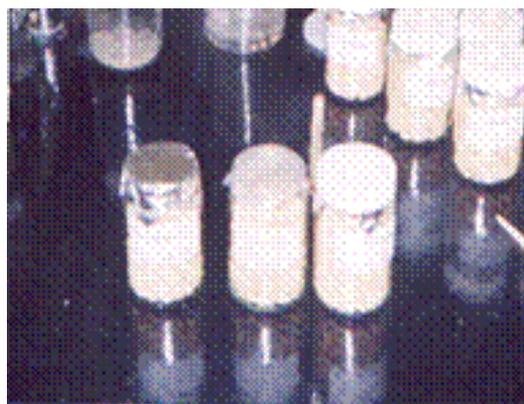


Figura 7. Unidades experimentales selladas para el almacenamiento hermético

4.4.6 Determinación de humedad

Es importante el contenido de humedad inicial de la muestra ya que tiene relación con el grado de conservación. La determinación de humedad en los



alimentos es de suma importancia, ya que un elevado contenido de ésta influye en la velocidad de multiplicación de los microorganismos, provocando su descomposición y por lo tanto la pérdida de la calidad sanitaria (NOM-116-SSA1-1994).

El agua se encuentra en los alimentos como agua de cristalización en los hidratos o ligada a las proteínas y absorbida sobre la superficie de las partículas coloidales. Para eliminar el agua, se requiere un calentamiento de distinta intensidad. Parte de la misma permanece ligada al alimento incluso a temperaturas que lo carbonizan. Así pues, la frase “porcentaje de agua” no significa nada a menos que se indique el método de determinación usado (Hart, 1991). La desecación en horno de aire a 70-140° C se considera un método directo y veraz siempre que no se produzca descomposición térmica de la muestra y que el agua sea el único componente eliminado (Osborne, 1986).

Durante la experimentación la determinación del contenido de humedad inicial se realizó por dos métodos;

- a) Método electrónico. El aparato Motomco.
- b) Método de estufa 4.004 del A.O.A.C. Este método se utilizó en cada uno de los muestreos, el grano se expuso por un tiempo de 72 horas a una temperatura de 103° C, ver anexo 9.2., se realizaron dos repeticiones por unidad experimental de cada contenido de humedad y sistema de almacenamiento. Para obtener el porcentaje de humedad del grano, se realizan los cálculos por medio de diferencia de peso inicial y peso final del grano expuesto a alta temperatura.

Entre los años 1963 y 1964 el medidor Motomco llegó a ser el medidor oficial en las oficinas de inspección de granos del departamento de agricultura de los Estados Unidos, este medidor ha dado lecturas muy similares a las obtenidas por el método de estufa en el 90 % de las muestras (Christensen y Kaufmann, 1976).

4.4.7 Evaluación del oxígeno y bióxido de carbono en la atmosfera de almacenamiento hermético

En el almacenamiento hermético de cada muestreo se determinó la concentración de oxígeno y de bióxido de carbono usando el analizador digital de



gases Illinois[®] modelo 6600. La toma de muestra se realizó en 15 seg, con una extracción de aire de 37.5 ml de un total de 250 ml de la muestra, éste aparato cuantifica los gases hasta partes por millón. Se calibra automáticamente, tomando como patrón el contenido de oxígeno 20.9 % y bióxido de carbono 0.03 % normal del medio ambiente.

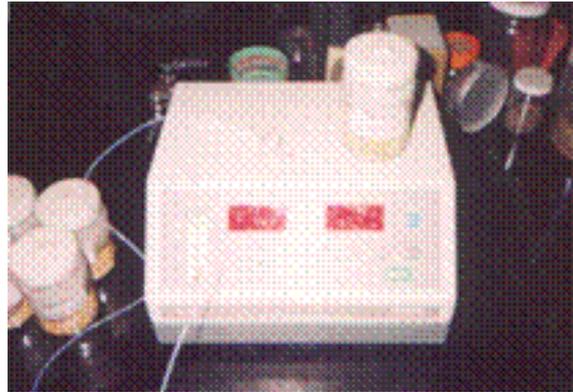


Figura 8. Analizador digital de gases Illinois modelo 6600

4.4.8 Mortalidad

Para cuantificar la mortalidad de los insectos, en cada muestreo se tamizó el grano para separar los insectos, haciendo conteo de cada uno. Posteriormente se regresó el grano ovipositado al frasco de la unidad experimental correspondiente, cambiando la tapa hermética por una tapa con malla metálica para permitir el paso del aire y evitar que los insectos salieran de la unidad experimental, estos se colocaron nuevamente en la cámara de cría con condiciones optimas para el desarrollo de la nueva generación.

4.4.9 Emergencia

La emergencia de los insectos se refiere al inicio de otra generación, obtenida de la eclosión de huevecillos y desarrollo de larvas de la primera generación. Se cuantificó al término de la experimentación, para permitir la eclosión total. Esta emergencia de insectos fue efecto de la oviposición de los insectos colocados al momento del inicio del experimento y para cada muestreo los insectos tuvieron diferente tiempo para ovipositar los granos.



4.4.10 Porcentaje de grano dañado

El porcentaje del grano dañado se cuantifico de la totalidad del grano de la unidad experimental. La cuantificación fue realizada 30 días posteriores al término de la emergencia de los insectos; que por efecto del almacenamiento hermético retrasan su desarrollo. El daño ocasionado es por la acción de la larva al preparar cavidad pupal y al emerger el insecto realiza una perforación en la testa del grano. Este daño físico se nota a simple vista, el cual tiene impacto económico en la comercialización, ya que no es aceptable para el consumo humano, por la pérdida de peso como por la contaminación de cuerpos, excretas y bajo contenido nutrimental por disminución o ausencia del germen.

4.4.11 Daño interno

El daño interno por la larva no es visible a simple vista ya que el orificio de daño inicial al entrar la larva es de un poco más de 0.2 mm (Ramírez, 1966), por lo que se tomaron radiografías para observar una posible invasión por el *A. obtectus*. La radiografía para detectar el daño interno fue realizada, solo a las muestras de almacenamiento hermético, para esto se tomo una muestra de 30 granos sin daño aparente de cada repetición de contenido de humedad y muestreo. En la Figura 9 se observa en las columnas los contenidos de humedad con sus tres repeticiones y en este caso el muestreo 2. En esta parte se demuestra el impacto del almacenamiento hermético, sobre la larva, debido a que se muestra la presencia pero sin desarrollo posterior, evitando pérdida de nutrientes y de peso.

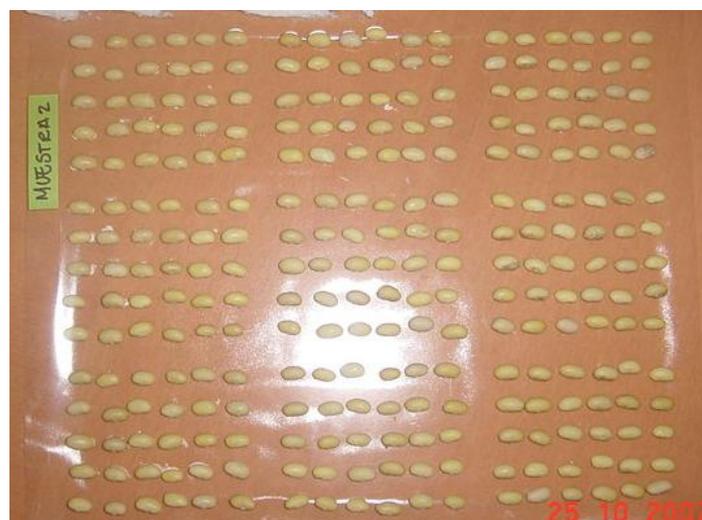


Figura 9. Posición de las semillas para la radiografía.



5. Diseño experimental

Durante la experimentación se evaluaron dos sistemas de almacenamiento; abierto y hermético, con tres contenidos de humedad (CH) del grano 8, 10 y 12 % y siete muestreos con intervalos de cinco días cada uno, hasta llegar a 35 días, con tres repeticiones

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3 x 7 x 2 con tres repeticiones, donde el primer factor corresponde al contenido de humedad, el segundo a los tiempos de muestreo y el tercero a los 2 sistemas de almacenamiento (sistema abierto y hermético) teniendo un total de 126 unidades experimentales por para ambos sistemas de almacenamiento. En los casos donde el análisis de varianza fue significativo ($p < 0.05$), se utilizó la prueba de Tukey con $\alpha = 0.05$, para la comparación de medias.

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial 2 X 3 X 7, con tres repeticiones; donde 2 son los sistemas de almacenamiento abierto y hermético, 3 son los contenidos de humedad del grano 8, 10 y 12 % y 7 son los muestreos cada cinco días. En las variables donde resultaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) se realizó la prueba de comparación de medias por medio de Tukey con $\alpha = 0.05$, los análisis fueron realizados en el programa estadístico SAS versión 9.0.

5.1 Variables de estudio

- a) Variables dependientes. Mortalidad de insectos, emergencia de insectos, grano dañado, daño interno y micobiota. En el caso del almacenamiento hermético las concentraciones de oxígeno y bióxido de carbono.
- b) Variables independientes. Contenido de humedad, periodo de almacenamiento y sistemas de almacenamiento.



6. Resultados y análisis de resultados

Para todos los resultados se realizó un análisis de varianza para determinar como interactúan y afectan la respuesta las variables independientes de la experimentación. El análisis de varianza se determina a partir de la suma de los cuadrados de las desviaciones estándar de las variables independientes del experimento. La desviación estándar por su parte, representa una dispersión de la variable, permitiendo interpretar de forma precisa las viables dentro de una distribución resultando un estimado de error (Haber y Rnyon, 1973; Mendenhall, 1979).

6.1 Prueba de germinación

El Cuadro 6 muestra los porcentajes de semillas viables de frijol utilizadas en la experimentación, muestra las 8 repeticiones de la prueba de germinación donde alcanza un porcentaje de viabilidad de la semilla mayor al 94.4 %.

Cuadro 6. Porcentajes de germinación del lote experimental del grano.

MUESTRAS	PORCENTAJE DE GERMINACIÓN
R1	98 %
R2	92 %
R3	100 %
R4	100 %
R5	94 %
R6	100 %
R7	92 %
R8	94 %
$\bar{X} =$	9.4%

Estos resultados indican que la semilla con que se realizó el trabajo contó con buena calidad fisiológica. Las muestras R3, R4 y R6, presentaron una excelente viabilidad de la semilla por germinar al 100 %. Los resultados de la germinación no mostraron la presencia, ni el ataque de insectos que afectaron la viabilidad de la semilla, evitando su poder germinativo en el campo. Estos resultados establecen una ausencia de hongos en el grano ya que van ligados a la existencia de insectos, por el daño que realizan a la semilla, permitiendo la entrada de esporas.



6.2 Micobiota del grano

Para determinar la micobiota Inicial del grano de frijol se realizó lo señalado en el capítulo Materiales y métodos en “Determinación de Micobiota”, el cual señala el uso de medio PDA para hongos de campo donde germina la semilla y MSA para hongos de almacén. Se obtuvo en PDA un porcentaje 1.8 % de *Alternaria* y para MSA se encontró el mismo hongo al 0.9%. La presencia de un mismo hongo tanto en agar de campo como de almacén indica que las esporas de este hongo no son estrictas en condiciones óptimas de desarrollo como otros; por lo tanto se pueden desarrollar fácilmente a diferentes condiciones de humedad relativa y temperatura.

Los resultados de la segunda micobiota de las siete observaciones al día 35 de la experimentación para los sistemas de almacenamiento, se muestran en la Figura 10, este indica un mayor número de colonias en el contenido de humedad 8 % en el almacenamiento abierto.

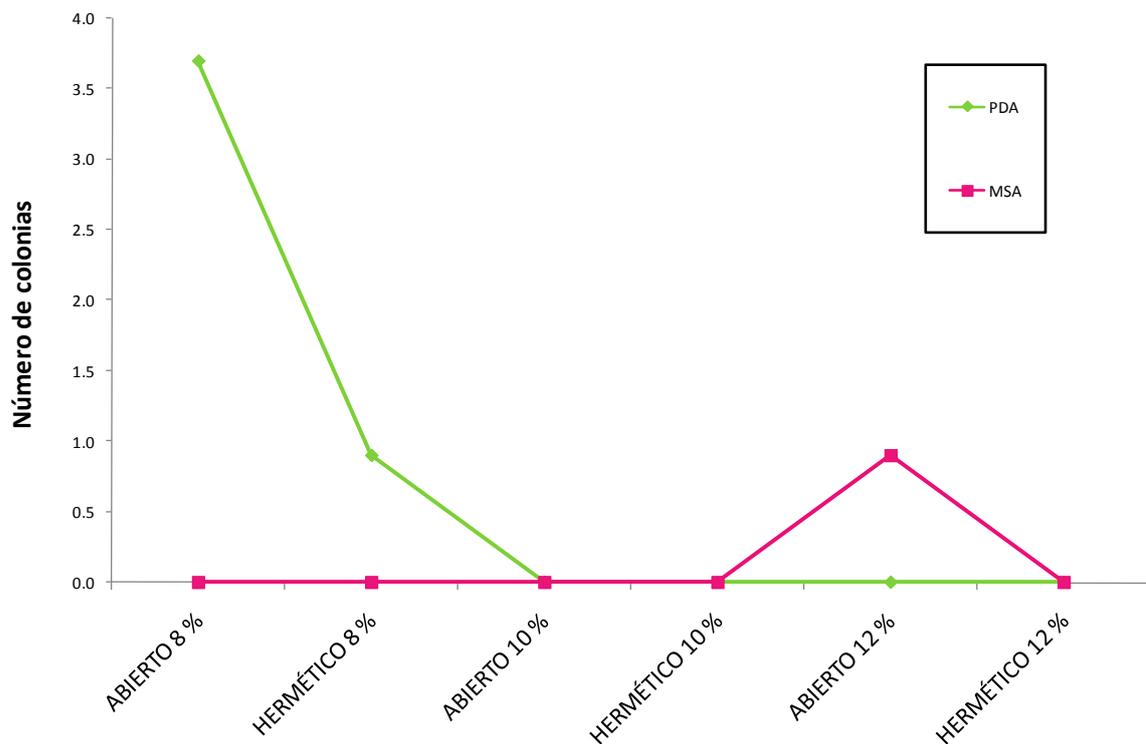


Figura 10. Número de colonias del género *Fusarium* y *Alternaria* desarrolladas en la micobiota final.



En esta micobiota el mayor número de colonias se dio durante el almacenamiento abierto en el contenido de humedad 8 %, presentando un porcentaje del 3.7 %; debido a que se detectaron dos colonias de diferentes géneros, *Fusarium* y *Alternaria* en el agar PDA. También se encontró una colonia de *Alternaria* al 0.9 % en el almacenamiento hermético de C.H. de 8 % en el medio PDA, indicando que las condiciones herméticas no fueron correctas ya que en humedades más altas existe una mayor probabilidad de desarrollo de esporas para la formación de colonias, debido que los hongos de campo requieren para su desarrollo una humedad relativa entre 90 % y 100 %. En el medio MSA solo se observó una colonia de *Alternaria* al 0.9 % en los resultados de almacenamiento abierto del C.H. de 12 % esto es por el mayor contenido de humedad, ya que los hongos de almacén requieren una H.R. entre 70 % a 90 % (Bothast, 1977).

6.3 Efectos de los contenidos de humedad del grano

Para mantener constantes los contenidos de humedad durante el almacenamiento a lo largo de la experimentación, se utilizaron sales saturadas en equilibrio con determinadas H.R.

La determinación de humedad inicial se realizó con el método electrónico Motomco usando la modalidad soy beans, ya que este aparato cuenta con memoria de cálculo de humedad para distintos granos y la soya es la que más se asemeja al grano de frijol utilizado; la humedad obtenida fue de 10.8 %. Las determinaciones de humedad durante la experimentación se calcularon por medio del método de estufa, realizando dos repeticiones por muestra.

En la Figura 11 se observa una ligera modificación en cada día al transcurrir la experimentación, esta se mantuvo dentro de una desviación estándar constante correspondiente al valor de la humedad. La humedad dentro del almacenamiento hermético permaneció constante, en el caso del almacenamiento abierto existió una variación promedio del 0.8 % en el C.H. 8 % en los 35 días de experimentación. En el C.H. de 10 % la variación fue de 0.3 % y en la humedad de 12 % de 0.4 %. Estas variaciones de humedad fueron debido al intercambio entre el C.H. del grano y la humedad relativa de la atmosfera producida por las soluciones saturadas.

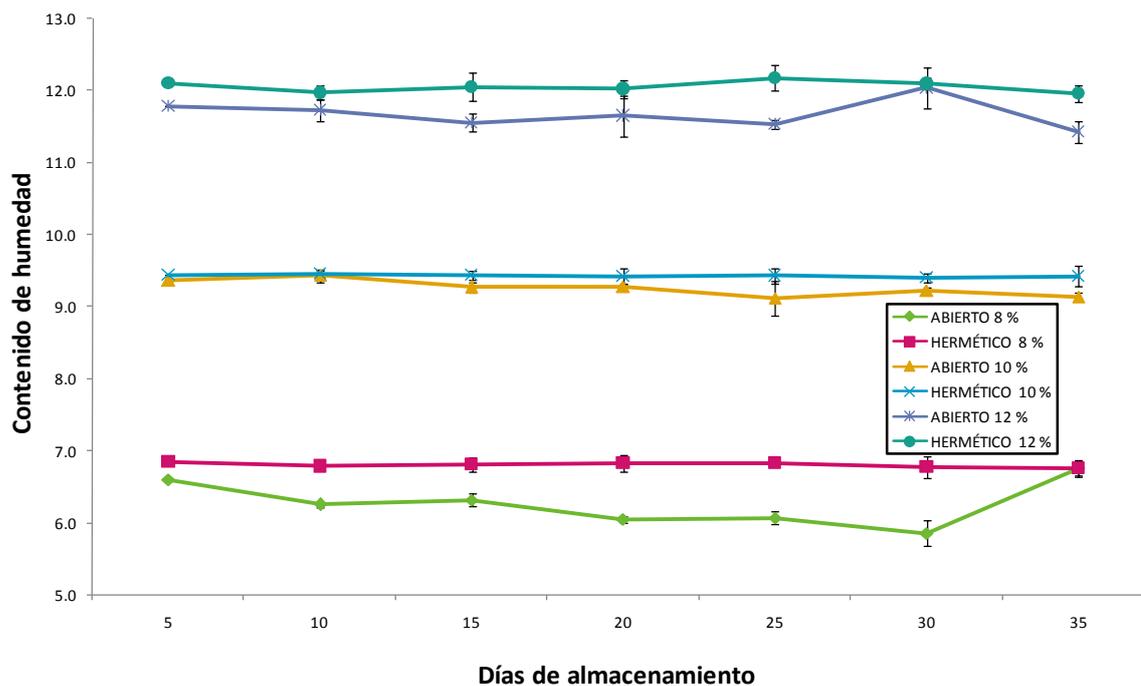


Figura 11. Contenido de humedad del grano de frijol durante el tiempo de almacenamiento.

6.4 Efecto del almacenamiento hermético, consumo de oxígeno y producción de bióxido de carbono

El nivel de oxígeno y de bióxido de carbono son los parámetros principales del almacenamiento hermético que indican los factores que contribuyen al deterioro de granos. El consumo de oxígeno es proporcional a la cantidad de insectos presentes en la unidad experimental; ya que al aumentar la cantidad de insectos se consume mayor oxígeno, por las actividades biológicas que realizan, la respiración del grano, el aumento de temperatura y el intercambio de humedad entre los granos.

Al transcurrir los días se presentó una disminución en la concentración de oxígeno; se debe tomar en cuenta que el nivel de oxígeno en el aire es de 20.9 % y que fue con este nivel como se inició el experimento en el día cero y que la disminución de este gas durante el tiempo de almacenamiento se analizó a partir del día cinco; por lo tanto no se dieron significancias entre muestreos, como lo hubiera sido si se toma en cuenta el nivel inicial del oxígeno. En el contenido de humedad 8 % no existió diferencia significativa ($P > 0.05$) entre los valores obtenidos, de un valor inicial de 10 % hasta un 8.4 % durante el período de almacenamiento. En el contenido de humedad 10 % hubo diferencia significativa, entre el día 5 y 10 al notar



una disminución de oxígeno de 10.1 % a 3.7 %, no presentó ninguna diferencia significativa y llegó a 2.8 % al día 35. Para el contenido de humedad 12 % hubo diferencia significativa a partir de día 20 con una disminución de oxígeno de 12.3 % a 3.4 %. El día 30 se presentó nuevamente diferencia significativa debido a que las concentraciones de oxígeno disminuyeron drásticamente al ser comparadas con el C.H. de 8 % de 8.1 contra 2.7 y 2.1 % de las humedades 10 y 12 %. Como se muestra en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Disminución en la concentración de oxígeno durante 35 días de almacenamiento hermético, en tres contenidos de humedad del grano de frijol (Tomando como base 20.9% de O₂ al inicio del experimento).

C.H. (%)	PERIODO DE ALMACENAMIENTO (días)						
	5	10	15	20	25	30	35
8	10,0a ¹	8,4a ¹	6,6a ¹	8,6a ¹	10,0a ¹	8,1a ¹	8,4a ¹
10	10,1b ¹	3,7a ¹	4,0a ¹	2,5a ²	2,5a ¹	2,7a ¹²	2,8a ²
12	12,3b ¹	5,0ab ¹	6,1ab ¹	3,4a ¹²	2,7a ¹	2,1a ²	1,6a ³

CH= contenido de humedad del grano de frijol.

En las filas las letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

En las columnas los números diferentes en superíndice indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$)

Los resultados entre los contenidos de humedad presentaron una diferencia significativa ($p<0.05$) a partir del día 20, entre los valores del C.H de 8 % de 8.6 % y el C.H. 10 % con un valor de 2.5 %. Esta humedad fue provocada por el impacto de una baja concentración de oxígeno afectando la respiración del insecto. En el día 30 hubo diferencia, entre el C.H. 8 y 12 % con una concentración de oxígeno de 8.1 % y 2.1 % respectivamente. La última diferencia significativa fue en el día 35, entre los tres contenidos de humedad con valores de 8.4 % en el C. H. de 8 %; 2.8 % para la humedad de 10 % y 1.6 % en la humedad de 12 %. Esta humedad tuvo un mayor consumo de oxígeno por la actividad del insecto.

En el Cuadro 8 se indica un aumento en la producción de bióxido de carbono por la respiración de los tres organismos en cuestión, hongo, grano e insecto en el almacenamiento hermético. La acumulación de este gas produce condiciones



desfavorables para los organismos aerobios provocando la muerte de insectos, la inactivación de esporas y óptimas condiciones para la conservación del grano. Conforme avanzaban los días la concentración de oxígeno disminuyó y el bióxido de carbono aumentó presentando diferencias significativas, las cuales se observan con las comparaciones de medias con Tukey, $\alpha = 0.05$.

Al igual que en el consumo de oxígeno se debe tomar en cuenta que el nivel de bióxido de carbono en el aire es de 0.03 % y que fue con este nivel como se inicio el experimento en el día cero y que la producción de este gas durante el tiempo de almacenamiento se analizó a partir del día cinco; por lo tanto no se dieron significancias entre muestreos, como lo hubiera sido si se toma en cuenta el nivel inicial del bióxido de carbono. El contenido de humedad de 8 % presentó un aumento de bióxido de carbono de 5.7 a 7 % sin existir diferencia significativa ($p > 0.05$) en la experimentación. En el C.H. de 10 % la diferencia fue en el día 5 al 10 de 5.6 a 8.9 % de bióxido de carbono, marcando una proporcionalidad indirecta entre las concentraciones de oxígeno y bióxido de carbono a lo largo de la experimentación. La humedad de 12 % presentó diferencia entre el día 5 y 10 de 4.5 a 7.6 %.

El contenido de humedad juega un papel importante en el insecto ya que repercute directamente en las actividades biológicas de este. Se notó una diferencia significativa al comparar las humedades, esta ocurrió el día 20 entre el C.H. 8 % con 6.7 % y la humedad de 10 % con un porcentaje de 8.9 %. En el C.H. 8 % la concentración de bióxido de carbono es menor debido a un bajo número de insectos comparándolo con la humedad de 10 %, en la observación 4 (día 20).

Al día 35 hubo diferencia significativa entre la humedad 8 % y 12 %. La humedad de 12 % presentó un 8.5 % al proporcionar mayor humedad al insecto y así una mayor actividad, aumento un 4 % al compararse con el día de la primera observación que fue de 4.5 % de bióxido de carbono. La humedad de 8 % solo obtuvo un aumento de 1.3 % del día 5 de 5.7 % al día 35 con un 7 % final.



Cuadro 8. Bióxido de carbono producido por la actividad de respiración dentro del almacenamiento hermético durante 35 días en grano de frijol con tres contenidos de humedad. (Tomando como base 0.03% de CO₂ al inicio del experimento).

C.H. (%)	PERIODO DE ALMACENAMIENTO (días)						
	5	10	15	20	25	30	35
8	5,7a ¹	6,8a ¹	8,7a ¹	6,7a ²	6,2a ¹	6,8a ¹	7,0a ²
10	5,6a ¹	8,9b ¹	8,3b ¹	8,9b ¹	8,8b ¹	8,4b ¹	7,7b ¹²
12	4,5a ¹	7,6b ¹	7,1b ¹	8,5b ¹²	8,2b ¹	8,2b ¹	8,5b ¹

CH= contenido de humedad del grano de frijol.

En las filas las letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

En las columnas los números diferentes en superíndice indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$)

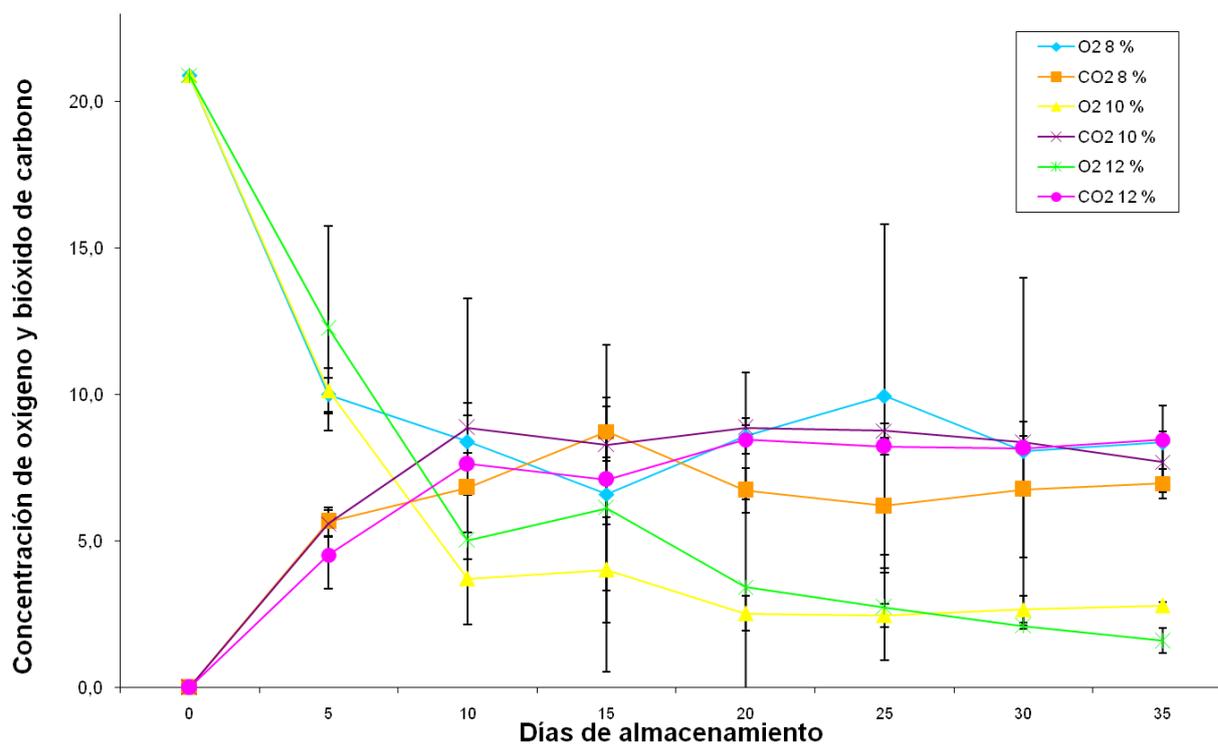


Figura 12. Disminución de la concentración de oxígeno y aumento en la concentración de bióxido de carbono en presencia de *A. obtectus* en contenidos de humedad 8%, 10% y 12% por un período de 35 días.



6.5 Mortalidad de los insectos

La presencia de los insectos representa un daño cuantitativo y cualitativo del grano, disminuyendo su calidad en el comercio e imposibilitando su consumo. Se evaluó la mortalidad en las unidades experimentales de cada almacenaje, teniendo como resultado diferencia significativa en el caso del almacenamiento hermético del C.H. 8 % a partir del día 10 de 25 % a 86.7% llegando a una mortalidad del 100 % el día 20, donde se obtuvo una concentración de oxígeno del 8.6 % y una concentración de bióxido de carbono de 6.7 %. En el C.H. 10 % se notaron dos diferencias significativas en el análisis de varianza, el primero ocurrió en el día 10 de 8.3 % a 63.3% y el segundo al día 20 hasta llegar al 100 % como se muestra en el Cuadro 9. En el día 20 la concentración de oxígeno fue de 2.5 % y de bióxido de carbono una concentración de 8.9%. Para el contenido de humedad 12 % se presentan diferencias significativas en el día 5 al día 10 con un porcentaje de 11.7 % a 31.7 % y la segunda entre 15 de 76.7 %. El día 25 llegó al 100 % la mortalidad con una concentración de oxígeno de 2.7 % y 8.2 % de bióxido de carbono.

Lo anterior afirma lo señalado por Calderón y Navarro, 1980 que la humedad de 12 %, provee de mayor actividad a los insectos ya que la humedad que requieren para sus proceso vitales la toman del grano del que se alimentan por la condensación de humedad, debida a una alta temperatura por la respiración y actividad de los insectos, induciendo un mayor consumo oxígeno.

Las humedades menores a 12 % manejadas en el experimento produjeron una mortalidad del 100 %, 5 días antes que la humedad de 12 %. Al comparar los C.H. en el sistema hermético, existió diferencia significativa el día 10 entre los C.H. de 8 % y 12 %, ya que la humedad de 8 % presentó una mortalidad de 86.7 % y el C.H de 12 % un 31.7 %.

En el sistema abierto se presenta diferencia significativa entre el primero y el segundo muestreo del C.H. 8 % de 20 a 70 % de mortalidad y después no se presentó ninguna variación significativa entre muestreos. Para el C.H. 10 % se presenta diferencia significativa entre el día 10 y 15 al aumentar la mortalidad de 21.7 % a 60 % y del día 15 al día 20 muestra diferencia significativa de 60 a 96.7 %. En el contenido de humedad 12 % se presenta una variación entre el día 5 al día 10



de 20 a 25 % y otra entre el día 10 al 25 de 25 a 71.7 %. La mortalidad en el C.H. 8 % fue de 100 % al día 25; el C. H. 10 % al día 30 y la humedad de 12 % en el día 35 presentó el 100 % de mortalidad.

Al hacer el análisis entre humedades del sistema abierto se notan diferencias significativas, la primera se dió el día 10 entre las humedades 8 % con un porcentaje de 70 % y el C.H. de 10 % con una mortalidad del 21.7 %, indicando mayor mortalidad en el C.H de 8 % por el efecto de la desecación. La segunda diferencia significativa el día 20 esta vez entre las humedades 10% con una mortalidad de 96.7 y 12 % con un 48.3 %. La diferencia significativa final ocurrió el día 25 entre los C.H. de 10 % con un 98.3 % de mortalidad y la humedad de 12 % con un 71.7 %, esta fue la última diferencia significativa ya que la humedad de 8 % llego al 100 % de mortalidad.

Cuadro 9. Mortalidad de *A. obtectus* en frijol durante 35 días de almacenamiento hermético y abierto, en tres contenidos de humedad.

SISTEMA DE ALMACENAMIENTO	C.H. (%)	PERIODO DE ALMACENAMIENTO (días)						
		5	10	15	20	25	30	35
HERMÉTICO	8	25b ¹	86.7a ¹	86.7a ¹	100a ¹	100a ¹	100a ¹	100a ¹
	10	8.3c ¹	63.3b ¹²	93.3ab ¹	100a ¹	100a ¹	100a ¹	100a ¹
	12	11.7c ¹	31.7b ¹²³	76.7a ¹²	91.7a ¹	100a ¹	100a ¹	100a ¹
ABIERTO	8	20b ¹	70a ¹²	76.7a ¹²	88.3a ¹	100a ¹	100a ¹	100a ¹
	10	13.3c ¹	21.7c ³	60b ¹²	96.7a ¹	98.3a ¹	100a ¹	100a ¹
	12	20e ¹	25de ²³	38.3cde ²	48.3bcd ²	71.7abc ²	83.3ab ¹	100a ¹

CH= contenido de humedad del grano de frijol.

En las filas las letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$). En las columnas los números diferentes en superíndice indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$)

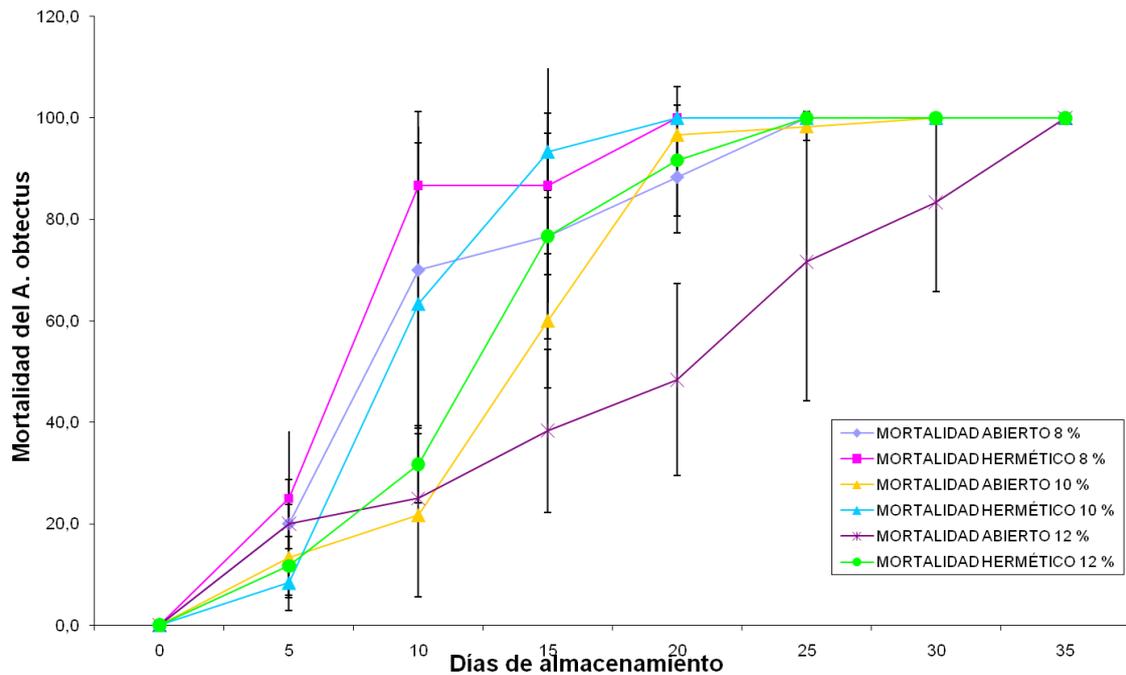


Figura 13. Aumento de la mortalidad durante la experimentación de 35 días en almacenamiento abierto y hermético de frijol a tres diferentes contenidos de humedad.

6.6 Emergencia

En el sistema abierto se registró un aumento en la población de insectos conforme el paso de la experimentación, esto es por las condiciones normales de oxígeno y bióxido de carbono, que se les proporcionó en la cámara de incubación.

Por otro lado la emergencia en el sistema hermético más prolongada fue la del contenido de humedad de 12 % que se observó hasta el día 20 con 3.7 insectos, sin que existiera diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los 35 días de la experimentación. Los C.H. de 8 % y 10 % por lo contrario presentaron una variación entre el día 5 y 10 de 7 a 0 y 32.3 a 0 insectos emergidos respectivamente. Presentando un posible daño a los estados más resistentes del *A. obtectus*, el huevecillo y la larva (Annis, 1987). Para el almacenamiento abierto en el contenido de humedad de 8 %, la emergencia no presentó diferencias significativas ($p > 0.05$) a lo largo de la experimentación pero se notó un descenso en la emergencia de 22 a 17 insectos y en el contenido de humedad de 10 % donde no presentó variación desde el inicio



con 49.3 hasta 28.3 insectos. La humedad de 12 % por el contrario presenta un aumento en la emergencia de 21 a 66.3 insectos ya que como se mencionó el alto contenido de humedad induce a una mayor actividad del gorgojo. Al día 35 se notó una diferencia de emergencia entre los C.H. 10 y 12 % de 38 insectos; es importante notar que el C.H. de 10 % marcó una disminución drástica en los resultados de emergencia de 21 insectos entre el día 5 y el 35, comparada con la humedad de 8 % que sólo tuvo una disminución de emergencia de 5 insectos entre el día 5 y el 35 como lo muestra el Cuadro 10 y la Figura 14.

Cuadro 10. Numero de insectos *A. obtectus* que emergieron en frijol durante 35 días de almacenamiento hermético y abierto, en tres contenidos de humedad.

.SISTEMA DE ALMACENAMIENTO	C.H. (%)	PERIODO DE ALMACENAMIENTO (días)						
		5	10	15	20	25	30	35
HERMÉTICO	8	7a ¹	0b ²	0b ²	0b ²	0b ²	0b ²	0b ²
	10	32.3a ¹	0b ²	0b ²	0b ²	0b ²	0b ²	0b ²
	12	31a ¹	2a ²	34a ¹²	3,7a ²	0a ²	0a ²	0a ²
ABIERTO	8	22a ¹	22.3a ¹	21a ¹²	9.7a ¹²	30a ¹²	35.7a ¹	17a ¹
	10	49.3a ¹	51a ¹	79.3a ¹	58.3a ¹²	45.7a ¹	58.3a ¹	28.3a ¹
	12	21a ¹	56.7a ¹	27.3a ¹²	92.7a ¹	65.3a ¹	56.3a ¹	66.3a ¹

CH= contenido de humedad del grano de frijol.

En las filas las letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

En las columnas los números diferentes en superíndice indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$)

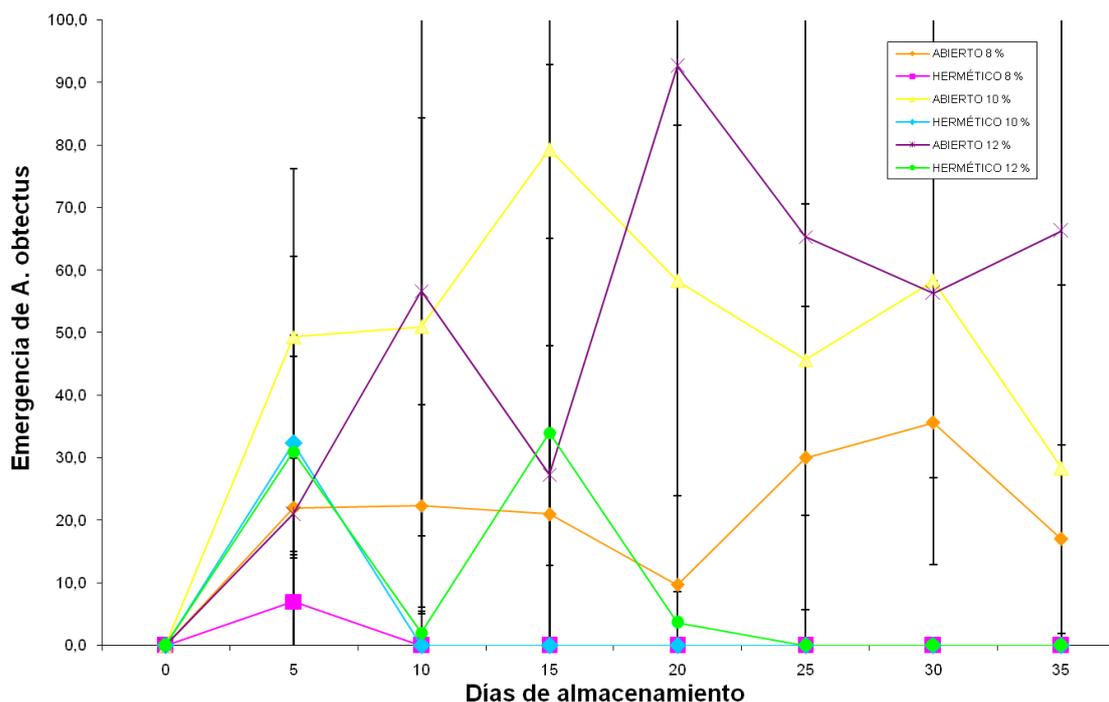


Figura 14. Emergencia de *A. obtectus* en frijol a tres diferentes contenidos de humedad bajo condiciones herméticas y abiertas durante un período de 35 días.

En los últimos días de las observaciones se observó que el almacenamiento abierto presentó una emergencia alta al compararse con el sistema hermético a niveles de concentración de bióxido de carbono y de oxígeno, que se inactiva el desarrollo de organismos nocivos que dependen de tal elemento para subsistir (FAO, 1980; Bailey, 1980; Banks, 1981).

Existieron huevecillos durante el hermetismo, estos se inactivaron con las altas concentraciones de bióxido de carbono y bajas de oxígeno, pero algunos resistieron y eclosionaron ya que la etapa larvaria es más tolerante que los adultos, permitiendo la emergencia (Annis 1987).

Al comparar el efecto de las humedades en el sistema hermético y abierto no existieron diferencias significativas entre estos dos sistemas a lo largo de la experimentación.



6.7 Porcentaje de grano dañado

Se cuantificó el daño del grano tanto en el almacenamiento abierto como en el hermético, este daño se manifiesta por la acción de la larva al preparar la cavidad pupal y presenta una perforación en la testa de la semilla por el adulto al emerger como lo muestra la Figura 16. Pueden presentarse hasta 15 cavidades en un mismo grano, dependiendo del nivel de infestación; por lo tanto el daño producido en el grano es directamente proporcional a la emergencia de *A. obtectus*.

El daño durante el almacenamiento hermético presenta diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el día 5 y el día 10 en los contenidos de humedad 8 y 10 % del almacenamiento hermético, ya que presenta daños en el grano de 1.4 y 7.6 % respectivamente, sin presentar emergencia en días posteriores, por lo tanto, tampoco ningún daño en el grano. Para el contenido de humedad de 12 % el daño fue mayor en los primeros cinco días de 11.3 % sin presentar diferencia significativa a lo largo de la experimentación.

El grano dañado presente en el almacenamiento abierto tuvo un mayor porcentaje. El almacenamiento abierto no presentó ninguna diferencia significativa ($p > 0.05$), dentro de los contenidos de humedad a lo largo de la experimentación; debido a que las condiciones fueron favorables para el desarrollo del *A. obtectus*. y como se esperaba la emergencia se incrementó a lo largo de la experimentación. El almacenamiento abierto presentó un aumento respecto al porcentaje de inicio en daño del grano en el contenido de humedad de 12% de un 2.9 % a un 12.6 % por proporcionar mayor humedad al insecto induciendo mejores condiciones para el desarrollo del gorgojo. Los C.H. de 8 % y 10 % presentaron una un menor porcentaje de daño con respecto a 12 %, esto por que en el grano existió menor disponibilidad de agua para el desarrollo de los insectos, estos datos se observan en el Cuadro 11 y en la Figura 15.



Cuadro 11. Porcentaje de frijol dañado por la emergencia de *A. obtectus* durante 35 días de almacenamiento hermético y abierto en tres contenidos de humedad del grano de frijol.

SISTEMA DE ALMACENAMIENTO	C.H. (%)	PERIODO DE ALMACENAMIENTO (días)						
		5	10	15	20	25	30	35
HERMÉTICO	8	1.4b ²	0a ²	0a ¹	0a ²	0a ²	0a ²	0a ²
	10	7.6b ¹²	0a ²	0a ¹	0a ²	0a ²	0a ²	0a ²
	12	11.3a ¹²	0.6a ²	8.3a ¹	0.8a ¹²	0a ²	0a ²	0a ²
ABIERTO	8	4.1a ¹²	3.9a ¹²	3.3a ¹	1.3a ¹²	5.9a ¹²	5.6a ¹	3.8a ¹²
	10	18.9a ¹	13.1a ¹	14.2a ¹	17.4a ¹	11.8a ¹	14.0a ¹	8.8a ¹
	12	2.9a ¹²	18.3a ¹	5.1a ¹	14.7a ¹	15.7a ¹	16.0a ¹	12.6a ¹

CH= contenido de humedad del grano de frijol.

En las filas las letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

En las columnas los números diferentes en superíndice indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$)

Al realizar una comparación entre las humedades en el sistema hermético y abierto no se encontró ninguna diferencia significativa a lo largo de la experimentación.

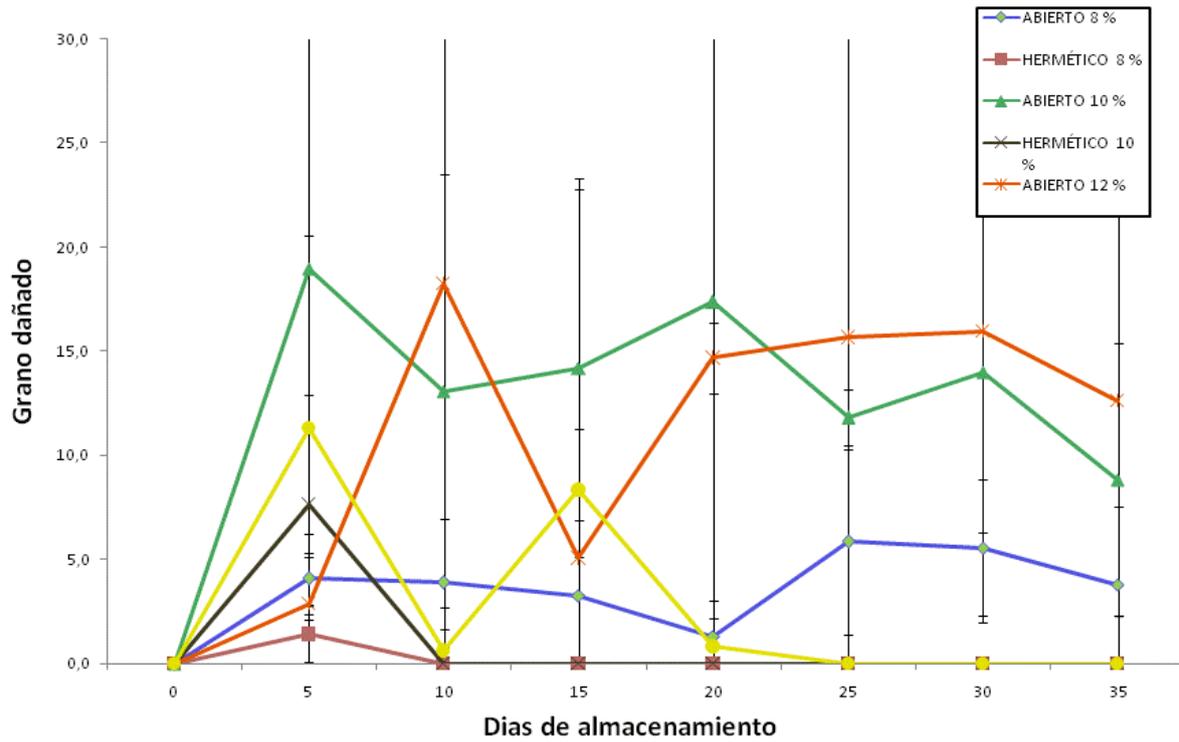


Figura 15. Porcentaje de grano dañado por *A. obtectus* en frijol con diferentes contenidos de humedad durante un período de almacenamiento de 35 días.



Figura 16. Daño producido por *A. obtectus* en la fase final de su desarrollo, representado por las cavidades de emergencia del adulto.



6.8 Daño interno

El daño interno se refiere a la presencia de larvas de *A. obtectus* en el interior del grano, indicando un resultado más amplio sobre el daño que produjo el insecto sobre el grano, ya que este se alimenta del embrión y los cotiledones disminuyendo el valor nutritivo, peso y valor comercial. Este porcentaje se obtuvo sólo para el almacenamiento hermético, por medio de radiografías, para comprobar la eficacia del método de almacenamiento.

Al analizar el Cuadro 12, se observa diferencia significativa ($p < 0.05$) en el contenido de humedad de 10 % al día 10 con daño del 1.1 al 0 %. Estos resultados concuerdan con la emergencia, ya que se llegó a 0 % al día 10 en las humedades de 8 y 10 %, como muestra el Cuadro 12 y la Figura 17.

Cuadro 12. Porcentaje de daño interno en el grano de frijol en tres contenidos de humedad, durante 35 días de almacenamiento hermético.

C.H. (%)	PERIODO DE ALMACENAMIENTO (días)						
	5	10	15	20	25	30	35
8	1.1a ¹	0a ¹	0a ¹	0a ¹	0a ¹	0a ¹	0a ¹
10	11.1b ¹	0a ¹	0a ¹	0a ¹	0a ¹	0a ¹	0a ¹
12	12.2a ¹	12.2a ¹	0a ¹	7.8a ¹	0a ¹	0a ¹	0a ¹

CH= contenido de humedad del grano de frijol.

En las filas las letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$).

En las columnas los números diferentes en superíndice indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$)

La comparación entre humedades del sistema hermético para el daño interno no muestra diferencia estadística a lo largo de la experimentación esto es por que a la segunda observación se llegó al 0% de daño en los C.H. de 8 y 10 %, por la inactivación de larvas a altas concentraciones de bióxido de carbono y niveles bajos de oxígeno. El C.H. de 8 % hermético al día 10 tuvo una concentración de oxígeno de 8.4 % y de bióxido de carbono de 6.8 %. En el C. H. de 10 % presentó una concentración de bióxido de carbono de 8.9 %. y el nivel de oxígeno fue de 3.7 %



corroborar lo citado por Moreno *et al.*, 2000, él menciona que los insectos detienen su desarrollo cuando el nivel de oxígeno es de 3 % o menos.

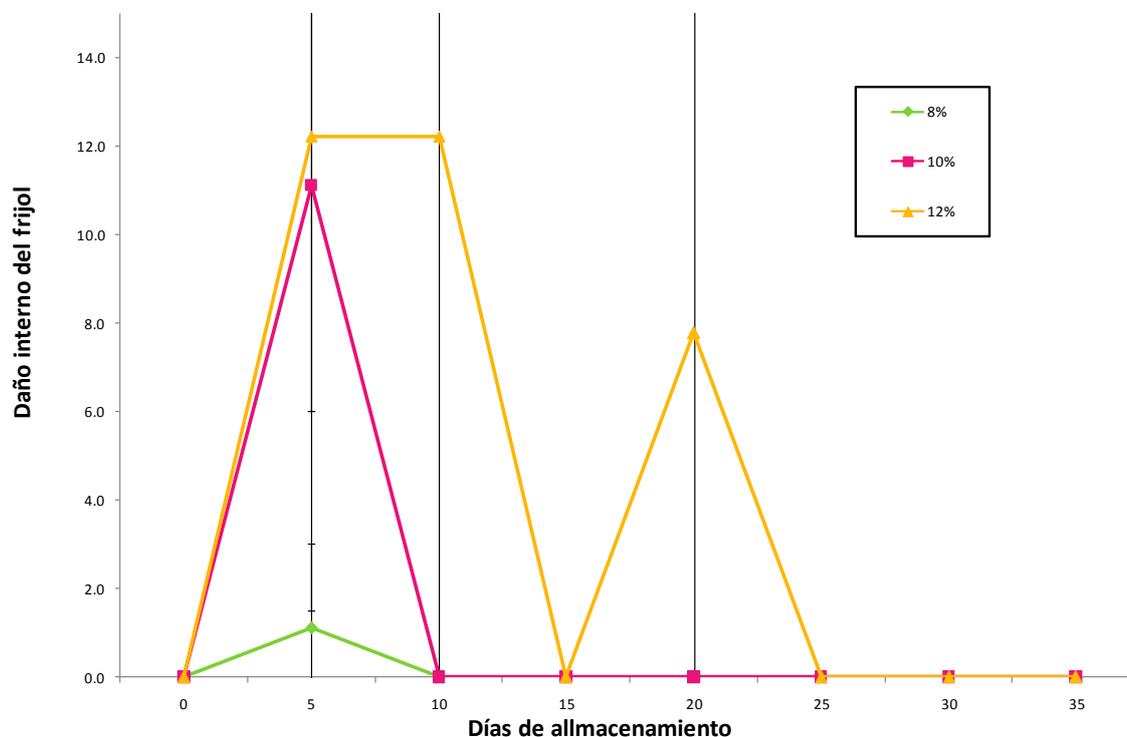


Figura 17. Daño interno del grano a contenidos de humedad 8%, 10% y 12% durante almacenamiento hermético por 35 días.

El daño por la larva se muestra en mayor nivel para el contenido de humedad de 12 %, al iniciar las observaciones con un daño interno del 12.2 % pero disminuye drásticamente en el día 15 hasta 0 %. Existió posteriormente un daño de 7.8 % en la cuarta observación en el día 20.

Como se observa en el porcentaje de grano dañado (Cuadro 11) y el daño interno del grano de frijol en almacenamiento hermético (Cuadro 12), a partir del día 10 en los C.H. de 8 y 10 % ya no existieron granos dañados por efecto del desarrollo de *A. obtectus* y a partir del día 25 para el C.H. de 12 %; estos resultados idénticos se atribuyen a que estados larvales iniciales no se desarrollaron en condiciones de niveles bajos de oxígeno y altos de bióxido de carbono, y por lo tanto, tampoco se observaría daño externo del grano de frijol. García 2004, menciona que tanto bajos niveles de oxígeno y altos de bióxido de carbono aunados al bajo contenido de humedad del grano, no permiten el desarrollo de *A. obtectus* y por lo tanto no existe



daño físico del grano de frijol; concordando lo anterior con los resultados aquí presentados.

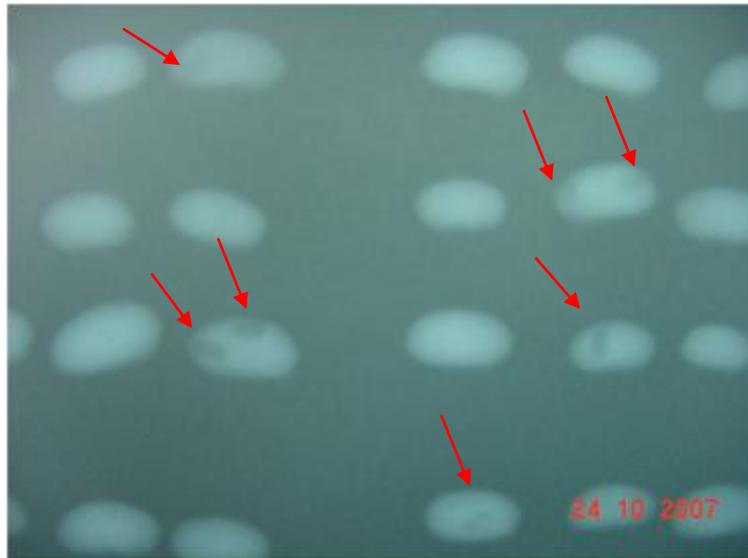


Figura 18. Radiografía de grano, presenta siete larvas en el interior del grano.



7. Conclusión

1. *A. obtectus* y el grano por medio de su respiración generan dentro del sistema de almacenamiento hermético una atmosfera desfavorable para el desarrollo de una nueva generación de insectos, al disminuir los niveles de O_2 y aumentar el CO_2 .
2. El almacenamiento hermético es efectivo, al inactivar las larvas dentro de los granos, al llegar al 0 insectos emergidos para el día 10 en los contenidos de humedad de 8 y 10 % con concentraciones de oxígeno de 8.4 y 3.7 % respectivamente y para el día 25 con contenido de humedad de 12 % y con nivel de oxígeno de 2.7 %.
3. Las altas concentraciones de bióxido de carbono evitaron la emergencia de *A. obtectus* al día 10 en los C.H. de 8 y 10 % a niveles de 6.8 y 8.9 % de CO_2 . Y al día 25 para la humedad de 12 % con un 8.2 % de CO_2 .
4. El tiempo de almacenamiento y los niveles antes mencionados de O_2 y CO_2 junto con la acción de desecación por humedades bajas del grano de frijol, no permitieron el desarrollo de *A. obtectus*.
5. Para el almacenamiento del grano de frijol se recomienda el sistema hermético por al menos un periodo de 30 días a un contenido de humedad de 10 % para evitar al 100 % el daño.



8. Bibliografía

- Abasto y Comercialización de productos básicos frijol, 1988. Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática, Secretaria de Comercio y fomento industrial y Sistema de vigilancia Alimentaria y Nutricional, México.
- Aduke J., 1981. Handbook of legumes of World Economic Plendum Press N.Y.
- Agarival V. R. y Sinclair J. B., 1987. Principles of seed pathology, CRC Press, Boca Raton Florida.
- Aguilera F. M. y Herrera R., 1986. Guía para la cosecha y almacenamiento de frijol, Ed. Oficina de comunicaciones IDEMA (Instituto de Mercadeo Agropecuario) Bogota.
- AgroRed, Revista. Julio del 2003. Año IV No. 37. La importancia del frijol. Edo. de México.
- Aldana A., y Claves A., 1985. Evaluación de las pérdidas en el frijol causadas por los gorgojos *Zabrotes subfasciatus* Boheman y *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae). Resúmenes del XII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología Medellín, Colombia.
- Annis P. C., 1987. Towards rational controlled atmosphere dosage schedules, A review of ocurrent knowledge. In: Donahaye, E., Navarro, S. Proceedings of de 4th International Working Conference on Stored Products Protection. Mmaor-Wallach Press, Jesusalem.
- Anon, 1949. Conservación de granos y almacenamiento en silos subterráneos. Ministerio. de Agricultura y Ganadería, Buenos Aires, Argentina.
- A.O.A.C, 1984 Association of the official Analytical Chemistry, ed. 12th, USA.
- Arias C. y Dell'Orto H., 1993. Distribución e Importancia de los Insectos que Dañan Granos y Productos Almacenados en Chile. FAO/INIA.
- Badui D. S., Bourges R. H. y Anzalúa M. A., 1993. Química de los alimentos 3a ed., Ed. Longman de México, México.
- Bailey S. W. y Banks J., 1980. A review of recent studies of controlled atmospheres on stored product pests. In: Controlled atmosphere storage of grain Ed. J. Shejbal. Elsevier, Amsterdam. 101-118 pp.



- Banks H. J., 1981. Effects of controlled atmosphere storage on grain quality: a review. *Food Technology in Australia*. 33: 355-340.
- Baur F. J., 1983. *Insect Management for Food Storage and Processing*. American Association of Cereal Chemist. St. Paul, Minn. USA.
- Belitz H. D. y Grosch W. 1997. *Química de los alimentos* 2ª ed., Ed. Acribia, Zaragoza, España.
- Bothast R. J., 1977. Fungal deterioration and related phenomena in cereals, legumes and oil seeds. Presentado en el Simposio Básico en Biología y Tecnología Poscosecha, Philadelphia, Junio 3-4
- Bourges H., 1992. *Nutrición y Alimentos su problemática en México* Ed. Continental S.A. de C.V. México 5ª Reimpresión México
- Burrell, N. J., 1968. Miscellaneous experiments on grain storage under plastic sheeting. V. The control of insects in infested wheat in a glass-fibre and plastic bin. Agricultural Research Council, Pest Infestation Laboratory Report.
- Burrows W., 1984. *Tratado de microbiología*, 21ª ed., Ed. Interamericana, México.
- Carrero J. M. y Planes S. 1995. *Plagas del campo*, 12ª ed., Ed Mundi-Prensa, España.
- Cartin, L. V. A., 1979. Influencia del cultivar y del tiempo de almacenamiento de *Phaseolus vulgaris* L., sobre el ataque de *Acanthoscelides obtectus* Say. (Coleóptera, Bruchidae).
- Cheftel J. C., 1992. *Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos Vol I*. Ed. Acribia, 2ª Reimpresión, Zaragoza España
- Christensen C. M., 1957. Deterioration of stored grains by fungi, *Bot. Rev.* 23:108-134.
- Christensen C. M., 1978. *Storage of cereal grains and their products*. American Association of Cereal Chemist. St. Paul, Minnesota, U.S.A.
- Christensen C. M. y Kaufmann H., 1976. *Contaminación por hongos en granos Almacenados*, Pax-México, México D.F.
- Christensen C. M. y Kaufmann H., 1974. *Microflora In Storage of cereal grains and their products* (Ed. CM. Christensen) Amer. Assoc of cereal Chem. St Paul



- Christensen C. M y Kaufmann H., 1969. Grain Storage. The role of fungi in quality H.H. loss. Univ. Minn. Press, Minneapolis.
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical), 1979. principales Insectos que Atacan al Frijol Almacenado. guía de Estudio. CIAT, Serie 04-SB-05, 03.
- Claridades, 2003. Revista Claridades agropecuarias, ACERCA, SAGARPA, México D. F.
- Cornejo V. M. A., 1993. Alternativa en la producción de Tempeh con diferentes variedades de frijol de consumo nacional. Edo de México.
- Cuautepotzo A. A., 1985. Evaluación experimental del almacenamiento del arroz palay variedades Morelos A-7, Cuautitlán.
- De Lima, C.P.F., 1990. Airtight storage: Principle and Practice. In: Calderon, M. and Barkai-golan, Rivka Ed., Food preservation by modified atmospheres, Chapter 2, CRC Press Inc., Boca Raton, Florida. 9-19.
- Dell'Orto T. H., 1985. Insectos que dañan granos y productos almacenados, Serie Tecnología Poscosecha, Oficina Regional de la FAO para América Latina y Caribe, Santiago Chile.
- Donahaye, E., Navarro, S., and Calderón, M., 1967. Storage of barley in an underground pit sealed with a PVC liner. *Journal of Stored Products Research*, 2, 359-364.
- Dunkel, F., Sterling, R., and Meixel, G., 1987. Underground bulk storage of shelled corn in Minnesota. *Tunnelling and Underground Space Technology*, 2(4): 367-371.
- Elias L. G., García S., Brezan R., 1986. Métodos para establecer la calidad tecnológica y nutricional del frijol, Publicaciones L-33, INCAP (Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, Guatemala).
- F. A. O., 1980. Almacenamiento hermético de Granos. Organización de las Naciones Unidas. Roma Italia.
- Flores V. M., 1977. Distribución de los insectos de Almacén en México. Memorias del V Simposio Nacional de Parasitología. México, D.F. pp: 141-168.
- García P. M. A., 2004. Efecto del Almacenamiento hermético del grano de frijol, sobre el desarrollo de los gorgojos, *Zabrotes subfasciatus* Boh. y *Acanthoscelides obtectus* Say Cuautitlán.



- Godinéz C. J., Moreno M. E., 1990. Folleto Técnico en conservación de granos enteros, Num 1 ANDSA, México D.F.
- González H., 1982. Control químico de insectos de almacén gaceta CENICCANDSA año 1 ene-feb ((1982 num 4 y 5 Vol I, México, Webb B.D. y Stermer R. A. (1972) Criteria of Quality capítulo VIII en Rice: Chemistry and technology editado por D.F. Houston. The American Association of cereal chemists. St Paul (Minnesota)
- Guzmán M. S. H., 1989. Estudio de algunas variables que afectan el tiempo de cocción del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Celaya, Guanajuato.
- Haber A. y Ranyon R. P. 1973., Estadística general, Fondo Educativo Interamericano, México.
- Hall C. W., 1980. Drying and storage of agricultural crops. Avi publishing Westport, C. T.
- Hall D. W., 1971. Manipulación y almacenamiento de granos alimenticios en las zonas tropicales y subtropicales. FAO (Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación), Roma Italia.
- Hart A. M. y Leslie F., 1991. Análisis Moderno de los Alimentos, 2ª reimpresión, Acribia, Zaragoza España.
- Hyde M. B., 1965. Principles of wet grain conservation. Journal and Proceedings of the Institute of Agricultural Engineering 21, 75-82.
- Kawasugi, S., Hawashima K. and Siracha P., 1994. Prevention of aflatoxin contamination in Thai maize. 2. Distribution of maize with high moisture content and methods of control of *Aspergillus flavus* infection. JIRCAS-Journal pp. 1, 9-17.
- Kenneford, S. and O'Dowd T., 1981. Guidelines for the use of flexible silos for grain storage in tropical countries. *Tropical Stored Products Information*, 42, 11-20.
- Klein R. K., 1986. Pictorial guide for Rapid Identification of Common Adult Storage Insects. International Association of Milk, Food, and Environmental Sanitarians.
- Koneman E. W., 2001. Diagnóstico microbiológico, 5ª ed., Ed. Panamericana, España.
- Lamieson M. y Lobber, 1974. Manejo de los alimentos Vol I, Pax-México, México.



- Lee N. E., 1960. Harvest and harvesting through the ages. Cambridge University Press. Cambridge U. K.
- Leiner I. E., 1977. Nutritional aspects of soy protein products. Journal American oil Chemistry society 54:454-473.
- Lepiz I., 1982. Logros y aportaciones de la investigación agrícola en el cultivo del frijol. SARH. México. Publicación especial No. 83
- Lindblad C. y Drubeh L., 1976. Almacenamiento del grano Concepto, México D.F.
- Loya R. J. G., 1977. Efecto de los Rayos gamma sobre *Zabrotes subfasciatus* Boh. (Coleoptera: Bruchidae) y algunas observaciones sobre su comportamiento biológico, México.
- Luna L. C. y Evangelista C. F., 1992. Infestación del frijol *Phaseolus vulgaris* L. en el campo por plagas de granos almacenados en Iguala, Gro. Escuela Superior de agricultura de la Universidad Autónoma de Guerrero.
- Masefield G. B., 1950. A short history of Agriculture in the British colonies, Oxford University Press London.
- McFarlane, J. A., 1970. Insect control by airtight storage in small containers. *Tropical Stored Products Information*, 19, 10-14.
- Mendenhall, 1979. Introducción a la probabilidad y estadística Wadsworth internacional Iberoamericana, EUA.
- Menéndez A. E., 1977. El uso de variedades resistentes de frijol como una alternativa para evitar el daño causado por los gorgojos en el frijol almacenado. Memoria del V Simposio Nacional de Parasitología Agrícola, México D.F. pp 25-29.
- Microorganismos de los Alimentos, 2000. Significado y métodos de numeración, 2ª ed, volumen 1, Comité Editorial, Zaragoza España.
- Moreno M. E., 1996 Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. UNAM. Tercera edición. México D.F.
- Moreno M. E., Jiménez A. S., Vazquez E. M., 2000. Effect of *Sitophilus zeamais* y *Aspergillus chevalieri* on the oxygen level in maize stored hermetically. *Journal of stored products Research* 36 (2000) 25-36pp.
- Moreno M. E., Mandujano M. Mendoza y G. Valencia, 1985. Use of fungicides for corn seeds viability preservation, seed Sci&Technol 13:235-241.



- Moreno M. E y Ramirez, 1982. Efecto de fungicidas en el control de hongos de almacén. Bol. Soc Mex. Mic 17:95-98.
- Moreno y Ramirez, 1985. Protective effect of fungicides on corn seed storage with low and high moisture contents seed Sci&Technol 13:285-290
- Moreno M. E. y Vidal, 1981. Preserving the viability of stored maize seed with fungicides, Plant Dis 65:260-261.
- Navarro, S. and Donahaye, E., 1976. Conservation of wheat grain in Butyl rubber/EPDM containers during three storage seasons. *Trop. stored Prod. Inf.* 32: 13-23.
- NMX -F-255-1978 método de conteo de hongos y levaduras.
- NOM-116-SSA1-1994 Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico método por arena o gasa.
- Obrador Rousseau J., 1984. Cosecha de Granos Trigo , Maíz, Frejol y Soya, INIA, (Instituto de Investigación Agropecuarias Estación Experimental la Platina. Oficina Regional de la FAO PARA América Latina y el Caribe, Santiago Chile
- O'Dowd, E. T. and Kenneford, S. M., 1982. Field performance of flexible silos in the tropics. TDRI Report No. G179.
- Osborne D. R. y Voogt P., 1986. Análisis de los nutrientes de los alimentos, traducido por el profesor Dr. Andrés Marcos Barrado, Ed. Acribia, Zaragoza España.
- Oxley, T. A. and Wickenden, G., 1963. The effect of restricted air supply on some insects which infest grain. *Annals of Applied Biology*, 51, 313-324.
- Parsons M. Sc. David B., 1983. Frijol y Chicharo, Ed Trillas 2ª reimpresión México.
- Pierre, D. and M. Pimbert, 1981. Some data on the reproductive activity of *Zabrotes subfasciatus* in the laboratory. In: V. Laberie (ed). International Symposium on the Ecology of Bruquids attacking legumes (pulses), Tours, France. 1980. proceedings. The hague, Junk. Series entomology. 9: pp 113-123.
- Pixton S. W. and Hill S. T., 1967. Long term storage of wheat II J. Sci Food Agric 18:94-98.
- Puzzi, D., 1977. Manual de armazenamento de graos. Sao Paulo, Brasil, Editora Agronômica CERES.



- Quintín O. J. 1977. Tablas de valores nutritivos para cálculos, Méndez México.
- Ramirez G. M., 1966. Almacenamiento y conservación de granos y semillas, Ed Continental S.A. de C.V. México.
- Ramírez G. M., 1981. Almacenamiento y Conservación de granos y Semillas. C.E.C.S.A. México. Octava Impresión. 300 pp.
- Raymond G. A. T., 1999. Vegetable seed production, 2ª ed, Ed, CABI, New Cork USA.
- Reyes Tellez M. M. 1988. El almacenamiento hermético de maíz y su efecto en la calidad de la masa para tortilla, México D. F.
- Rippondolin Willard, 1990. Microbiología Médica, 3a ed., Ed. Interamericana McGraw-Hill, México.
- Sartori M. R. and Vitti P., 1991. Influencia do armazenamento hermetico do mihlo contenor de humidade moderadamente elevada sobre sus características de moagem por via umida. Instituto Tecnología de Alimentos de Brazil 21, 100-106.
- Saver D.B., 1992. Storage of cereal grains and their products, 4a ed, Ed American Association of cereal chemists, Inc ST Paul Minnesota USA.
- Séanez P. P., 1981. Principios sobre manejo almacenamiento y conservación de granos. Tesis profesional ENCEB-IPN México.
- Sifuentes J. A., 1981. Plagas del frijol en México SARH-INIA, México D. F. Folleto Técnico Num. 78 pp 28.
- Sigout F., 1980. Significance of underground storage in traditional systems of grain production: In: Shejbel, J. (Ed) Controlled atmosphere storage of grains. Elsevier, Amsterdam pp. 3-13.
- Subramanyam, B. and Hagstrum D. W., 1996. Integrated Management of Insects in Stored Products. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Trueba Lara J.L.1989. Historia del Almacenamiento de granos en México Tomo I, Ed. ANDASA (Almacenes Nacionales de Depósito SA) México D.F.
- Varnava, A., Navarro S. and Donahaye E., 1995. Long-term hermetic storage of barley in PVC-covered concrete platform under Mediterranean conditions. Postharvest Biology and Technology pp. 6, 177-186.



- Wang N., Zhang Q.Q., Zhang Y., and Xu H., 1993. The combined action of low-temperature, low-oxygen and low-phosphine concentrations in the "Triple-Low" grain storage technique. In: Navarro, S. and Donahaye, E. ed., Proceedings International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Grain Storages, Winnipeg, Canada, June 1992, Jerusalem, Caspit Press Ltd., 271-280.
- Winston W. P. and Bates H. D., 1960. Saturated solutions for the control of humidity in biological research, Ecology, Vol 41. No 1. Department of Biology University of Colorado Boulder, Colorado.
- Xu Huinai and Wang Nanyan, 1993. Present and prospective state of the "Triple-Low" grain storage technique. In: Navarro, S. and Donahaye, E. ed., Proceedings International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Grain Storages, Winnipeg, Canada, June 1992, Jerusalem, Caspit Press Ltd.
- Younie D., Taylor B. R., Welsh J.P., Wilkinson J. M., 2005. Cereales y legumbres ecológicas, Acribia, Zaragoza España.



9. Anexos

9.1 Técnica de identificación de microcultivo en portaobjetos

1. Colocar un trozo circular de papel filtro o gasa sobre el fondo de la Caja Petri estéril. Colocar una varilla lista para sistema de microcultivo encima del papel filtro, funcionara como apoyo de portaobjetos.
2. Colocar un cuadrito de agar dependiendo el de la muestra SDA o PDA de aproximadamente un centímetro sobre la superficie del portaobjetos.
3. Inocular los bordes del cuadro de agar una pequeña porción de colonia, mediante un asa recta o con punta en forma de L.
4. Calentar el cubreobjetos con suavidad, pasándolo con rapidez en la llama del mechero y colocarlo inmediatamente sobre la superficie del cuadrito de agar previamente inoculado. Calentar el cubreobjetos permite que se adhiera el agar a él.
5. Disparar con la pipeta una pequeña cantidad de agua estéril en la base de la caja Petri suficiente para saturar el papel o gasa. Tapar la caja Petri e incubar a temperatura ambiente a 25 °C a 30 °C durante 3 a 5 días.
6. Cuando hay desarrollo suficiente a la vista, se retira el agua con una jeringa estéril y se pone a inactivar el sistema colocando sobre la base de la caja solución de formol al 10% o fenol al 5% durante media hora.
7. Debe retirarse con suavidad el cubreobjetos de la superficie del agar con pinzas, sin romper el micelio adherente a la cara inferior del cubreobjeto más de lo necesario.
8. Colocar el cubreobjetos sobre una pequeña gota de azul de lactófenol o azul de algodón aplicada a la superficie de otro portaobjetos. Puede preservarse sellando los bordes del cubreobjetos con líquido de montaje o esmalte de uñas transparente. Debe realizarse debajo de una campana de seguridad biológica.
9. El micelio adherente al portaobjetos también puede teñirse y taparse con un cubreobjetos como segundo preparado.

Tinción de Algodón se compone de los siguiente (Loera, 2004).

Cristales de fenol	20g
Ácido láctico	20 ml
Glicerol	40 ml



Azul algodón (Metil-azul)	0.05g
Agua destilada	20 ml

Suelen observarse tres tipos generales de reproducción en hongos, esporulación vegetativa, esporulación aérea y esporulación sexual (Koneman, 2001).

El procedimiento para la identificación es la acumulación de características.

1. Morfología macroscópica de la colonia, color, textura, topografía y rapidez o lentitud de crecimiento
2. Reverso presencia o ausencia de pigmentos característicos
3. Morfología microscópica, hifas, conidios, tamaño

Al identificarse deberá determinarse su importancia (Rippondolin, 1990).

9.2 Determinación de humedad

1. Colocar en la caja a peso constante durante 3 horas a 130° C una cantidad de producto de 4 a 6g de muestra, volver a tapar la caja y pesar con precisión de 0,1 mg (masa M2).
2. Introducir en la estufa las cápsulas abiertas y secar durante 48 horas a 103° ± 2°C, tiempo donde no se registra variación de peso de la muestra.
3. Abrir la estufa, tapar las cápsulas y colocarlas en los desecadores y pesar inmediatamente con precisión de 0,1 mg (masa M3).

El contenido de humedad en la muestra se calcula con la siguiente fórmula expresada en por ciento:

$$\text{Humedad en \%} = \frac{M2 - M3}{M2 - M1} \times 100$$

En donde:

M1 = Peso de la cápsula (g)

M2 = Peso de la cápsula con muestra húmeda (g)

M3 = Peso de la cápsula con muestra seca (g)

Nota: Indicar el valor medio de la determinación por duplicado con un decimal (NOM-116-SSA1-1994, A.O.A.C.,1984).