



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN**

Respuesta de diferentes variedades comerciales de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) al ataque del gorgojo pinto del frijol *Zabrotes subfasciatus* y la relación con su contenido de factores antinutrientales y composición química

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERÍA EN ALIMENTOS

PRESENTA:
MAYRA RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ

ASESOR: M. EN C. ENRIQUE MARTÍNEZ MANRIQUE
CO-ASESOR: DR. SERGIO JIMÉNEZ AMBRIZ

CUAUTILÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

“Vive como si fueras a morir mañana. Aprende como si fueras a vivir para siempre.”

Mahatma Gandhi

AGRADECIMIENTOS

A la UNAM, por haberme formado profesionalmente y humanamente, y permitirme conocer a grandes personas en ella. Es todo un honor pertenecer a una gran universidad que siempre tiene grandes cosas que dar.

Al M.C. Enrique Martínez Manrique, por todo su apoyo en estos años y así lograr que este trabajo fuera posible.

Al Dr. Sergio Jiménez Ambriz por enseñarme sus conocimientos en otra rama de la ciencia y darme su apoyo en este trabajo.

DEDICATORIAS

A MIS PAPAS:

Por ser todo en mi vida, por ser un apoyo incondicional, por darme tantas cosas y enseñanzas. Gracias a ustedes soy la persona que ahora ven y que esta agradecida con ustedes, por sus valores inculcados, sus conocimientos, su fortaleza, por enseñarme el significado del trabajo, por preocuparse siempre por mi educación, tantas cosas que agradecerles, pero que solo me resta decir que no me pudieron tocar mejores padres que ustedes. Les dedico este trabajo que tiene mucho de ustedes y que no solo es mi recompensa sino también suya Gracias...

A MI HERMANA ERÉNDIRA:

Por compartir toda una vida juntas, por ser mi amiga, mi alegría, por enseñarme a valorar lo que se tiene y que el amor logra grandes cosas. Alguna vez me dijiste que una hermana es una amiga para toda la vida y así ha sido porque juntas nos hemos apoyado en las buenas y en las malas.

A MI SOBRINA VALENTINA:

Un angelito que acaba de alegrar nuestro hogar con su llegada, por recordarme aún con su pequeñez el sentido de la vida.

A MIS ABUELOS:

Por cuidarnos en un momento difícil de nuestra vida, por ser una sonrisa, un abrazo, un regaño, y por su apoyo incondicional.

A MIS TÍOS Y PRIMOS:

Por su apoyo en todo momento, sobre todo en las etapas más duras y velar siempre por mi familia.

A MIS AMIGAS CHULE, XANY, DANA, MICH, PATO Y OLY:

Por ser mi familia en esta etapa universitaria, por todo lo compartido juntas tanto risas como llantos, por enseñarme el valor de la amistad. Cada una me enseñó algo de sí que llevo dentro de mi corazón. Gracias por su apoyo que sé que siempre estará ahí aunque estemos lejos.

A MIS COMPAÑEROS DE LABORATORIO 8:

Gracias por hacer que este trabajo se realizará en un ambiente alegre y divertido, gracias por ser un equipo, un apoyo y un sigue adelante, por todos los buenos y malos momentos.

A MIS AMIGAS DE LA PREPARATORIA:

Gracias por ser siempre un apoyo, por preocuparse por mi y mi familia y darme aliento a seguir adelante, aunque ya no estemos tan juntas.

FINALMENTE a todas aquellas personas que me he encontrado a lo largo de este camino, y que me han dado su apoyo y consejos para seguir adelante, gracias por dejar una pequeña parte de su esencia en mí.

ÍNDICE

CONTENIDO	Página
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. ANTECEDENTES	
3.1.Generalidades del frijol.....	4
3.2.Compuestos tóxicos y antinutrimientales en frijol.....	9
3.3.Importancia del frijol.....	11
3.4.Calidad del frijol fresco y en almacenamiento.....	13
3.5.Características generales de los insectos.....	14
3.6.Plaga del frijol.....	15
3.6.1.Generalidades del gorgojo pinto del frijol, <i>Zabrotes subfasciatus</i>	16
3.6.1.1. Características fisiológicas y morfológicas del <i>Z. subfasciatus</i>	16
3.6.1.2. Daño del <i>Z. subfasciatus</i> al frijol.....	18
3.7.Factores asociados a la resistencia de los granos almacenados.....	18
3.8.Control químico de plagas en frijoles almacenados.....	21
4. OBJETIVOS	
4.1.Objetivo general	22
4.2.Objetivos particulares.....	22
5. DESARROLLO EXPERIMENTAL	
5.1.Cuadro metodológico.....	23
5.2.Materiales y métodos.....	24
5.2.1.Preparación del material biológico.....	24
5.2.1.1. Variedades de frijol bajo estudio.....	24
5.2.1.2. Cría del gorgojo pinto del frijol <i>Z. subfasciatus</i>	24
5.2.2.Oviposición de <i>Z. subfasciatus</i> en las diferentes variedades de frijol.....	24
5.2.3.Emergencia del <i>Z. subfasciatus</i> en las diferentes variedades de frijol.....	24
5.2.4.Análisis químico proximal.....	25
5.2.5.Determinación de tamaño del frijol.....	27
5.2.6.Determinación de porcentaje de cáscara.....	28
5.2.7.Determinación de taninos.....	29
5.2.8.Determinación de inhibidores de tripsina.....	31
5.2.9.Determinación de ácido fítico.....	33
5.2.10. Análisis estadístico.....	35

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
6.1. Preparación del material biológico.....	36
6.1.1. Variedades de frijol bajo estudio.....	36
6.1.2. Cría del gorgojo pinto del frijol <i>Z. subfasciatus</i>	36
6.2. Oviposición del <i>Z. subfasciatus</i> en las diferentes variedades de frijol.....	36
6.3. Emergencia del <i>Z. subfasciatus</i> en las diferentes variedades de frijol.....	37
6.4. Análisis químico proximal.....	38
6.5. Determinación de tamaño del frijol.....	44
6.6. Determinación de porcentaje de cáscara.....	46
6.7. Determinación de taninos.....	48
6.8. Determinación de inhibidores de tripsina.....	50
6.9. Determinación de ácido fítico.....	52
7. CONCLUSIONES.....	54
8. RECOMENDACIONES.....	55
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA		PÁGINA
1	Tamaños del frijol.....	6
2	Composición química promedio de una semilla de frijol.....	7
3	Producción del maíz, frijol y arroz en México.....	12
4	Valores de referencia para la determinación del tamaño del frijol.....	28
5	Valores de referencia para la determinación del porcentaje de cáscara del frijol.....	28
6	Preparación de la curva patrón para la determinación de taninos.....	29
7	Preparación de la curva patrón para la determinación de taninos.....	29
8	Preparación de la muestra para taninos.....	31
9	Preparación de la solución de referencia para ácido fítico.....	33
10	Preparación de la curva patrón para ácido fítico.....	33
11	Humedades de las diferentes variedades de frijol sin acondicionar y acondicionadas.....	36
12	Oviposición forzada de <i>Z. subfasciatus</i> en las diferentes variedades de frijol.....	37
13	Emergencia de <i>Z. subfasciatus</i> en las diferentes variedades de frijol.....	37
14	Porcentaje de emergencia de <i>Z. subfasciatus</i> respecto a la oviposición.....	38
15	Análisis químico proximal de las diferentes variedades de frijol.....	38
16	Tamaño de las diferentes variedades de frijol.....	44
17	Porcentaje de cáscara de en las diferentes variedades de frijol.....	17
18	Porcentaje de taninos en las diferentes variedades de frijol.....	48
19	Inhibidores de tripsina en las diferentes variedades de frijol.....	50
20	Porcentaje de ácido fítico en las diferentes variedades de frijol.....	52

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Estructura externa del frijol.....	5
2	Estructura interna del frijol.....	6
3	Variedades producidas en México.....	12
4	Adulto y larva de <i>Zabrotes subfasciatus</i> Boheman.....	18
5	Ataque de <i>Zabrotes subfasciatus</i> al frijol.....	18
6	Cuadro metodológico.....	23
7	Espectrofotómetro modelo Beckman Coulter DU 530UV/Vis.....	30
8	Curva patrón para la determinación de taninos.....	30
9	Centrífuga modelo IEC Centra – 4B.....	30
10	Curva para la determinación de inhibidores de tripsina.....	32
11	Curva patrón para la determinación de ácido fítico.....	34
12	Gráfico de correlación X oviposición vs. % Carbohidratos.....	40
13	Gráfico de correlación % emergencia vs. % Carbohidratos...	40
14	Gráfico de correlación X oviposición vs. % Proteína.....	41
15	Gráfico de correlación % emergencia vs. % Proteína.....	42
16	Gráfico de correlación X oviposición vs. % Cenizas.....	42
17	Gráfico de correlación % emergencia vs. % Cenizas.....	43
18	Gráfico de correlación X oviposición vs. % Grasa.....	43
19	Gráfico de correlación % emergencia vs. % Grasa.....	44
20	Gráfico de correlación X oviposición vs. Tamaño.....	45
21	Gráfico de correlación % emergencia vs. Tamaño.....	46
22	Gráfico de correlación X oviposición vs. % Cáscara.....	47
23	Gráfico de correlación % emergencia vs. % Cáscara.....	47
24	Gráfico de correlación X oviposición vs. % Taninos.....	49
25	Gráfico de correlación % emergencia vs. % Taninos.....	49
26	Gráfico de correlación X oviposición vs. Inhibidores de tripsina.....	51
27	Gráfico de correlación % emergencia vs. Inhibidores de tripsina.....	51
28	Gráfico de correlación X oviposición vs. % ácido fítico.....	53
29	Gráfico de correlación X emergencia vs. % ácido fítico.....	53

RESUMEN

El frijol es uno de los alimentos esenciales en la dieta del mexicano y de gran importancia por todo lo que representa en tradición y a nivel socioeconómico en el país, además de ser una de las principales fuentes de proteína para la población de escasos recursos.

Existe una desventaja para los campesinos y en consecuencia para el consumidor, y son las plagas de almacén en el frijol, una de las más importantes en México es la del gorgojo pinto de frijol (*Zabrotes subfasciatus* L.), ya que se desarrolla de manera rápida y es difícil de controlar, su principal consecuencia es que afecta las características físicas y químicas de la semilla, exponiéndola a otro tipo de ataque como sería el de los hongos. Esto provoca que en México se pierda anualmente un gran porcentaje de la cosecha de frijol por esta plaga, pero es importante resaltar que, hay variedades que son más susceptibles al ataque que otras, pero no se tiene claro a qué se debe esta susceptibilidad. Es por eso que, el objetivo de este trabajo es determinar la relación entre la susceptibilidad al ataque del *Z. subfasciatus* y la composición química, características físicas y contenido de factores antinutrimientales de diferentes variedades comerciales de frijol.

Se seleccionaron seis diferentes variedades de frijol (Negro bola, Negro Jamapa, Bayo, Mayo Coba, Flor de Mayo y Pinto) las cuales, fueron infestadas con una pareja de *Z. subfasciatus* por un periodo de 48 horas. Después, se determinó el número de huevecillos ovipositados y posteriormente (21 días) los insectos emergidos en cada variedad. A las diferentes variedades de frijol se les determinó su composición química, compuestos antinutrimientales y el tamaño de la semilla y su contenido de cáscara.

La evaluación de los datos nos permitió determinar que la variedad Bayo es la más susceptible al ataque del gorgojo ya que presentó una mayor oviposición y la menos susceptible es la variedad Mayo Coba; se evidenció que para la oviposición del *Z. subfasciatus* es importante la composición de la testa: porcentaje de cáscara, contenido de minerales y taninos; mientras que para la emergencia lo son el contenido de carbohidratos y las proteínas, aquí hay que señalar que al parecer, la calidad de estos dos compuestos son lo importante y no la cantidad. Por último, se encontró una correlación positiva fuerte entre el contenido de inhibidores de tripsina y la emergencia del insecto pero sólo para las variedades Bayo, Negro Jamapa, Flor de Mayo y Mayo Coba así como con el contenido de ácido fítico pero sólo para las variedades Bayo, Flor de Mayo y Negro Jamapa.

INTRODUCCIÓN

Para México, el frijol es un producto estratégico en el desarrollo rural del país, cumpliendo diversas funciones de carácter alimentario y socioeconómico que le han permitido trascender hasta la actualidad (Bravo *et al.*, 1998). Además, el frijol es una leguminosa que constituye una rica fuente de proteínas e hidratos de carbono, y es abundante en vitaminas del complejo B, minerales y presenta un alto contenido de fibra (Bravo *et al.*, 1998).

Para garantizar la disponibilidad del frijol durante periodos largos es necesario almacenarlo y es importante mantener la calidad nutrimental y sanitaria del grano durante su almacenamiento. En México no existen cifras precisas que indiquen el volumen de pérdida de granos y semillas durante su almacenamiento; sin embargo, se estima que anualmente se pierde entre el 5% y el 25% de la producción total de maíz, trigo y frijol, principales granos básicos del país (SAGARPA-SIAP, 2007).

Durante el periodo de almacenamiento el frijol está sujeto a sufrir pérdidas debidas al ataque del gorgojo pinto del frijol (*Zabrotes subfasciatus* L.) una plaga de importancia para este producto. Existen factores químicos y físicos del frijol que favorecen o dan resistencia al ataque del gorgojo, entre ellos están algunos factores antinutrimientales como, los inhibidores de proteasas, el tamaño o la testa de la semilla (Blanco y Aguirre, 2002). Es importante señalar que no en todas las especies de insectos tienen el mismo efecto y no todas las variedades de frijol tienen la misma concentración o incluso la presencia de estos compuestos, por lo que existen variedades más susceptibles que otras (Bernal *et al.*, 2006).

Debido al ataque de insectos (como *Z. subfasciatus*) sobre el frijol almacenado, los agricultores han tenido que recurrir tradicionalmente al uso intensivo de pesticidas. Sin embargo, su utilización presenta grandes problemas, ya que al no ser específicos contra una clase particular de organismo, han generado daños considerables tanto en la ecología como a los organismos superiores, debido a que éstos también son blanco de su toxicidad. Es por ello necesario buscar y estudiar mecanismos naturales que tengan una elevada selectividad.

Por lo tanto, el presente trabajo tiene el propósito de determinar la respuesta de diferentes variedades comerciales de frijol al ataque del *Z. subfasciatus* para establecer si existe relación con su composición química, características físicas y contenido de factores antinutrimientales.

Se estudiaron seis diferentes variedades comerciales de frijol (Negro bola, Negro Jamapa, Bayo, Mayo Coba, Flor de Mayo y Pinto), cada variedad fue infestada con una pareja del gorgojo *Z. subfasciatus*, para así cuantificar los huevecillos y posteriormente los adultos emergidos de

gorgojos en las semillas de frijol. A cada variedad de frijol se le determinó su composición química, compuestos antinutrimientales, tamaño de semilla y contenido de cáscara. Lo anterior con la finalidad de determinar que variedad de frijol es más susceptible al ataque del gorgojo pinto y la relación que tiene esta susceptibilidad con sus características químicas y físicas de la semilla así como con su contenido de factores antinutrimientales.

3. ANTECEDENTES

3.1. Generalidades del frijol

La especie *Phaseolus vulgaris* es una planta originaria de Mesoamérica (que incluye a México), la cual se viene cultivando desde hace alrededor de 8 mil años, desarrollándose durante ese tiempo una diversidad de tipos y calidades de frijoles. El frijol común es muy cultivado en el área México – Guatemala ya que en estos países se encuentra una gran diversidad de variedades tanto en forma silvestre como en forma de cultivo. El frijol junto con el maíz es un alimento importante desde las épocas prehispánicas. El frijol y el maíz formaban parte elemental de los productos ofertados en los mercados locales, ya que se intercambiaban o mercantilizaban con base en las características físicas del producto (color o tamaño). Se argumenta que al principio del siglo XVI, durante la Conquista española, fueron los españoles quienes llevaron a Europa las primeras semillas de frijol. Años después, el producto fue distribuido por comerciantes portugueses en la región de África Oriental, a partir de donde los árabes, que mercadeaban con esclavos, se encargaron de diseminarlo a todo el territorio africano (Voysest, 2000).

El frijol es una planta herbácea autógama, esto es, que presenta los dos gametos sexuales dentro de la misma flor; sin embargo, puede darse el caso de una polinización cruzada (Kohashi, 1996). Es de ciclo anual y se cultiva en zonas tropicales y regiones templadas. Esta característica permite agruparla en las denominadas especies termófilas, dado que no soporta bajas temperaturas (Debouck e Hidalgo, 1985). Se distingue por ser altamente poliforme, ya que de acuerdo con el ambiente, donde se desarrolla, es posible distinguir variaciones fenológicas entre la misma especie de una región a otra (Romero, 1993). El ciclo vegetativo del frijol puede variar entre 80 (variedades precoces) y 180 días (variedades trepadoras). Dicho lapso se encuentra determinado sobre todo por el genotipo de la variedad, hábito de crecimiento, clima, suelo, radiación solar y fotoperiodo (Ortiz, 1998).

Estructura de la semilla

Las partes externas más importantes de la semilla, se detallan a continuación (figura 1):

- Testa o cubierta: se denomina tegumento o testa a la capa más externa del grano que protege a los cotiledones de los factores externos.
- Hilium: corresponde a la cicatriz dejada por el funículo; esta última estructura conecta la semilla con la placenta.
- Micrópilo: corresponde a una abertura natural existente en la semilla localizada cerca del hilium, permite la absorción de agua para el proceso de germinación.
- Rafe: corresponde a un lóbulo que proviene de la soldadura del funículo con los tegumentos externos del óvulo.

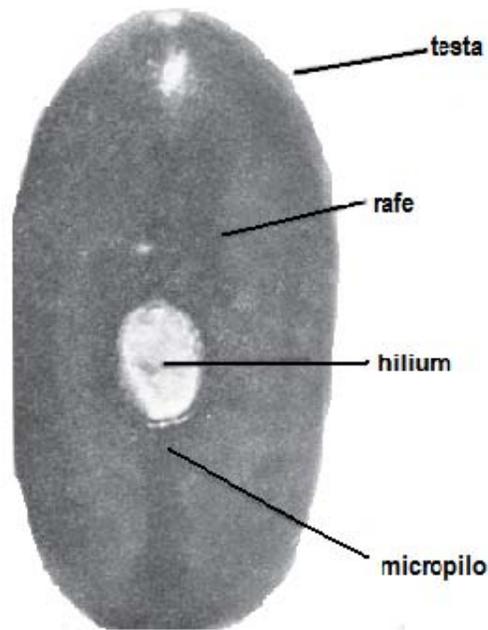


Figura 1. Estructura externa del frijol
Fuente: CIAT, 1984

La parte interna de la semilla (figura 2):

- Dos cotiledones: los cotiledones son almacenes de las principales reservas de la semilla.
- Eje embrionario que está formado por:
 - + La radícula: es la punta del hipocotilo en crecimiento
 - + El hipocotilo: es la parte del eje embrionario que queda arriba del punto de unión con los cotiledones. Al germinar la semilla; las células merismáticas del hipocotilo se desarrollan para formar la raíz primaria.
 - + El epicotilo: parte del eje embrionario que queda arriba de su punto de unión con los cotiledones. Contiene células merismáticas que crecen para formar el tallo cuando brota o germina la semilla.
 - + La plúmula
 - + Dos hojas primarias o unifoliadas.

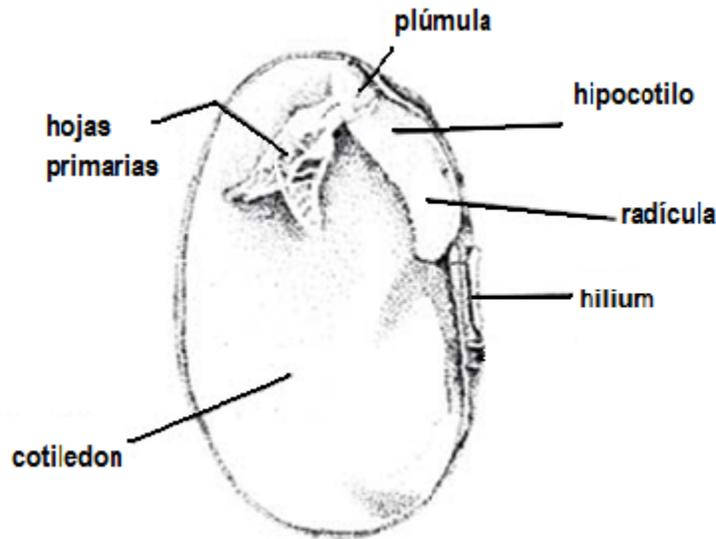


Figura 2. Estructura interna del frijol
Fuente: CIAT, 1984

Descripción de la semilla

Las semillas de frijol presentan una gran variación de colores, formas y tamaños; entre los colores se puede señalar el blanco, el amarillo, el beige, el café, el rojo, el negro o combinaciones de algunos de ellos; las formas, en tanto, pueden ser cilíndricas, arriñonadas, esférica, ovaladas, etc. Se distinguen entre ellas por:

- ❖ Forma. Según se ha visto se pueden clasificar en: esféricas, oblongas, elípticas, subcompresas, compresas.
- ❖ Tamaño. Pueden ser de diferentes tamaños como se indica en la tabla 1.

Tabla 1. Tamaños del frijol

Menores de 20 g por 100 semillas	Muy pequeño
De 20 – 30 g por 100 semillas	Pequeño
De 30 – 40 g por 100 semillas	Medio
De 40 – 50 g por 100 semillas	Normal
De 50 – 60 g por 100 semillas	Grande
Mayores de 60 g por 100 semillas	Muy grande

Fuente: Box, 1960

- ❖ Color. Según el color del tegumento, las semillas pueden ser:
 - Unicolores. De color uniforme en toda la superficie de la semilla.
 - Bicolores. De 2 colores distribuidos sobre el tegumento

- Bicolores maculadas: con una mancha de color distinto rodeando el hilo en extensión mayor que el borde. En general fuera de esta mancha no hay ninguna otra o excepcionalmente sólo algunos puntos aislados.
 - Bicolores variegadas: colores mezclados, no pudiéndose precisar cuál es el fondo.
 - Bicolores punteadas: color de fondo bien distinto, con puntos de otro color repartidos por todo el tegumento.
 - Bicolores cebrinas: sobre el color de fondo, manchas enbanadas o rayas gruesas más o menos paralelas al borde de la semilla, a veces con puntuaciones.
- Tricolores. Sobre el color del fondo (el color que ocupa mayor superficie sobre el tegumento) se presentan otros 2 colores, uno de ellos siempre rodeando la zona del hilo (disposición maculada) (Box, 1960).

APORTE NUTRIMENTAL

El frijol es una leguminosa que constituye una rica fuente de proteínas e hidratos de carbono, además es abundante en vitaminas del complejo B, como niacina, riboflavina, ácido fólico y tiamina; también proporciona hierro, cobre, zinc, fósforo, potasio, magnesio y calcio, y presenta un alto contenido de fibra.

A continuación se muestra la composición química promedio del frijol (tabla 2):

Tabla 2. Composición química promedio de una semilla de frijol

COMPONENTES	PORCENTAJES (%)
Humedad	10.0 – 12.0
Carbohidratos	58.0 – 60.0
Proteína	21.0 -40.0
Grasa	1.5 – 2.0
Fibra	4.0 -5.0
Ceniza	3.0 – 3.5

Fuente: Guzmán, 2002

Aparte de su alto valor nutricional, el frijol también posee ciertas características y beneficios que aporta al organismo, ya que los frijoles contribuyen a la prevención y el tratamiento de enfermedades crónicas (cardiovasculares, la diabetes y el cáncer), tanto por su aporte de micronutrientes (particularmente ácido fólico y magnesio) como por su alto contenido de fibra (Suárez, 2003; Reddy, 1999).

PROTEÍNAS

El frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*) es una especie muy importante, debido a que representa la principal fuente de proteína de bajo costo en la dieta del mexicano. Las variedades de frijol más consumidas en Latinoamérica, presentan un contenido de proteína promedio del 20%, con un intervalo de variación del 19.3 al 35.2% (Berry *et al.*, 1985). Por lo general, la mayor proporción de proteína en granos de leguminosas se encuentra en la fracción soluble en soluciones salinas, globulinas. La proteína del frijol presenta un alto contenido de lisina (6.4 – 7.6g/100g de proteína) y de fenilalanina mas tirosina (5.3 – 8.2g/100g de proteína), es decir, satisface todos los requerimientos mínimos recomendados por la FAO, sin embargo el frijol es deficiente en aminoácidos azufrados metionina y cisteína (Guzmán, 2002).

CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos constituyen la fracción principal (55-65%) en los granos de las leguminosas, de ellos, el almidón y otros polisacáridos son los principales constituyentes, con cantidades pequeñas pero significativas de oligosacáridos.

El almidón representa más del 50% del peso de la semilla de frijol, y es el carbohidrato dominante en la dieta humana; es considerado un carbohidrato disponible, que puede ser completamente digerido y absorbido en el intestino delgado. Sin embargo, una fracción del almidón resiste la hidrólisis por las enzimas digestivas humanas (Bravo, 1998).

FIBRA

La fibra comprende un grupo heterogéneo de polisacáridos tales como celulosa, hemicelulosa, pectina y de algunas otras sustancias que no corresponden al grupo de carbohidratos tales como la lignina, cuya característica genérica es que no pueden ser digeridos por el organismo humano, la fibra presenta un contenido promedio de 1.9% con un intervalo de variación del 1.2% al 2.6% (Fernández y Rodríguez, 2003).

La fibra es un elemento muy importante en el proceso de la digestión, ya que limita y/o disminuye la velocidad de absorción de algunos nutrientes, y favorece el tránsito intestinal. Dadas estas características, la fibra permite una absorción más lenta de la glucosa por lo que tiene efectos benéficos tanto en la prevención como en el tratamiento de la Diabetes Mellitus (Fernández y Rodríguez, 2003).

MICRONUTRIENTES

Las legumbres comestibles en general contienen cantidades apreciables de hierro y otros minerales, tales como calcio, fósforo y zinc. El contenido de zinc en los frijoles es uno de los más altos dentro de las fuentes vegetales (21 – 54mg/L). El hierro forma parte de un gran número de enzimas que interviene en la producción de energía y en el buen funcionamiento de la respuesta inmune en el ser humano (Beebe, *et al.*, 1999).

FOLATOS

El frijol aporta 316mcg/100g de folatos, estos intervienen, como parte de un complejo enzimático en los procesos asociados con la reproducción celular por lo anterior estos tienen un efecto positivo sobre el mantenimiento de los tejidos, sobre todo de aquellos que requieren de un rápido recambio (Suárez, 2003).

Diversos estudios han demostrado una asociación positiva entre niveles altos de folatos y una menor incidencia de cáncer de colon.

Adicionalmente, la deficiencia de folatos provoca un incremento en los niveles de homocisteína, lo cual causa deterioros relacionados con la formación de placas de ateroma. Esto justifica el aporte de los folatos en la prevención de la enfermedad cardiovascular (Bostic, 1997).

MAGNESIO

En cuanto al magnesio el frijol aporta 163mg/100g, este tiene un papel importante en al menos 300 reacciones enzimáticas esenciales. Posiblemente, debido a esos diversos roles, existen aún contradicciones con respecto a su posible contribución en la prevención y tratamiento de algunas enfermedades. No obstante, es claro que el magnesio forma parte de numerosas enzimas, algunas de las cuales constituyen potentes antioxidantes en la cadena respiratoria que lleva a la generación de ATP y agua a nivel de la mitocondria. Por otra parte, el magnesio parece ejercer un efecto protector contra la hipertensión y, consecuentemente, los problemas cardíacos (Laurant, 2000; Whitney, 1999).

FUENTE DE FITOQUIMICOS

El frijol también contiene sustancias fitoquímicas, tales como: fitoestrógenos, taninos, aminoácidos sulfurados y un conjunto amplio de aminoácidos no esenciales, también han sido identificados como elementos protectores contra algunos de los factores que estimulan el crecimiento de los tumores (Messina, 1995; Mc Carty, 1999).

3.2. Compuestos tóxicos y antinutrimientales en frijol

Como es conocido los frijoles representan una gran fuente de proteína, que oscila entre el 20 y 30%; sin embargo, estas presentan un bajo valor nutricional, debido a su baja digestibilidad y biodisponibilidad de los aminoácidos azufrados, factores que están relacionados con la propia estructura de la proteína, y por la presencia de factores antinutrimientales implicados en la baja digestibilidad de las proteínas en el frijol. Estos factores pueden considerarse como una característica negativa presente en el grano de frijol (Bressani, 1993).

Los factores antinutrimientales son sustancias naturales no fibrosas generadas por el metabolismo secundario de las plantas, como un mecanismo de defensa ante el ataque de mohos, bacterias, insectos y pájaros, o en algunos casos, productos del metabolismo de las plantas sometidas a condiciones de estrés, que al estar contenidos en ingredientes utilizados en la alimentación de animales ejercen efectos contrarios a su óptima nutrición, reduciendo el consumo e impidiendo la digestión, la absorción y la utilización de nutrientes por el animal. Su naturaleza, mecanismos de acción y potencia de sus efectos son muy variados y tienen una amplia distribución en el reino vegetal (Bressani, 1993).

Estas sustancias pueden inhibir enzimas digestivas, dañar la mucosa intestinal o modificar los nutrientes, obstaculizando de esta manera su absorción. Entre los llamados factores antinutrimientales podemos incluir a los oligosacáridos, taninos, inhibidores de tripsina, inhibidores de proteasa y el ácido fítico, que se relaciona con la baja digestibilidad de la proteína y reducción de la biodisponibilidad de los minerales entre otros (Bressani, 1993).

Algunos de los principales factores antinutrimientales presentes en el frijol son los siguientes:

- Taninos

Los compuestos fenólicos o taninos encontrados en la testa del frijol son térmicamente estables (Bressani, 1993). Se ha encontrado que el contenido de polifenoles es independiente del almacenamiento y de la época de siembra, y que es de 7 a 11 veces mayor en la testa o tegumento que en el resto del grano (Tiburcio, 1992).

Los taninos son ampliamente citados como importantes antinutrientes que precipitan al hierro en la preparación de la comida o en el intestino. La variabilidad en el contenido de taninos está dada por la variación en el color del grano, ya que los taninos están estrechamente relacionados con los pigmentos de la testa, por lo que las alteraciones en el contenido de taninos pueden ser evaluadas dentro de las clases de colores. Por ejemplo: los frijoles blancos presentan un bajo porcentaje de taninos; sin embargo, los frijoles oscuros y coloreados (rojos y negros) presentan un mayor porcentaje de taninos (Cárdenas, 2000). Las asociaciones entre proteínas y taninos son dependientes de las características de ambos tipos de compuestos. Los factores que determinan la relativa afinidad de las proteínas por los taninos son el tamaño de la molécula, su composición aminoacídica y el pH. Las proteínas más grandes tienden a enlazarse más fuertemente a los taninos. También lo logran con relativa facilidad las pequeñas ricas en prolina, debido a que tienen

una estructura abierta de fácil acceso para la formación de enlaces de hidrógeno (Hagerman, 1989)

- El ácido fítico o ácido mioinositol hexafosfórico (IP₆)

Se encuentra en cereales y leguminosas, es considerado un factor antinutricional debido a que reduce la biodisponibilidad de proteínas y minerales (Cheryan, 1980). En leguminosas constituye entre 1% y 2% del peso de la semilla, el fósforo del ácido fítico constituye aproximadamente el 80% del fósforo total, y se localiza fundamentalmente en el cotiledón y ejes embrionarios asociado a estructuras proteínicas (Oberleas, 1973).

Debido a que la molécula de ácido fítico contiene seis grupos fosfato con carga, es un excelente agente quelante que forma complejos con cationes minerales y proteínas. Muchos de estos complejos son insolubles y, si se considera que la solubilidad es un factor esencial para que los nutrientes sean absorbidos, la presencia de ácido fítico hace que se reduzca la biodisponibilidad de éstos y, en consecuencia, va a influir en el valor nutritivo de los alimentos. Por lo que se refiere al fósforo presente en la molécula de fitato, el hombre no lo puede aprovechar porque el organismo no produce la enzima necesaria para hidrolizar el ácido fítico (fitasa) y liberar así el fósforo de este compuesto. Los fitatos reducen la digestibilidad de las proteínas, almidón y lípidos, debido a que forman complejos con las proteínas, haciéndolas menos solubles, es decir, más resistentes a la proteólisis (Dvorakova, 1998). Los polifenoles y el ácido fítico pueden afectar la digestibilidad del almidón a través de la interacción con las enzimas amilasas (Thompson y Yoon, 1984). La acción de ciertas enzimas tales como amilasa, tripsina, fosfatasa ácida y tirosinasa son inhibidas por el ácido fítico (Harland y Morris, 1995).

La interacción del ácido fítico con las proteínas es pH-dependiente, mientras que con los cationes la interacción es debida exclusivamente a sus numerosos grupos de fosfato; éstos pueden unirse bien a un solo grupo fosfato, a dos grupos fosfato de una misma molécula o a grupos fosfato de distintas moléculas de ácido fítico (Thompson, 1986; Batten *et al.*, 1995).

- Inhibidores de tripsina

Las proteasas son enzimas naturales que hidrolizan proteínas, siendo de gran importancia para la absorción de aminoácidos de la dieta, entre ellas se encuentra la tripsina.

En leguminosas como el frijol se encuentra una sustancia inhibidora de tripsina capaz de unirse a la enzima y formar un complejo inactivo.

El inhibidor de tripsina se destruye a través de tratamientos con calor, el grado de destrucción va a depender de:

- Relación tiempo/temperatura
- Volumen de sustancia
- Volumen de agua

Son generalmente proteínas de bajo peso molecular con capacidad de asociarse con las enzimas proteolíticas y formar un complejo estable que no tiene actividad catalítica. El inhibidor de tripsina se llama Factor de Kunitz, sus efectos nocivos son retardar el crecimiento, hipertrofia pancreática, reducción de la digestibilidad de la proteína e incremento de los requerimientos de aminoácidos

azufrados. Mediante tratamientos térmicos con temperaturas superiores a 80°C debe eliminarse al menos el 80% de la concentración inicial. Aunque se ha encontrado que el inhibidor de tripsina presente en los frijoles es el constituyente antinutricional conocido por ser más resistente al calor (Wang y Chang, 1988).

Se ha visto que la acción de los factores antinutricionales no sólo consiste en interferir con el aprovechamiento de los nutrientes sino que en varios casos promueve pérdidas importantes de proteína endógena y en algunos casos produce daños al organismo del animal que los consume. Se han reportado efectos de la arcelina (glicoproteína) que se encuentra en algunas variedades de frijol silvestre que confiere resistencia a *Z. subfasciatus* (CIAT, 1988). También se ha identificado la fitohemoglutina, que es un compuesto proteínico tóxico que se presenta en el frijol negro y hace que las semillas sean menos preferidas por sus depredadores (CIAT, 1988).

3.3. Importancia del frijol

No sólo en México sino mundialmente, el frijol es la leguminosa alimenticia más importante para cerca de 300 millones de personas, que, en su mayoría, viven en países en desarrollo, debido a que este cultivo, conocido también como "la carne de los pobres", es un alimento poco costoso para consumidores de bajos recursos. El frijol se considera como la segunda fuente de proteína en África oriental y del sur y la cuarta en América tropical (SAGARPA - SIAP, 2007).

En total existen alrededor de 150 especies de esta leguminosa, aunque en México estas ascienden a 50, destacando las cuatro especies que el hombre ha domesticado, como son el *Phaseolus vulgaris* L. (frijol común), *Phaseolus coccineus* L. (frijol ayocote), *Phaseolus lunatus* L. (frijol comba) y *Phaseolus acutifolius* Gray (frijol tepari). En nuestro país las especies más importantes en cuanto a superficie sembrada y producción son las dos primeras (SAGARPA - SIAP, 2007).

Por la preferencia del consumidor, el frijol se clasifica en:

- Muy preferente: Azufrado, Mayocoba, Negro Jamapa, Peruano, Flor de Mayo y Flor de Junio
- Preferentes: Garbancillo, Manzano, Negro San Luis, Negro Querétaro y Pinto.
- No preferentes: Alubia Blanca, Bayo Blanco, Negro Zacatecas, Ojo de Cabra y Bayo Berrendo.

A continuación se muestra un gráfico (figura 3), donde se observa el porcentaje de diferentes grupos de frijol producidos en el país, siendo mayor el grupo de negros:

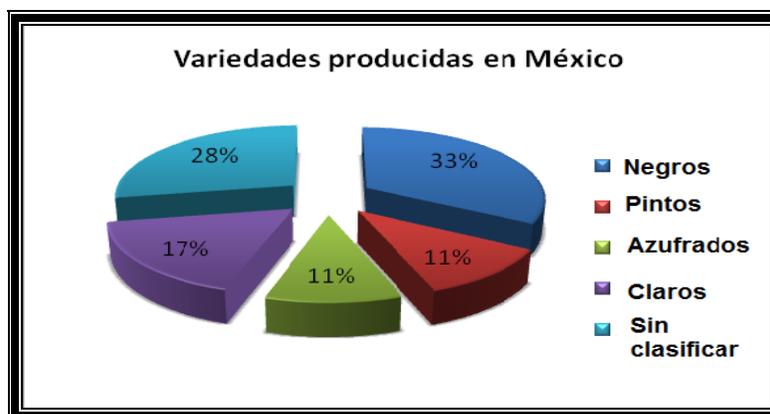


Figura 3. Variedades producidas en México
Fuente: SAGARPA - SIAP, 2007.

Actualmente esta leguminosa se enfrenta a modificaciones importantes ante una sociedad cambiante, incluidos los hábitos alimenticios, a consecuencia del urbanismo, la migración y el empleo; así como el paso de una economía cerrada a una economía global, todo lo cual está ejerciendo presiones en diversas etapas de la cadena de producción, comercialización, transformación y consumo (SAGARPA – SIAP, 2007).

El frijol se cultiva en prácticamente todas las regiones del país, bajo todas las condiciones de suelo y clima. Como generador de empleo, es una importante fuente dentro de la economía del sector rural. De esta forma, existe un sector poblacional campesino constituido por pequeños propietarios, ejidatarios, comuneros y colonos que siembran frijol, además del maíz para su subsistencia.

Después del maíz, el frijol ocupa el segundo lugar en importancia dentro de la superficie sembrada total a nivel nacional, como se muestra en la tabla 3, junto con el arroz ya que es otro de los alimentos más consumidos en el país (SAGARPA – SIAP, 2007).

Tabla 3. Producción del maíz, frijol y arroz en México

Concepto	2007
Maíz	
Producción (ton)	23,344,900
Consumo per cápita (kg) ¹	293.4
Arroz palay	
Producción (ton)	292,399
Consumo per cápita (kg) ¹	10.8
Frijol	
Producción (ton)	997,788
Consumo per cápita (kg) ¹	10.1

Fuente: SAGARPA – SIAP, 2007.

Debido a que el frijol es el segundo alimento con mayor importancia en el país (esto varía en cifras en algunos años, entre el arroz y el frijol), el almacenamiento de este debe ser el adecuado ya que

¹ Datos elaborados por el Consejo Nacional de Población y del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática con base en los resultados definitivos del II Censo de Población y Vivienda 2005.

un 39% de lo producido se distribuye a mayoristas para su venta a granel, un 26% es para las empacadoras y un 20% para autoconsumo (SAGARPA – SIAP, 2007). Con todo lo antes expuesto se observa la importancia que tiene el frijol en nuestro país para la alimentación de la población, aunado a lo que ya se mencionó sobre su aporte nutrimental.

3.4. Calidad del frijol fresco y en almacenamiento

La calidad es el conjunto de características químicas y físicas, relacionadas con el valor nutritivo-sanitario, industrial y comercial del producto agrícola, que puede ser dedicado para la alimentación humana o animal.

Uno de los principales problemas que enfrentan los pequeños y medianos agricultores para lograr un mayor ingreso por sus cosechas de frijol es la calidad del producto que logren alcanzar. Ésta se inicia en el mismo campo, con variedades resistentes y de mayor rendimiento y se continúa en la planta de acopio y empaque hasta su despacho al mercado. La conservación de granos y semillas tiene como objetivo reducir al máximo las pérdidas cualitativas y cuantitativas del producto (Pérez, 2002).

Después de la cosecha de la semilla, se realizan diferentes actividades, con la finalidad de mantener su calidad y sobre todo que el almacenamiento sea eficiente. A continuación se muestran los pasos a seguir:

- Limpieza y clasificación

Es la eliminación de materiales indeseables (paja, hojas, otros cereales, piedras, etc) la clasificación es la separación por clases (Camacho y Carrillo, 1992).

- Secado de la semilla.

La semilla debe estar seca antes de ser almacenada para que su viabilidad pueda mantenerse durante el período de almacenamiento. Como se indicó anteriormente, para obtener semilla de buena calidad hay que cosecharla con un contenido de humedad relativamente alto (18-20%). Por lo tanto, la semilla debe secarse hasta que el contenido de humedad no sobrepase el 12%.

- Selección

La selección comienza en el campo. La selección se hace más fácil y eficiente cuando se realizan controles de calidad en el campo.

- Tratamiento

Es un método preventivo en el que la semilla debe ser tratada para protegerla del ataque de insectos y microorganismos como hongos y bacterias durante el almacenamiento

- Almacenamiento

El almacenamiento es uno de los factores esenciales para el éxito de un proyecto de semilla, un almacenamiento adecuado preserva la viabilidad y el vigor. Aunque la semilla se haya obtenido siguiendo un riguroso sistema de inspección, en esto los agricultores frecuentemente tienen problemas, ya que los daños en el almacén por insectos y hongos afectan la calidad, obligando al agricultor a vender su cosecha rápidamente aún en épocas con oferta alta y bajos precios. Generalmente la semilla que se almacena es de la cosecha de postrera y el almacenamiento dura de 4 a 6 meses. La mayoría de los agricultores almacenan su semilla en sacos mezclándolo con

materiales como ceniza, cal y broza de la misma cosecha, para protegerla del daño de los gorgojos. Estos métodos se usan en forma preventiva con resultados variables.

Hay agricultores en los sistemas tradicionales de producción de semilla que han desarrollado diferentes formas de almacenamiento: en recipientes plásticos o metálicos, sacos de yute, material sintético y otros. Se ha encontrado que la mejor forma es guardar semilla en envases plásticos, con una humedad de 11%, y sellados herméticamente. Este método da buenos resultados cuando se trata de cantidades pequeñas (García, 1998).

El tiempo de almacenamiento de la semilla de frijol depende de tres factores que también predisponen al ataque de gorgojos como es el *Z. subfasciatus*:

La humedad relativa, la humedad de la semilla y la temperatura ambiental (Pérez, 2002).

Actualmente, el almacenaje se ha convertido en una práctica de elevado contenido técnico, gracias a la acumulación de experiencias a lo largo de miles de años. Asociar el almacenaje con la política actual de implantar reservas reguladoras debe llevar a conservar científicamente los granos, y a solucionar múltiples factores físicos, químicos y biológicos que se encuentran íntimamente conectados con esta compleja actividad. La cosecha en la época adecuada, la limpieza, el secado, los almacenes adecuados en cuanto a ubicación, orientación y proyecto, los silos con sistemas de aireación, y la calidad del producto durante el período del almacenaje, determinan su conservación. Por ello, en diversos lugares y en especial en América, le dan importancia a las características físicas, químicas y culinarias del grano como criterios adicionales de selección, al reconocer que la trascendencia de sus propiedades influye en su aceptación comercial (Pérez, 2002).

Existen diferentes indicadores que intervienen en la calidad nutricional de los frijoles:

Contenido de proteínas, almidón, fibra, contenido de micronutrientes y contenido de factores antinutrientales.

Según la Norma (NMX-FF-038-SCFI-2002), el frijol se clasifica en tres grados de calidad:

+ Categoría extra

+ Categoría primera

+ Categoría segunda

Para la clasificación del frijol, este debe cumplir con ciertas especificaciones, según la norma, siendo para nosotros el más importante el relacionado a los insectos.

El frijol en todos sus grados de calidad se designa de acuerdo a su coloración y representadas por sus principales variedades indicativas.

Por lo anterior, las características de calidad del grano, unidas al alto rendimiento y la resistencia a las plagas que presenta el cultivo, así como el almacenamiento, son muy importantes para los consumidores y productores de frijol, ya que abre la posibilidad de ofrecer mejores variedades.

3.5. Características generales de los insectos

Los insectos son animales artrópodos, cuyo cuerpo está cubierto de un tegumento denominado exoesqueleto y está dividido en tres partes distintas: cabeza, tórax y abdomen. En la cabeza están los órganos de los sentidos y el aparato bucal, mientras que el tórax contiene los tres pares de patas y las alas; en el abdomen están los órganos digestivos y respiratorios. Los insectos respiran a través de tráqueas que son pequeños tubos membranosos y ramificados que se comunican con el exterior por medio de orificios llamados espiráculos (Puzzi, 1984).

3.6. Plaga del frijol

Existe una gran diversidad de ecosistemas de granos almacenados. Algunos sistemas están formados simplemente por canastas, cajas u otros recipientes pequeños con granos básicos como sucede en el medio rural de África, India, México, América Central y América del Sur. Sin embargo, en países en desarrollo también se acostumbra guardar maíz o frijol en sacos estibados en soportes de madera o bien en estructuras especiales construidas del mismo material. También en el medio rural de países americanos se encuentran estructuras hechas de adobe o alguna clase de silos localizados dentro o fuera de la casa del agricultor (Philbrick, 1982).

En las zonas productoras de frijol (*Phaseolus vulgaris*) de México, los coleópteros *Acanthoscelides obtectus* (Say) y *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) se desplazan de su hábitat natural (un agroecosistema precosecha) a los campos de frijol y de ahí al ecosistema de granos almacenados (Philbrick, 1982).

En el ecosistema de granos almacenados se identifican perfectamente tres comunidades:

1. Insectos, que incluyen los que causan pérdidas y los que son depredadores, parasitoides y carroñeros.
2. Hongos, incluyendo los que pueden competir en una tensión de oxígeno atmosférico y los que sólo compiten en una atmósfera reducida de oxígeno
3. Roedores y aves.

En lo que concierne a los insectos, para predecir la especie que estará presente en un ecosistema de granos almacenados se debe considerar el tipo de grano, el tiempo de la cosecha y su estilo de vida. La composición y el porcentaje de las impurezas o material extraño presente en el grano cosechado también es un buen indicador para predecir las especies de insectos.

De las 70,000 especies conocidas de insectos, aproximadamente 100 especies son responsables de los daños en almacenes, de los cuales, 20 plagas por su distribución geográfica y daños que ocasionan se consideran de importancia económica (Philbrick, 1982).

Con base al daño que ocasionan, las plagas de insectos se agrupan en especies primarias y secundarias:

+ Los insectos primarios tienen la capacidad de atacar los granos enteros y sanos. Algunos insectos que pertenecen a este grupo pasan sus etapas inmaduras en el interior del grano y sólo los adultos pueden ser observados en la superficie. Otro grupo de insectos primarios vive y se desarrolla afuera de los granos y se alimenta del embrión o germen.

+ Los insectos secundarios son los que no consiguen atacar los granos enteros. Se alimentan de los granos quebrados, partículas de granos y polvos que quedan después del ataque de los insectos primarios. Algunos de los insectos de este grupo se alimentan también de los hongos que se desarrollan en los granos húmedos (Philbrick, 1982).

En México, los insectos primarios para frijol más importantes son, los coleópteros *Acanthoscelides obtectus* y *Zabrotes subfasciatus*. Las pérdidas económicas causadas por el ataque de estos dos insectos al frijol almacenado son considerables en todos los países del mundo, sin embargo, estas pérdidas generalmente son mayores en los países en desarrollo, ya que en muchos casos se carece de una infraestructura de almacenamiento adecuada (Cardona *et al.*, 1988). Las pérdidas

ocasionadas por los brúchidos a nivel mundial están estimadas en un 13% (Cardona y Kornegay, 1999).

Si el grano es cosechado y manejado en forma inadecuada, disminuirá la calidad del producto agrícola con el incremento del porcentaje de impurezas y la posible infestación que se espera será de insectos secundarios. Estos mismos insectos también aparecen cuando el grano ha sido severamente dañado por un insecto primario (Vidales, 1991).

Los insectos que atacan los granos almacenados tienen características propias que los distinguen de los que se encuentran en la mayor parte de los cultivos. Son pequeños, prefieren los sitios oscuros, son capaces de esconderse en grietas muy reducidas y se caracterizan por su elevada capacidad de reproducción, lo que permite que pocos insectos formen una población considerable en muy poco tiempo. Por esta razón, una pequeña infestación inicial pueda dañar dentro de pocos meses una gran cantidad de granos almacenados (Vidales, 1991).

3.6.1 Generalidades del gorgojo pinto del frijol, *Zabrotes subfasciatus*

Los insectos de los granos almacenados presentan características apropiadas para el ambiente en donde se desarrollan y viven. Son pequeños, se movilizan en los espacios intersticiales de la masa de granos y están adaptados para vivir en un ambiente oscuro.

Los escarabajos o "gorgojos" son resistentes y de tamaño pequeño, lo que les permite moverse en los reducidos espacios que existen entre los granos, así como en las grandes profundidades de los silos, donde los granos se encuentran sometidos a grandes presiones (Ramayo, 1983).

Zabrotes subfasciatus comúnmente conocido como Gorgojo mexicano del frijol o gorgojo pinto del frijol, es la plaga más importante del frijol almacenado en las regiones cálidas. Las hembras pegan sus huevos a la testa de la semilla, ataca únicamente semilla almacenada (Cardona *et al.*, 1988). Es el principal problema fitosanitario del frijol almacenado en zonas menores a 1500 m de altitud (Ramayo, 1983).

La familia Bruchidae incluye cerca de 1300 especies de insectos, agrupados en 56 géneros y 5 subfamilias (Hogue, 1993). La actual clasificación del gorgojo mexicano del frijol o gorgojo pintado del frijol es la siguiente (Borror *et al.*, 1992):

Clase: Insecta

Orden: Coleoptera

Suborden: Polífaga

Familia: Bruchidae

Género: *Zabrotes*

Especie: *Zabrotes subfasciatus* (Boheman)

3.6.1.1 Características fisiológicas y morfológicas del *Z. subfasciatus*

La mayor parte de los insectos de los granos almacenados se desarrollan a través de la metamorfosis completa.

+ Metamorfosis completa, está caracterizada por presentar los siguientes estados de desarrollo:

- 1) huevo; 2) larva (forma vermiforme, bien diferenciada del adulto); 3) pupa (estado de reposo cuando la larva se transforma en adulto); y 4) adulto.

Descripción

- Huevecillos: son muy pequeños, miden aproximadamente 0.3mm de diámetro, redondeados y aplanados. Cuando están recién puestos se caracterizan por tener una apariencia hialina, pero a medida que avanza la incubación se tornan de color blanquecino amarillento. Son depositados de forma individual sobre la semilla, a la que se adhieren por medio de una sustancia pegante. En éstas se presenta un rango de variación diario de 3-4 huevos por hembra en cada semilla (Vélez, 1997).
- Larvas: Después de eclosionar el huevecillos, las larvas del primer instar penetran en la semilla y continúan desarrollándose en su interior, formando una cámara o celda a medida que se alimentan. Durante el último instar las larvas realizan un corte circular en la testa, formando una ventana, que permitirá luego a los adultos abandonar la cámara pupal o de alimentación. Las larvas mudan cuatro veces antes de empupar. Son de tipo vermiforme y ápoda. Tienen una longitud de 3-3.5mm. Su cuerpo es más o menos recurvado, con abundantes pliegues y de color blanquecino. La cabeza es muy reducida y está encajada en el protórax (Vélez, 1997).
- Pupas: Se desarrollan dentro de la semilla. Al terminar su periodo de desarrollo, emergen por las ventanas convertidas en adultos. Miden cerca de 3mm de largo. Son del tipo exarata, con los apéndices libres, de color blanco lechoso y sin pelos. La diferenciación de los sexos puede apreciarse por la forma del último segmento abdominal, que en la hembra es rectilíneo y en el macho es arqueado (Vélez, 1997)
- Adultos: Son insectos pequeños de 1.8-2.5mm de largo y de color castaño oscuro (figura 4). Las hembras son de mayor tamaño que los machos y presentan cuatro manchas claras en el pronoto, las cuales contrastan con el color oscuro y brillante del cuerpo. En ambos sexos los élitros son cortos, dejando expuesto el último segmento del abdomen. Las alas son bien desarrolladas. El cuerpo es de contorno oval con la cabeza libre, inclinada, que se prolonga en un rostro corto y achatado. Los ojos están bien desarrollados. Las antenas tienen 11 segmentos, las patas posteriores son más robustas que las anteriores, muestran los fémures dilatados y las tibias posteriores tienen dos espuelas (Vélez, 1997). El periodo de preoviposición de las hembras adultos es de 1-7 días y el de oviposición de 7 días. El peso de la hembra es 1.5 veces más que el del macho. Los adultos viven 10-12 días en condiciones de 30°C y 70%HR. La hembra de *Z. subfasciatus* es capaz de poner hasta 56 huevos y de infestar 36 granos en su vida. La Oviposición de la hembra se inicia en su primer día de existencia, en cual pone de 2-3 huevos y alcanza su valor máximo hacia el tercer día en que puede colocar hasta 9. A partir de entonces, reduce la postura con valores entre 1-4, hasta el día 11-12 (Cardona, 1994).

Las condiciones óptimas para el desarrollo de *Z. subfasciatus* son 70% HR y 32.5°C, donde alcanzan un promedio de vida de 25 días entre el estado de huevo y adulto. Se distribuye en regiones tropicales y subtropicales de Centro y Sur América y se desarrolla adecuadamente en climas cálidos y templados (Vélez, 1997).

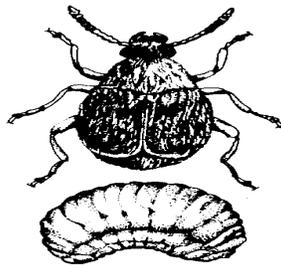


Figura 4. Adulto y larva de *Zabrotes subfasciatus* Boheman

3.6.1.2 Daño del *Z. subfasciatus* al frijol

Los insectos provocan grandes pérdidas en los granos almacenados. Los daños causados por estos insectos se pueden clasificar en daños por cantidad (número de semillas dañadas) o daños por calidad (granos contaminados de excrementos o de cuerpos de los mismos insectos). También se incluye la pérdida de la germinación y los daños causados por el ataque de patógenos, debido a que las perforaciones son una puerta de entrada para hongos y bacterias (figura 5) (Ramayo, 1983; Rodríguez y Rodríguez, 1990). Los gorgojos, cuyo estado larval se desarrolla dentro del grano, causan elevación de la temperatura y de la humedad, debido a su respiración y metabolismo, lo cual favorece el desarrollo de pudriciones secundarias, pues los granos que alcanzan más del 17% de humedad, se constituyen en un excelente medio para el desarrollo tanto de larvas de brúchidos como de otros microorganismos (Vidales, 1991). El daño que ocasiona particularmente la larva, se manifiesta por el consumo y destrucción del cotiledón del grano (figura 5), el deterioro del frijol a consecuencia de su ataque se refleja en reducción de peso y cambios nutricionales del grano y deterioro en la calidad sanitaria; siendo considerables las pérdidas económicas, pues el frijol dañado no es aceptable en el mercado (Ramayo, 1983; Rodríguez y Rodríguez, 1990).



Figura 5. Ataque de *Zabrotes subfasciatus* al frijol

3.7 . Factores asociados a la resistencia de los granos almacenados

Se define la resistencia como un conjunto de características heredadas, por medio de las cuales las diferentes especies de plantas, razas, clones o individuos pueden reducir la probabilidad de ser utilizados como hospedantes por las diferentes especies, razas, biotipos o especímenes de

insectos. La resistencia debería ser el método principal de combate de plagas de insectos en frijol almacenado, debido a su compatibilidad con otras formas de control (Beck, 1965)

Painter (1958) menciona que los componentes de la resistencia son:

- Preferencia: se usa para indicar las características de la planta y la respuesta de los insectos al uso de una variedad para ovipositar, alimentarse o refugiarse.
- Antibiosis: es el conjunto de características químicas de las plantas que tienen como efecto evitar, dañar o destruir a los insectos.
- Tolerancia: es la habilidad de la planta para crecer, reproducirse o reparar daños causados a pesar de soportar grandes poblaciones de insectos.

La resistencia de las plantas a insectos está ligada con aspectos climáticos, biofísicos y edáficos, cuyas interacciones afectan la expresión de los genes de resistencia. En algunos casos la resistencia ocurre por la dureza y posibles sustancias antibióticas del hospedante, en el caso del frijol esto se logra conociendo la testa del hospedante y nutrientes de la variedad (Jennings y Maxwell, 1984).

Las características que pueden prevenir el desarrollo de la larva de un brúquido dentro de la semilla, son las siguientes:

- La cubierta de la semilla puede ser dura para la penetración larval.
- La semilla puede ser físicamente pequeña o de una forma inconveniente para que la larva alcance su desarrollo.
- La semilla puede contener poco alimento para sustentar a la larva.
- La semilla puede contener toxinas u otras sustancias en los cotiledones o en la testa que inhiben el desarrollo de la larva (Southgate, 1979).

Las diferencias observadas en cuanto a resistencia se puede atribuir a: diferencias genéticas del grano, casos de rechazo o no preferencia de los granos para alimento y oviposición y por último casos de antibiosis; las dos últimas han sido los mecanismos más estudiados y se encontró que la resistencia de algunas variedades de frijol al ataque de *Z. subfasciatus* se basa en dichos mecanismos. Existe la tendencia de los insectos a poner más huevecillos sobre frijoles con poco tiempo de almacenamiento (Cardona *et al.*, 1988).

Es conveniente señalar que la resistencia de una variedad, sólo se define con respecto a otra más susceptible por lo que cualquier clasificación en cuanto a grados de resistencia o susceptibilidad resulta subjetiva (Menéndez, 1983).

A continuación se describen algunos factores que se mencionan, pudieran dar susceptibilidad o resistencia al frijol al ataque del *Z. subfasciatus*:

- Tamaño

Se dice que el tamaño grande de la semilla es más preferido para la oviposición puesto que más gorgojos pueden completar su desarrollo dentro de ella; ya que se ha encontrado una notoria preferencia para ovipositar de *Z. subfasciatus* en semilla grande (Gibson y Raina, 1972; CIAT, 1982). Gibson y Raina (1972) observaron que las semillas grandes generalmente proveen más nutrientes en cantidad y calidad para el desarrollo de insectos, por lo que de estas emergen mayor porcentaje de adultos.

- Testa

Los factores que influyen en la perforación de la testa por la larva recién emergida son las siguientes: dureza, contenido de agua, edad de la semilla y ciertas propiedades físicas y químicas que posee ésta, considerando que la testa actúa como una barrera química y/o física (Guillaume *et al.*, 1977). Algunas variedades de frijol con mayor nivel de taninos que se localizan en la testa, pueden limitar el desarrollo de *A. obtectus* y *Z. subfasciatus* por inhibición de una enzima de la digestión o la formación de un complejo indigestivo con la proteína del alimento (Guillaume *et al.*, 1977).

El grosor de la testa es consecuencia de la acumulación de celulosa y lignina que ocasiona tejidos más resistentes a la acción de las mandíbulas de las larvas de los insectos. Al respecto varios autores (Currie y Howe 1964; Raina, 1971 y Carreras, 1960) observaron que la presencia de una testa gruesa afecta la penetración inicial de larvas de brúquidos en los granos y la salida de adultos.

- Cotiledones

Se ha observado que el principal factor de resistencia en variedades silvestres de frijol se localiza en los cotiledones, más que la testa, debido a la presencia del ácido fítico (Cardona *et al.*, 1988).

- Contenido de agua

El contenido de agua en el grano influye en la biología de los brúquidos, de forma que a mayor contenido de este líquido, aumenta el número de huevecillos depositados y eclosionados, así como el número de larvas que penetren, pero también se ha observado una mayor mortalidad de las larvas dentro del grano. La penetración de la larva al grano aumenta por reblandecimiento del tegumento del frijol (Thiery, 1984).

- Carbohidratos

Muchos estudios tocantes a los carbohidratos son importantes, ya que estos son necesarios por mantener en óptimo crecimiento, desarrollo-actividad reproductiva y supervivencia a especies de insectos, pero algunos pueden causar desnutrición para *A. obtectus* y *Z. subfasciatus* por ser hidrolizados o absorbidos en forma incompleta; otros son fácilmente absorbidos más no metabolizados a altas concentraciones, posiblemente por inhibir reacciones enzimáticas que se llevan a cabo con la glicólisis y glicogénesis (Chippendale, 1978).

La edad de la semilla también tiene una influencia en la penetración de larva, ya que el frijol es más susceptible (Thiery, 1984).

Algunas especies de brúquidos han desarrollado medios de defensa en contra de sustancias tóxicas presentes en los grano; Thiery (1984) sugiere que la larva al no ingerir la cubierta del grano durante la penetración inicial, evita el efecto de dichas sustancias.

Es importante señalar que estos factores no son regla general para todas las variedades y todos los factores responden igual. Es decir, se tiene que evaluar en cada variedad que factores presenta y que efecto tiene sobre el insecto. Por eso es importante determinar si algunos de estos factores están presentes y/o tienen efecto sobre el *Z. subfasciatus* en las variedades comerciales de mayor consumo en México.

3.8. Control químico de plagas en frijoles almacenados

En todo el mundo, año con año, los cultivos destinados a satisfacer las necesidades básicas de la humanidad se ven mermados en su producción debido a la gran incidencia de plagas y el daño que éstas producen. Ya que además de ocasionar grandes pérdidas económicas provocan la disminución en la calidad de las cosechas y muchas veces favorecen el establecimiento de otras enfermedades (Rodríguez, 2000)

Para el control de plagas se emplean, plaguicidas por contacto y plaguicidas respiratorios. Los polvos se mezclan con los granos, o son aplicados externamente a los sacos con granos y sobre el montón a granel para evitar la reinfestación del producto.

La mezcla del polvo con el grano es adecuada para el producto a granel que se almacenan durante largo tiempo.

Los insecticidas respiratorios o fungicidas, son gases que penetran en la estiba de los granos a granel o ensacados.

Existen fumigantes en forma de pastillas, como las hechas a base de fosforo de aluminio, que generan gases por la reacción de las pastillas y por el calor y la humedad del grano, para lograr un buen efecto es necesario cubrir la estiba con lona o cerrar el silo, después de 72 horas, se abre la estiba para ventilar y eliminar el gas.

El hombre ha combatido estos problemas de plagas con el uso de insecticidas organosintéticos de los cuales ha llegado a depender de una forma absoluta. Desgraciadamente el uso irracional de éstos ha traído consigo efectos colaterales como el desarrollo de poblaciones de plagas resistentes, eliminación de fauna benéfica (enemigos naturales de plagas), acumulación de residuos tóxicos, inducción de diversas afecciones humanas por el consumo de alimentos con residuos tóxicos, entre otros (Rodríguez, 2000)

Por lo anterior es necesario buscar alternativas de forma natural para combatir las plagas en los frijoles almacenados que sean económicamente factibles y ecológicamente compatibles.

Es por eso que es importante tratar de encontrar factores naturales en el grano que otorguen una mayor protección a este durante su almacenamiento sobre el ataque de insectos de almacén, como es el caso específico del *Z. subfasciatus* sobre el frijol.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general.

Determinar la respuesta de diferentes variedades comerciales de frijol al ataque del *Z. subfasciatus* para establecer si existe relación con su composición química, características físicas y contenido de factores antinutrimientales.

4.2. Objetivos particulares

1. Determinar el porcentaje de oviposición de *Z. subfasciatus* en las diferentes variedades comerciales de frijol en pruebas de no elección.
2. Determinar el porcentaje de emergencia de *Z. subfasciatus* en las diferentes variedades comerciales de frijol en pruebas de no elección.
3. Cuantificar la composición química, características físicas y el contenido de factores antinutrimientales para establecer su correlación con la respuesta al ataque de *Z. subfasciatus*.

5. DESARROLLO EXPERIMENTAL

5.1. Cuadro metodológico

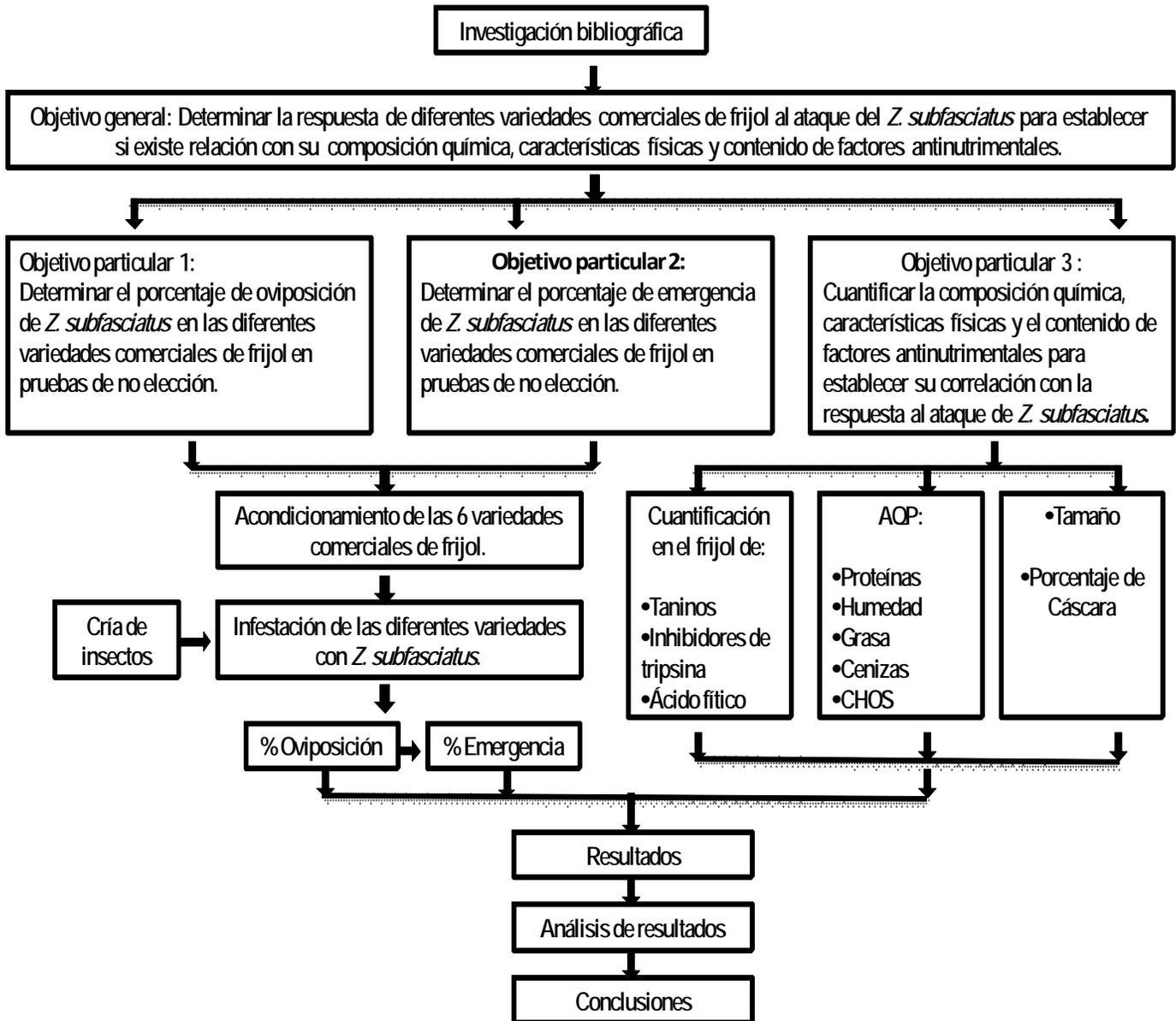


Figura 6. Cuadro metodológico

5.2. Materiales y métodos

5.2.1. Preparación del material biológico

5.2.1.1. Variedades de frijol bajo estudio

Se utilizaron diferentes variedades comerciales de frijol que tienen mayor consumo en el país (Bayo-Zacatecas, Mayo coba-Sinaloa, Negro Jamapa-Nayarit, Negro Bola-Zacatecas, Pinto-Zacatecas, Flor de mayo-Zacatecas) cosecha 2005 donadas por la empresa distribuidora "La Merced". Se determinó la humedad de cada lote de frijol, y se acondicionaron de manera que la humedad entre ellas fuese similar y mayor al 12% ya que es una condición para que el gorgojo *Z. subfasciatus* se desarrolle en las semillas de frijol. Para el acondicionamiento se tomaron 500 semillas de cada variedad de frijol, colocándolas en recipientes de plástico, posteriormente se colocaron en una cámara de incubación, donde la humedad relativa fue de 70% a temperatura de 28°C \pm 2°C y con un fotoperiodo de 18:6 horas de luz –oscuridad respectivamente. Se mantuvieron ahí por un periodo de 45 días para lograr la humedad deseada (Vera *et al.*, 2000). Después de este periodo de exposición a las condiciones descritas, el contenido de humedad para cada variedad de frijol se determinó siguiendo el método de secado por estufa (AOAC, 1995).

5.2.1.2. Cría del gorgojo pinto del frijol *Z. subfasciatus*

Una población de aproximadamente 300 gorgojos adultos de ambos sexos, fueron colocados en un frasco de vidrio de 1 Lt conteniendo frijol mung (*Vigna radiata* L. Wilczek) y se mantuvieron ahí para su oviposición. Cuando la población alcanzó 100% de mortalidad, los cuerpos de los insectos fueron removidos de los frijoles expuestos. Los frijoles conteniendo los huevecillos fueron mantenidos en condiciones de temperatura de 30°C y de humedad relativa 70 \pm 5% en una cámara de cría. La generación de gorgojos emergente de estos frijoles fue utilizada para la experimentación.

5.2.2. Oviposición de *Z. subfasciatus* en las diferentes variedades de frijol

Para la prueba de no elección o elección forzada, se colocaron 15 semillas de una variedad en cajas de petri (6cm de diámetro por 1cm de altura), para cada variedad con 20 repeticiones en cada caso. Por cada caja de petri se colocó una hembra y un macho (de 24 h de emergidos), posteriormente se llevaron a la cámara de cría a una temperatura de 30°C \pm 1°C y una humedad relativa del 75%. Después de 48 horas de exposición se contaron los huevecillos depositados por la hembra en cada semilla de las diferentes variedades (Vera *et al.*, 2000).

5.2.3. Emergencia del *Z. subfasciatus* en las diferentes variedades de frijol

Para las pruebas de desarrollo del *Z. subfasciatus* se usaron las mismas cajas de petri del experimento de oviposición descrito previamente, conociendo el número de huevecillos depositados, se empezó a contar la emergencia de los gorgojos. Cabe señalar que las primeras emergencias se dieron a los 21 días después de la oviposición, pues es el tiempo en que empiezan a emerger los gorgojos bajo esas condiciones (Vélez, 1997).

5.2.4. Análisis químico proximal (AOAC, 1995)

- DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

MÉTODO DE SECADO POR ESTUFA

PROCEDIMIENTO:

Se pesó de 2 a 3 gramos de muestra (harinas) en la caja de aluminio con tapa, que fue puesta a peso constante durante 2 horas aproximadamente a 130°C. Se secó la muestra 1h en la estufa a 130°C. Se retiró de la estufa, se tapó, se dejó enfriar en el desecador y se pesó tan pronto como se equilibró con la temperatura ambiente (aproximadamente 10 minutos). Para semillas, pesar 5 semillas y secar la muestra 72 h en la estufa a 103°C (AACC, 1976). La prueba se realizó por triplicado.

Para calcular la humedad de las muestras se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% H = \left[\frac{(W_2 - W_3)}{W_1} \right] \times 100$$

Donde:

W_1 = Peso de la muestra (g)

W_2 = Peso de la muestra húmeda (g)

W_3 = Peso de la muestra seca (g)

- DETERMINACIÓN DE CENIZAS

MÉTODO CENIZAS TOTALES.

PROCEDIMIENTO

Se pesó de 3 a 5 gramos de muestra en un crisol (sin sobrepasar la mitad del crisol con la muestra), que fue puesto a peso constante durante 2 h aproximadamente a 600°C.

Se calcinó la muestra con un mechero en la campana hasta que no desprendía humos y posteriormente se metió a la mufla 2 h cuidando que la temperatura no pasara de 530°C. Se repitió la operación anterior ya que es necesario conseguir unas cenizas blancas o ligeramente grises y homogéneas. Se enfriaron en el desecador y se pesaron. La prueba se realizó por triplicado.

Para calcular las cenizas de las muestras se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{Cenizas} = \left[\frac{(W_3 - W_2)}{W_1} \right] \times 100$$

Donde:

W_1 = Peso de la muestra (g)

W_2 = Peso del crisol sin muestra (g)

W_3 = Peso del crisol con las cenizas (g)

- DETERMINACIÓN DE GRASA CRUDA O EXTRACTO ETÉREO

MÉTODO DE SOXHLET

PROCEDIMIENTO

Se puso a peso constante un matraz bola de fondo plano con perlas o piedras de ebullición en la estufa a 103°C, aproximadamente por 2 horas.

Se peso de 4 a 5 gramos de muestra libre de humedad sobre un papel poroso, se enrolló y se colocó en un cartucho, se tapó con algodón, y se colocó el cartucho en el extractor.

Se conectó el matraz al extractor y éste al refrigerante (Sin poner grasa en las juntas). Se agregó dos cargas de éter etílico por el refrigerante y se calentó el matraz con parrilla a ebullición suave. Para verificar que se ha extraído toda la grasa, se deja caer una gota de la descarga sobre el papel filtro, al evaporarse el éter no debe dejar residuo de grasa.

Una vez extraída toda la grasa, se quita el cartucho con la muestra desengrasada, se sigue calentando hasta la casi total eliminación del éter recuperándolo antes de que se descargue. Se quito el matraz y se seco el extracto a una temperatura de 75-80°C por 30 minutos, se enfrió y se peso. La prueba se realizó por triplicado.

Para calcular la grasa de las muestras se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{Grasacruda} = \left[\frac{(W_3 - W_2)}{W_1} \right] \times 100$$

Donde:

W_1 = Peso de la muestra antes de la desecación (g)

W_2 = Peso de l matraz sin grasa (g)

W_3 = Peso del matraz con grasa (g)

- DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA CRUDA

MÉTODO DE MICRO KJELDAHL

PROCEDIMIENTO

Se pesaron 0.1 g de muestra y se introdujo en un tubo de digestión Kjeldahl, se agregaron 0.2 g de sulfato de cobre pentahidratado, 1.5 g de sulfato de potasio o sulfato de sodio y 2 mL de ácido sulfúrico concentrado.

Se encendió el digestor y se colocaron los tubos en el bloque de calentamiento. Se acciono la trampa de succión de gases antes de que se produjeran éstos. Se calentaron hasta la total destrucción de la materia orgánica, esto es, hasta que el líquido quede transparente con una coloración azul-verdosa. Una vez finalizada la digestión, se dejaron enfriar a temperatura ambiente las muestras.

En un matraz erlenmeyer de 250mL se adicionaron 50 ml de ácido bórico al 4% y tres gotas de indicador rojo de metilo y verde bromocresol.

Se encendió el equipo de destilación y se enjuago con una solución de ácido acético al 5 % una vez limpio se aseguro que las llaves de descarga estuvieran bien cerradas. Se colocó el matraz en el aparato de destilación cuidando de introducir la alargadera hasta el fondo de la solución. En la copa superior del equipo, se colocó la muestra tibia con 5 mL de agua destilada; se abrió la primera llave de descarga para dejar caer la muestra, posteriormente se cerro. En la copa se agregaron 10mL de NaOH al 40% y se descargo la solución. Se dejo destilar hasta que se alcanzó un volumen de destilado de 90 – 100mL una vez finalizada la destilación se lavó el equipo con agua destilada.

Se titulo el exceso de ácido obtenido con una solución de HCl 0.01N. Se realizó una prueba en blanco empleando la misma cantidad de catalizador y ácido sulfúrico. La prueba se realizó por triplicado.

Para calcular la proteína de las muestras se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Nitrógenot otal} = \left[\frac{(V_2 - V_1)(N)(0.014)}{W} \right] \times 100$$

$$\% \text{ Pr oteína} = (\text{factor})(\% \text{ Nitrógenot otal})$$

Donde:

W = Peso de la muestra (g)

V₁ = Volumen (mL) de la solución de HCl requerido para la prueba en blanco.

V₂ = Volumen (mL) de la solución de HCl requerido para la muestra problema.

N = Normalidad del HCl

Factor general: 6.25

- DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos asimilables fueron calculados por diferencia:

$$\% \text{CHOS} = 100 - (\% \text{Fibra cruda} + \% \text{Grasa} + \% \text{Humedad} + \% \text{Proteínas} + \% \text{Cenizas})$$

5.2.5. Determinación de tamaño del frijol

DEFINICIÓN

Peso promedio de 100 granos de frijol, expresado en gramos.

APLICACIÓN

Para todo tipo de frijol seco

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Se seleccionaron tres muestras al azar de cada variedad, cada una fue de 100 granos de frijol.

PROCEDIMIENTO

Se pesaron las tres muestras de 100 granos para cada variedad.

CÁLCULOS

Se obtuvo el valor promedio y desviación estándar de las tres repeticiones (Elías *et al.*, 1982).

VALORES DE REFERENCIA

Tabla 4. Valores de referencia para la determinación del tamaño de frijol

Menores de 20 g por 100 semillas	Muy pequeño
De 20 – 30 g por 100 semillas	Pequeño
De 30 – 40 g por 100 semillas	Medio
De 40 – 50 g por 100 semillas	Normal
De 50 – 60 g por 100 semillas	Grande
Mayores de 60 g por 100 semillas	Muy grande

Fuente: Box, 1960

5.2.6. Determinación de porcentaje de cáscara

DEFINICIÓN

Peso de la cáscara seca de 25 granos de frijol relacionados con el peso del cotiledón más cáscara seca, expresado como porcentaje.

APLICACIÓN

Aplicable a todo tipo de frijol común seco.

PROCEDIMIENTO

Se tomaron al azar 3 muestras de 25 granos cada una. Posteriormente cada muestra fue remojada en agua a temperatura ambiente por toda la noche (16 – 18 horas), usando una cantidad de agua de aproximadamente 50 mL.

Se secaron los frijoles con una toalla de papel y se separaron manualmente la cáscara y el cotiledón de cada grano. Posteriormente se pusieron a secar las cáscaras y cotiledones en la estufa por 4 horas a una temperatura de 60°C.

Se pesaron las cáscaras y cotiledones secos después de enfriarlos en un desecador.

CÁLCULOS

$$\% \text{ cáscara} = \frac{W_1}{\text{Peso cotiledón} + \text{cáscara}} \times 100$$

W_1 = Peso de cáscara seca (g)

VALORES DE REFERENCIA

Tabla 5. Valores de referencia para la determinación del porcentaje de cáscara

PORCENTAJE DE CÁSCARA	CONTENIDO DE CÁSCARA
Menores de 8%	Bajo
Entre 8.0% a 10.0%	Intermedio
Mayores a 10.0%	Alto

Fuente: Elías *et al.*, 1982

5.2.7. Determinación de taninos

FUNDAMENTO

Se basa en la extracción de los taninos hidrolizables y condensados (fenoles totales) mediante dimetilformamida (DMF) al 75% y la posterior reducción del ión férrico debido a los iones polifenoles con la subsiguiente formación de un complejo colorido en condiciones alcalinas, cuantificado espectrofotométricamente a 525nm (ISO 9648, 1988).

- Preparación de la curva patrón
 1. En 5 matraces volumétricos de 25 mL se añadieron alícuotas de 1, 2, 4, 6 y 7 mL de solución estándar de ácido tánico en cada uno de los matraces.
 2. Se aforó cada matraz a 25 mL con solución DMF, obteniéndose las siguientes concentraciones:

Tabla 6. Preparación de la curva patrón para la determinación de taninos

mL de solución estándar	[] de la solución estándar
1	2
2	4
4	8
6	12
7	14

3. Se rotularon 6 tubos de ensaye y se preparó cada uno, como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 7. Preparación de la curva patrón para la determinación de taninos

Tubo	[] de sol. Estándar del matraz (mg)	Alícuota del matraz estándar (mL)	Agua destilada (mL)	Citrato férrico amoniacal (mL)	Amoniaco (mL)	DMF (mL)
1	2	1	5	1	1	-
2	4	1	5	1	1	-
3	8	1	5	1	1	-
4	12	1	5	1	1	-
5	14	1	5	1	1	-
Blanco	-	-	6	-	1	1

En cada adición de solución, se agitó en el vortex

4. Después de 10 minutos se realizó la lectura a una absorbancia de 525nm en el espectrofotómetro modelo Beckman Coulter DU 530 UV/Vis (figura 7).



Figura 7. Espectrofotómetro modelo Beckman Coulter DU 530 UV/Vis.

5. Se realizó la curva correspondiente de Absorbancia vs. Concentración de solución estándar (mg), se procedió a realizar la regresión lineal para obtener la ecuación de la recta ($y=mx + b$)

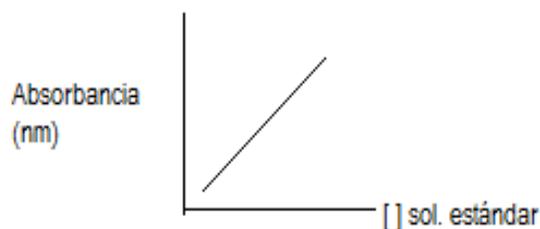


Figura 8. Curva patrón para la determinación de taninos

- Preparación de la muestra
 1. Se pesó 1 g de muestra molida de cada variedad de frijol desengrasada, en un vaso de precipitado.
 2. Se adicionaron 25 mL de DMF a los 18 vasos de precipitado.
 3. Se agitaron en una parrilla durante 1 hora, posteriormente se dejaron reposar durante 15 minutos.
 4. Se transfirió el sobrenadante a un tubo centrífugo y se centrifugo a 5000rpm durante 20 minutos, en una centrífuga modelo IEC Centra-4B (figura 8).



Figura 9. Centrífuga modelo IEC Centra-4B

5. Se tomo 1mL de muestra del sobrenadante de cada uno de los tubos centrifugos, se prepararon los tubos como se indica en la siguiente tabla, realizando cada muestra por triplicado:

Tabla 8. Preparación de la muestra para taninos.

Muestra de frijol	Alícuota del sobrenadante (mL)	Agua destilada (mL)	Citrato férrico amoniacal (mL)	Amoniaco (mL)
Negro bola	1	5	1	1

6. Se leyó la absorbancia a 525nm y se realizaron los cálculos correspondientes.

CÁLCULOS

- Se despejo de la ecuación de la línea recta ($y=mx + b$) a "x" quedando de la siguiente manera: $x= (y-b)/m$
- Para obtener "x" se sustituyeron en la ecuación despejada los siguientes valores obtenidos:

y= absorbancia de la muestra

b= valor obtenido en la curva patrón

m= valor obtenido en la curva patrón

- Para determinar el porcentaje de taninos se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ tan inos} = \left(\frac{x}{m} \right) \times 100$$

x= valor obtenido (g)

m= peso de la muestra (g)

5.2.8. Determinación de inhibidores de tripsina

FUNDAMENTO

La técnica se basa en poner en contacto el extracto acuoso o diluido de una muestra con una solución estándar de tripsina, posteriormente se determina la actividad proteolítica remanente utilizando un sustrato sintético (benzoil-arginina-p-nitroanilida) (BAPNA), el cual producirá coloración, que es inversamente proporcional al contenido de inhibidores de tripsina y que se lee en el espectrofotómetro a una $\lambda=410$ nm (Kakade *et al.*, 1974).

PROCEDIMIENTO

- Preparación del extracto
- Se pesó 1g de muestra molida y desengrasada de cada variedad de frijol, se adicionaron 45ml de NaOH 0.01N; se ajustó el pH a 9.6 ± 0.2 y se aforo a 50 ml con NaOH 0.01 N, se pasaron cada una de las soluciones a un vaso de precipitado que contuviera un agitador magnético, se agitaron por un tiempo de 2 hr con 30 min a 300 rpm. Después se dejaron en reposo por un tiempo de 30 min para obtener el sobrenadante.
 - El sobrenadante debe ser diluido hasta el punto de que 1ml produzca inhibición de 40-60%.

3. Se diluyó la muestra hasta una relación 1:3 con muestra y NaOH 0.001 N.
 - Determinación de la actividad
 1. Porciones de 0, 0.6, 1, 1.4, y 1.8 ml de extracto directo o diluido se pipetearon a tubos de ensaye ajustando el volumen a 2.0 ml.
 2. Se adicionaron 2 ml de solución estándar de tripsina con H₂O destilada y se agitaron. Se mantuvieron en contacto inhibidor de tripsina-tripsina por 10 min en un baño de 37°C.
 3. Se adicionaron 5ml de solución Benzoil-arginina-p-nitroanilida (BAPNA) a cada tubo y se mantuvo dicha mezcla de reacción por 10 minutos en el baño. La reacción enzimática se detuvo por la adición de 1ml de ácido Acético al 30%, el cual debió ser agitado.
 4. Si al adicionar el ácido Acético al tubo de reacción, este se enturbia o forma precipitado, será necesario filtrar el contenido a través de papel filtro, para ello es necesario dejar el tubo en reposo por 5 min. El filtrado deber ser transparente.
 5. A estos tubos, una vez adicionados los 2.0 ml de la solución de tripsina inmediatamente después se adiciona 1.0ml de ácido Acético al 30% y por último de 5.0 ml de solución BAPNA.
 6. La lectura en el espectro se realizo a λ 410 nm.

CÁLCULOS

UT: Unidades de Tripsina $UT = Abs \times 100$

UTI: Unidades de Tripsina Inhibida $UTI = Blanco - c/u \text{ de los tubos}$

$$Inhibición = \frac{(UTI \times 100)}{Blanco \times UT}$$

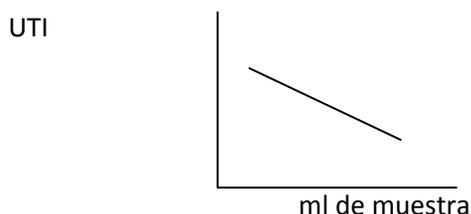


Figura 10. Curva para la determinación de inhibidores de tripsina

$$B \times Factor \times \frac{vol. aforomuestra}{mgdemuestra} = \frac{UTI}{mgdemuestra}$$

5.2.9. Determinación de ácido fítico

FUNDAMENTO

El extracto de una muestra se calienta con una solución de ácido férrico para conocer el contenido de hierro. La disminución del hierro (determinada colorimétricamente con 2,2-bipiridina) en el sobrenadante es la medida del contenido de ácido fítico (HAUG AND LANTZCH, 1983).

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

1. Solución de referencia: se pesaron 0.15 g de ácido fítico y se aforaron a 100mL con agua destilada, se diluyó la solución en un rango de 0.1 – 1mL con 10mL de HCl 0.2N como se indica en la siguiente tabla:

Tabla 9. Preparación de la solución de referencia para ácido fítico

Solución de ácido fítico (mL)	HCl 0.2N (mL)	Concentración (µg de P del ácido fítico/mL)
0.1	9.9	3
0.2	9.8	6
0.4	9.6	12
0.6	9.4	18
0.8	9.2	24
0.12	9.0	30

PREPARACIÓN DE LA CURVA PATRÓN

1. Se tomó 1mL de cada una de las soluciones de ácido fítico diluidas con HCl 0.2N y se colocaron en tubos de ensaye, se prepararon los tubos de la siguiente manera:

Tabla 10. Preparación de la curva patrón para ácido fítico

Tubo	Concentración (µg de P del ácido fítico/mL)	Solución de ácido fítico (mL)	Solución férrica (mL)	Agua (mL)
1	3	1	1	-
2	6	1	1	-
3	12	1	1	-
4	18	1	1	-
5	24	1	1	-
6	30	1	1	-
Blanco	-	-	1	1

2. Se taparon los tubos con canicas y se calentaron a una temperatura de 95+- 2°C durante 30 minutos. Los tubos se deben de encontrar bien tapados durante este periodo.
3. Se enfriaron los tubos con agua helada hasta que alcanzaran la temperatura ambiente.
4. Una vez que se encontraron a temperatura ambiente se adicionaron 2 mL de 2,2-Bipiridina a cada tubo y se agitaron.
5. A los 30 segundos exactamente se adicionó la 2,2-Bipiridina, se leyó la absorbancia a 519nm.

6. Se realizaron los cálculos correspondientes.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Se pesó 0.1g de muestra para cada variedad y se adicionaron 20mL de HCl 0.2N, se agitó durante 20 minutos (en plancha de agitación con agitador magnético) de manera constante y se centrifugó a 3000rpm durante 15 minutos.
2. Se tomó 0.5mL del extracto y se colocó en un tubo de ensaye.
3. Se adicionó 1mL de solución férrica.
4. Se tapó el tubo de ensaye con canicas y se calentó a $95 \pm 2^\circ\text{C}$ por 30 minutos.
5. Se enfrió el tubo de ensaye con agua helada hasta que alcanzara la temperatura ambiente.
6. Una vez que se encuentra a temperatura ambiente se adicionaron 2 mL de 2,2-Bipiridina a cada tubo y se agitó.
7. A los 30 segundos exactamente de adicionar la 2,2-Bipiridina, se leyó la absorbancia a 519nm.
8. Se realizaron los cálculos correspondientes

CÁLCULOS

- CURVA PATRÓN

1. Se determinó la absorbancia corregida restando al blanco la absorbancia leída a 519 nm de cada tubo.
2. Se graficó μg de P del ácido fítico/mL Vs. Absorbancia corregida, y se realizó la regresión lineal para obtener la ecuación de la recta ($y=mx + b$)

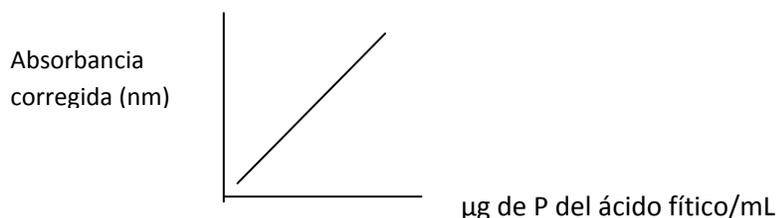


Figura 11. Curva patrón para la determinación de ácido fítico

-PORCENTAJE DE ÁCIDO FÍTICO

4. De la ecuación de la recta, se despejó "X" quedando de la siguiente manera: $x = (y - b)/m$
5. Se determinó la absorbancia corregida restando al blanco la absorbancia leída a 519 nm de cada tubo.
6. Para obtener "X" se sustituyó en la ecuación despejada los siguientes valores obtenidos:
 $y =$ absorbancia corregida de la muestra
 $b =$ valor obtenido en la curva patrón
 $m =$ valor obtenido en la curva patrón
7. Se determinaron los μg de P del ácido fítico/mL:

$$P = \frac{(x \cdot E)}{T}$$

x= valor obtenido de la ecuación despejada

E = equivale a 660.08g (1 mol de ácido fítico)

T= equivale a 185.82g (6 moles de P)

P= μg de P del ácido fítico/mL convertirlo a g de P del ácido fítico/mL

8. Se determinó el porcentaje de ácido fítico:

$$M = \frac{\text{muestra}(g)}{20\text{mlHCl}}$$

$$\%ac.fítico = \frac{(P \times 100\%)}{M}$$

5.2.10. Análisis estadístico

Para los resultados que se obtuvieron se analizaron con el método estadístico de ANOVA, empleando el PROGRAMA ESTADÍSTICO PARA CIENCIAS SOCIALES (SPSS) versión 12.

Los resultados de oviposición y emergencia se analizaron mediante una ANOVA y la prueba de rango múltiple de Duncan para la comparación entre medias. Los resultados del análisis químico y físico de los granos y su contenido de factores antinutrimientales se analizaron por la prueba de t-student.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Preparación del material biológico

6.1.1. Variedades de frijol bajo estudio

Las primeras actividades consistieron en determinar la humedad de cada variedad comercial de frijol sin acondicionar, los resultados se muestran en la tabla 11. En ella se puede observar que tuvieron una humedad variable y que con excepción del negro jamapa (NJ), todas las demás variedades tuvieron una humedad menor al 12%, que es la humedad mínima requerida para que se desarrollen insectos en la semilla. Por lo tanto, los frijoles se acondicionaron para que se desarrollara sin problemas el insecto y no fuera un factor que influyera en la preferencia por alguna variedad específica y así no se alterara la experimentación (Cardona, 1994).

Tabla 11. Humedades de diferentes variedades de frijol sin acondicionar y acondicionadas

VARIEDAD	HUMEDAD FRIJOL SIN ACONDICIONAR %	Desviación estándar Frijol sin acondicionar	HUMEDAD FRIJOL ACONDICIONADO %	Desviación estándar Frijol acondicionado
Negro jamapa(NJ)	13.19	0.15	12.37	0.19
Flor de mayo(FM)	11.26	0.18	12.24	0.07
Pinto(PI)	9.66	0.13	12.90	0.24
Mayo coba(MC)	10.38	0.20	12.24	0.32
Negro bola(NB)	10.73	0.08	12.33	0.03
Bayo(BAY)	10.14	0.10	12.32	0.17

Una vez acondicionados los frijoles se logró que todas las variedades tuvieran una humedad homogénea por arriba del 12% (tabla 11). Por lo tanto, ya se podrían usar estas muestras para cumplir con los objetivos particulares 1 y 2.

6.1.2. Cría del gorgojo pinto del frijol *Z. subfasciatus*

Los gorgojos *Z. subfasciatus* fueron criados en frijol mung (*Vigna radiata*) que es una variedad que no sería analizada, por que se sabe que al llevarse a cabo una prueba de oviposición, el insecto va a tener preferencia por la variedad en la que fue criada la primera generación para el desarrollo de su progenie. Por eso se escogió el frijol mung para la cría y así eliminar el sesgo provocado por su origen (Ajayi, 2000).

6.2. Oviposición del *Z. subfasciatus*

Una vez que se tuvieron las crías de *Z. subfasciatus*, se llevó a cabo la prueba de oviposición forzada para las seis variedades de frijol. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 12.

Tabla 12. Oviposición forzada de *Z. subfasciatus* en las diferentes variedades de frijol estudiados.

VARIEDAD	PROMEDIO HUEVECILLOS	DESVIACIÓN ESTANDAR
Negro jamapa	17.05 ^{ab}	3.48
Flor de mayo	16.7 ^{ab}	1.01
Pinto	16.2 ^{ab}	2.87
Mayo coba	15.35 ^a	2.45
Negro bola	17.4 ^{ab}	2.11
Bayo	18.7 ^b	5.53

*Medias con diferente letra son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$) (n=20)

La variedad en la que hubo mayor oviposición fue el frijol bayo (BAY) con un promedio de 18.7 huevecillos por grano y la de menor preferencia fue mayo coba (MC) con 15.35 huevecillos por grano. Al realizar el análisis estadístico a los resultados se encontró que se formaron tres grupos estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$), en el primer grupo está BAY, en el segundo grupo se encuentran NJ, FM, PI y NB, y el tercer grupo esta conformado por MC. Lo que indicó que estadísticamente sí existieron diferencias en la preferencia del gorgojo por las variedades de frijol.

6.3. Emergencia del *Z. subfasciatus*

En esta prueba se contó el número de gorgojos emergidos en cada una de las seis variedades de frijol, obteniéndose los siguientes resultados (tabla 13).

Tabla 13. Emergencia del *Z. subfasciatus* en las diferentes variedades de frijol.

VARIEDAD	PROMEDIO EMERGENCIA
Negro jamapa	15.8 ^{ab*}
Flor de mayo	15.5 ^{ab}
Pinto	14 ^a
Mayo coba	14 ^a
Negro bola	13.7 ^a
Bayo	17.15 ^b

*Medias con diferente letra indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) (n=20)

En la variedad de frijol bayo emergió el mayor número de gorgojos *Z. subfasciatus* mientras que, la variedad que tuvo menos emergencia fue negro bola aunque es estadísticamente igual ($P \leq 0.05$) a Pinto y MC.

En la tabla 14 se muestra el promedio de oviposición (número de huevecillos por semilla) y el porcentaje de emergencia, es decir, el número de insectos vivos con relación al número de huevecillos ovipositados en las semillas. En este caso la variedad flor de mayo fue la que presentó un mayor porcentaje de emergencia y la que menos porcentaje presentó fue la de negro bola. Cabe señalar que la variedad NB fue la que menos porcentaje de emergencia presentó, aún cuando fue la segunda más ovipositada de las seis variedades.

Tabla 14. Porcentaje de emergencia de *Z. subfasciatus* respecto a la oviposición

VARIEDAD	PROMEDIO HUEVECILLOS	% DE EMERGENCIA DE ADULTOS
Negro jamapa	17.05 ^{ab}	92.66 ^{a*}
Flor de mayo	16.7 ^{ab}	92.81 ^a
Pinto	16.2 ^{ab}	86.41 ^{ab}
Mayo coba	15.35 ^a	91.20 ^{ab}
Negro bola	17.4 ^{ab}	78.73 ^b
Bayo	18.7 ^b	91.71 ^{ab}

*Diferentes letras en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa (P≤0.05)

Esta diferencia entre la oviposición y el número de adultos emergidos pudiera ser debida al efecto de una serie de factores tales como competencia, mortalidad de huevecillos, baja penetración de las larvas a los cotiledones o presencia de compuestos tóxicos en la semilla de frijol. La hipótesis de la competencia se descartó en este estudio, ya que al revisar la distribución de los huevecillos en las semillas no se observó este comportamiento; la competencia es un proceso natural que ocurre cuando las larvas compiten por el alimento que se encuentra disponible para su desarrollo. Por otra parte, las diferencias entre la oviposición y emergencia del insecto, puede deberse a diferentes factores; como tipo de testa o grosor (Currie y Howe 1964; Raina, 1971 y Carreras, 1960) composición química de la semilla o la presencia de factores antinutrimientales. Por estas razones, se analizaron estos factores para determinar si alguno o algunos de ellos tenían una relación con la oviposición o emergencia del insecto.

6.4. Análisis químico proximal

Se realizó el análisis químico proximal para conocer la composición química de las diferentes variedades de frijol y determinar si la presencia de ciertos compuestos y concentración de sustancias está influyendo o existe una correlación con la oviposición y emergencia de *Z. subfasciatus* en las diferentes variedades de frijol. Los resultados del AQP fueron similares a los reportados por otros autores (Guzmán, 2002; Marzo, *et al.*, 2001 y Munguía, 2010) (tabla 15) (DS: desviación estándar).

Tabla 15. Análisis químico proximal de las diferentes variedades de frijol

VARIEDAD	PROTEÍNA %	GRASA %	CENIZAS %	CARBOHIDRATOS %
Negro Jamapa(NJ)	25.4 ^{a*} +/- 1.51	1.1 ^a +/- 0.06	4.0 ^a +/- 0.02	56.51 ^a
Flor de Mayo(FM)	21.6 ^b +/- 0.50	1.6 ^b +/- 0.02	3.9 ^{ab} +/- 0.04	60.86 ^{ab}
Pinto(PI)	21.6 ^b +/- 0.50	1.5 ^b +/- 0.05	4.0 ^a +/- 0.13	60.33 ^{ab}
Mayo Coba(MC)	17.5 ^c +/- 3.14	1.1 ^{ac} +/- 0.03	3.3 ^b +/- :0.04	65.94 ^{ab}
Negro Bola(NB)	13.1 ^d +/- 1.51	1.1 ^a +/- 0.14	3.8 ^{ab} +/- 0.13	69.16 ^b
Bayo(BAY)	20.1bc +/- 2.31	0.9 ^c +/- 0.19	3.9 ^{ab} +/- 0.18	62.51 ^{ab}

*Medias con diferentes letras en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa (P≤0.05) (n=3)

En base al análisis químico proximal, se mostró que el porcentaje de proteínas fue mayor en la variedad NJ y la variedad NB fue la más baja; respecto al contenido en grasa el de mayor porcentaje se presentó en la variedad FM y en menor porcentaje la variedad BAY; en el caso de las cenizas está tuvo mayor porcentaje en dos variedades NJ y PI, la variedad MC fue la que presentó el menor porcentaje, el contenido de carbohidratos de la variedad con mayor porcentaje fue la de NB y el menor se presentó en la variedad NJ.

Estos resultados fueron los esperados, porque como ya se mencionó, la mayoría de las variedades se encuentran dentro de los rangos de contenido de compuestos químicos reportados (Guzmán, 2002; Munguía, 2010), con excepción de algunas variedades como NB que presentó el más bajo contenido de proteínas y el más alto contenido de carbohidratos; MC tuvo un bajo porcentaje de proteínas; BAY con un bajo contenido de grasa, todos ellos respecto a lo reportado por Guzmán (2002); Marzo, *et al.* (2001) y Munguía (2010).

Hay que recordar que la variedad NB fue la que menos emergencia de adultos presentó y como se pudo observar (tabla 15), esta fue la que menos contenido de proteínas tuvo, pero la de mayor contenido de carbohidratos, en relación con las otras variedades. Más adelante mencionaremos la importancia de estos compuestos químicos, así como la interacción que entre ellos pueden formar.

A continuación, se muestran las correlaciones que se calcularon, entre cada compuesto químico de las variedades de frijol con la oviposición y emergencia del *Z. subfasciatus*, para tratar de establecer una relación entre ellos. En el caso de humedad, no serán evaluadas porque las 6 variedades, fueron ajustadas a un 12% de contenido de humedad.

- **Carbohidratos**

Al realizar un análisis estadístico a los resultados de carbohidratos, se observó que se formaron 3 grupos: el primero formado por NB, el segundo por FM, PI, MC y BAY y el tercero por NJ. El NB es el que mayor cantidad de carbohidratos tiene y la variedad NJ la que menos cantidad tiene.

Al graficar el % de carbohidratos vs. el promedio de oviposición (figura 12), se observó que no existía una correlación ($r=0.0409$). Esto es lógico, porque se sabe que los carbohidratos se encuentran en su mayoría en los cotiledones, por lo tanto, se supone que estos no tienen influencia en la oviposición del *Z. subfasciatus* (Fernández y Talekar, 1990). Por esa razón, al observar los gráficos se ve que los carbohidratos no son un factor que influya en la oviposición, ya que la alta oviposición observada en la variedad BAY y la baja oviposición en PI a contenido intermedio de carbohidratos, sugiere que otros factores (compuestos) están involucrados en esta variable y no el contenido de carbohidratos (Gatehouse, 1987).

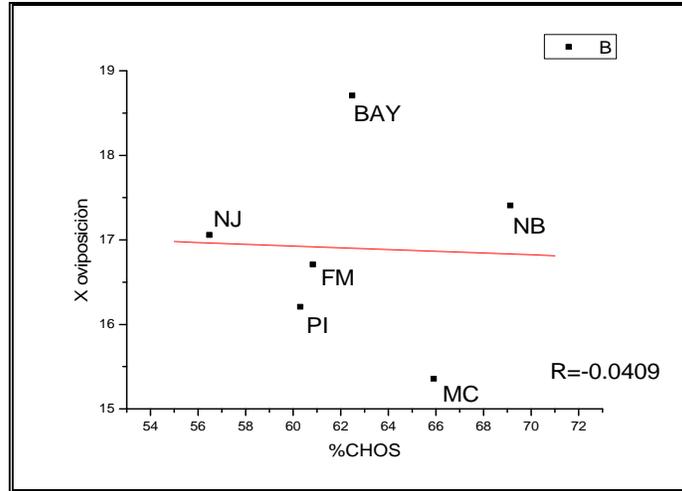


Figura 12. Gráfico de correlación promedio oviposición vs. % Carbohidratos

Al analizar la emergencia con respecto al contenido de carbohidratos de los granos, se observó (figura 13) que existe una correlación negativa moderada $r=-0.51333$ (Lind, 2001). La variedad NB fue la que mayor porcentaje de carbohidratos tuvo, pero en la que menos adultos emergieron, esto supone que los carbohidratos son absorbidos de forma incompleta o que son fácilmente absorbidos pero no metabolizados a altas concentraciones por el *Z. subfasciatus* y ello pudo impedir el desarrollo de los adultos para emerger (Chippendale, 1978; Gatehouse, 1987).

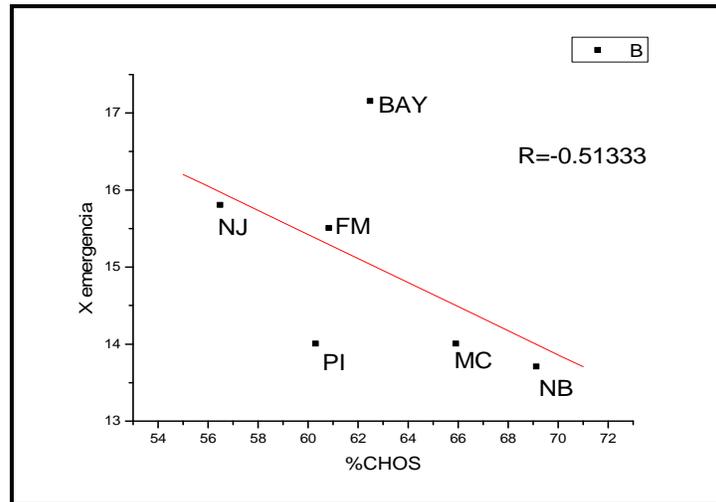


Figura 13. Gráfico de correlación promedio del % emergencia vs. % Carbohidratos

Se había mencionado que los carbohidratos son importantes para el crecimiento y desarrollo de los insectos, pero también se sabe que, algunos de estos carbohidratos pueden causar desnutrición al *Z. subfasciatus* por ser absorbidos de forma incompleta (Chippendale, 1978). En el ataque de *Z. subfasciatus* al frijol, están implicadas enzimas amilasas que participan en la digestión del almidón y que se encuentran en las glándulas salivales del *Z. subfasciatus*. Hay que recordar que el almidón representa más del 50% del peso de la semilla de frijol y es el carbohidrato dominante (Bravo, 1998), pero se sabe que semillas de *P. vulgaris* resistentes al ataque de diferentes gorgojos entre ellos *Z. subfasciatus*, presentan un inhibidor proteico de amilasas (α AI), el cual se activa mediante proteólisis (Pueyo, 1993), lo cual podría ser una explicación del porque emergen más adultos en

variedades con menor contenido de CHOS. Para probar esta suposición sería necesario cuantificar el contenido de inhibidores de amilasa en las variedades de frijol estudiadas.

- **Proteína**

Al hacer el análisis estadístico a los resultados de proteína, se observó (figura 14) que no existió una correlación $r=0.00211$ (Lind, 2001) entre la oviposición y el contenido de proteínas de las seis diferentes variedades de frijol, por lo que se puede decir que este no es un factor que afecte a la oviposición. Hay que señalar que en los cotiledones se encuentra la mayor cantidad de proteínas y no en la testa, que es donde se depositan los huevecillos.

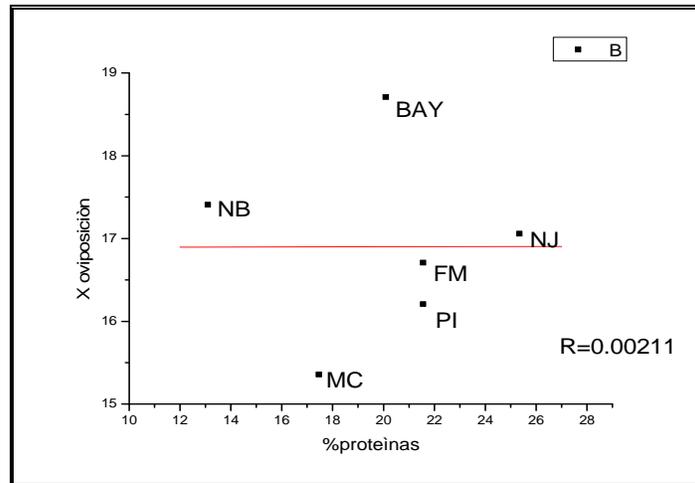


Figura 14. Gráfico de correlación promedio oviposición vs. % Proteína

En el caso de la emergencia (figura 15) del *Z. subfasciatus*, contrario a la oviposición, ésta mostró una correlación positiva moderada $r=0.5374$ (Lind, 2001) observándose un aumento de la emergencia a medida que el contenido de proteínas fue mayor.

Aunque la variedad NJ es la que tuvo mayor cantidad de proteína no tuvo el mayor porcentaje de emergencia, en cambio BAY fue la variedad que presentó el mayor porcentaje de emergencia aunque su contenido de proteínas fue intermedio; mientras que NB presentó la más baja emergencia de adultos, y esto pudiera deberse a que contiene un bajo contenido de proteínas. Lo anterior pudiera indicar que es la calidad y no la cantidad de proteínas la que juega un papel importante, además de la posible sinergia con otros compuestos (Janzen *et al.*, 1977).

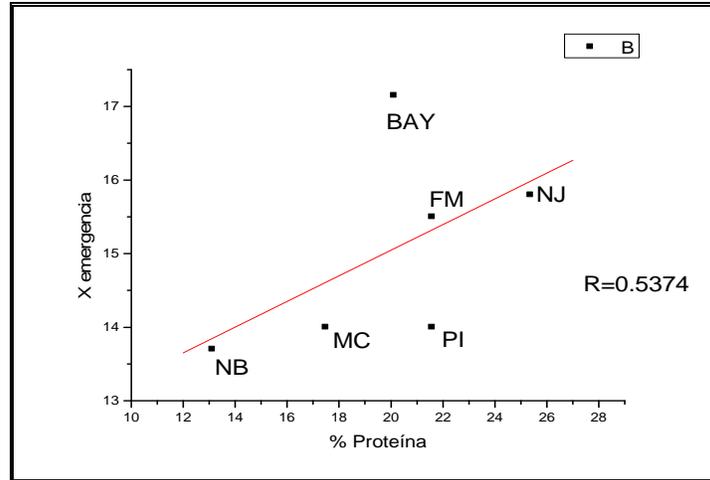


Figura 15. Gráfico de correlación promedio del porcentaje de emergencia vs. % Proteína

Las proteínas son importantes para el crecimiento y desarrollo del gorgojo pinto del frijol, pero ciertas proteínas o aminoácidos de las leguminosas han mostrado ser tóxicas para larvas de brúquidos (Janzen *et al.*, 1977). Por otro lado en el CIAT (1982 y 1988) se mencionó que existe un nuevo tipo de glicoproteína (arcelina) en algunas variedades de frijol silvestre, la cual confiere resistencia contra el ataque de *Acanthoscelides obtectus* y *Z. subfasciatus*.

- **Cenizas**

La figura 16 muestra que existe una correlación positiva fuerte $r=0.52399$ entre la oviposición y el contenido de cenizas, esto es, que hubo un aumento en la oviposición mientras la semilla de frijol presentaba mayor contenido de cenizas.

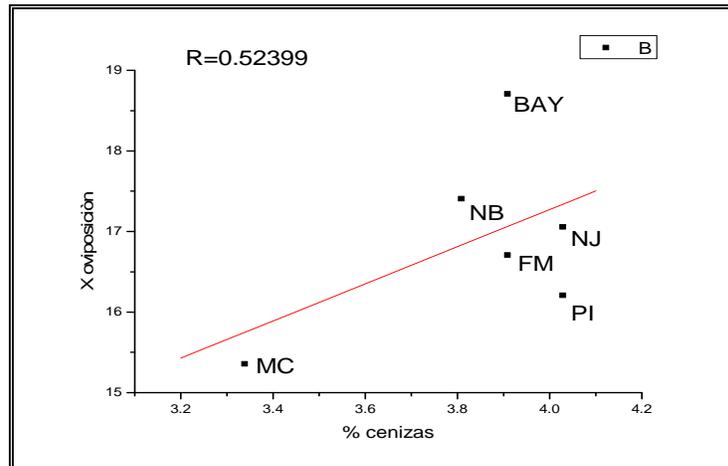


Figura 16. Gráfico de correlación promedio oviposición vs. % cenizas

Para la emergencia (figura 17), se observó que hay una correlación positiva débil $r=0.39245$, por lo que se puede decir, que no existe una relación entre la emergencia y el contenido de cenizas en el frijol.

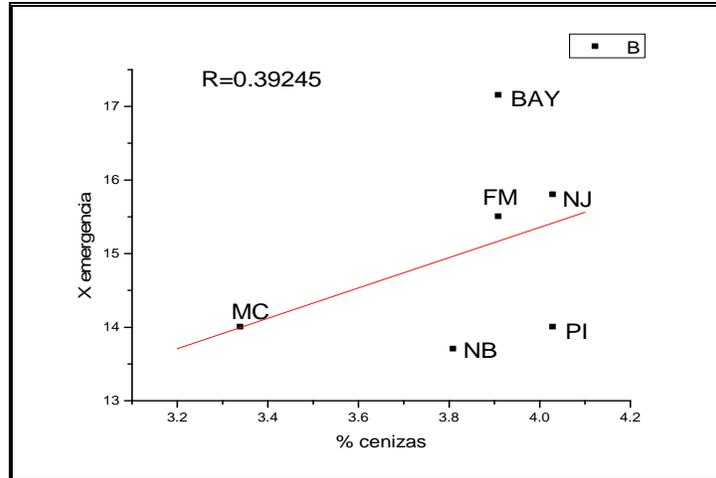


Figura 17. Gráfico de correlación promedio emergencia vs. % cenizas

Por los resultados de las correlaciones, se puede decir que las cenizas no son un factor importante para la emergencia del gorgojo en las diferentes variedades, pero para la oviposición sí. Las cenizas se encuentran principalmente en la testa, haciendo de esta una capa más rígida y por lo tanto más estable para la oviposición, ya que permite una mayor adherencia del huevecillo

- **Grasa**

En la figura 18, se muestra que existe una correlación débil $r=0.40504$ (Lind, 2001) entre el porcentaje de grasa y la oviposición; BAY fue la variedad que menor contenido de grasa tiene y la que mayor oviposición presentó. Las grasas se encuentran principalmente en los cotiledones, por lo que se supone no debería tener influencia en la oviposición.

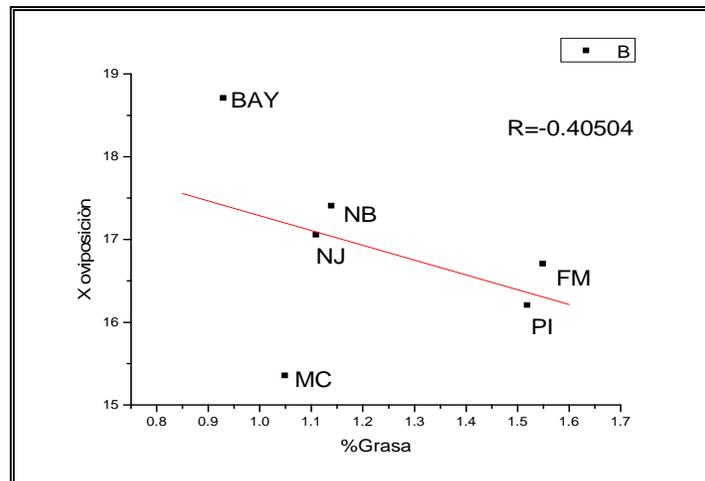


Figura 18. Gráfico de correlación promedio oviposición vs. % grasa

En el caso de la emergencia (figura 19), se observó una correlación débil $r=0.32814$ (Lind, 2001), de hecho es más baja que en la oviposición, se observó que NB fue el que menor emergencia presentó y BAY fue el mayor, siendo este último el que menor contenido de grasa contiene; mientras que NB se encuentra con un contenido

de grasa intermedio. Aunque las grasas están en mayor porcentaje en los cotiledones, se puede decir que no influyó en la emergencia del gorgojo.

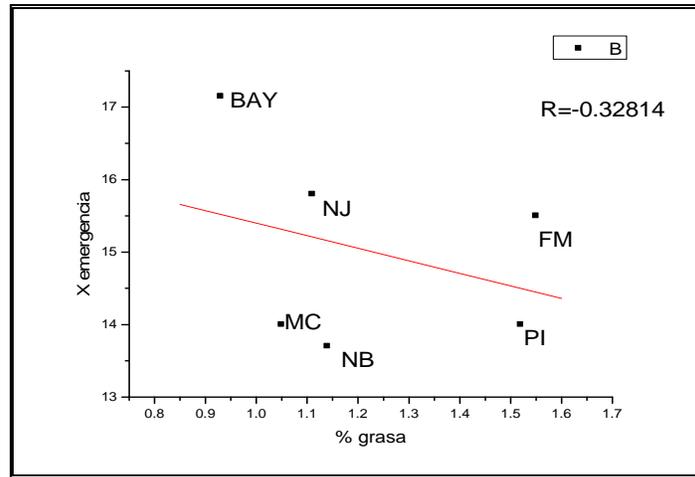


Figura 19. Gráfico de correlación promedio emergencia vs. % grasa

El contenido de grasa en el frijol, no es muy alta, se sabe que el contenido de aceite de las leguminosas, ocasionan muerte o desarrollo lento de larvas y adultos pequeños con poco vigor, que ponen pocos huevecillos (Thiery, 1984). Lo anterior sería una posible explicación del porque en la oviposición y en la emergencia de *Z. subfasciatus* se tiene una tendencia negativa con respecto al mayor porcentaje de grasa en las variedades de frijol.

6.5. Determinación de tamaño del frijol

Existen reportes que mencionan que, el tamaño de la semilla puede ser un factor importante para la preferencia del *Z. subfasciatus* en la etapa de oviposición y emergencia (Gibson y Raina, 1972; CIAT, 1982). Por ello, se determinó el tamaño a cada una de las variedades de frijol en estudio y los resultados se muestran en la tabla 16.

Tabla 16. Tamaño de las diferentes variedades comerciales de frijol

VARIEDAD	PESO g/100 semillas	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	TAMAÑO
Negro Jamapa	17.40 ^{a*}	0.4	Muy pequeño
Flor de Mayo	26.36 ^{bc}	0.15	Pequeño
Pinto	38.33 ^c	0.15	Medio
Mayo Coba	55.08 ^d	0.10	Grande
Negro Bola	28.33 ^b	0.15	Pequeño
Bayo	32.43 ^b	0.40	Pequeño

*Diferentes letras indican diferencia estadísticamente significativa (P≤0.05) (n=3)

Los resultados de tamaño (tabla 18) nos muestran que las variedades de frijol bajo estudio se dividieron estadísticamente en 4 grupos diferentes, el tamaño mas grande lo tuvo mayo coba, el tamaño medio fue el pinto, los pequeños fueron flor de mayo, negro bola y bayo, el muy pequeño es el negro jamapa (Box, 1960).

En la figura 20 se muestra que existe una correlación positiva fuerte $r=0.5803$ (Lind, 2001) entre la oviposición y el tamaño de la semilla de frijol, la mayor oviposición se presentó en frijol bayo que es de tamaño medio, en la semilla de mayor tamaño MC la oviposición fue menor, de hecho sobre ella están variedades más pequeñas que presentaron más oviposición. Aunque bibliográficamente se ha reportado una preferencia para ovipositar de *Z. subfasciatus* en semilla grande (Gibson y Raina, 1972; CIAT, 1982), en este caso se observó lo contrario, cabe señalar que este experimento fue de elección forzada, esto es, que no tuvieron libertad de escoger sobre diferentes tamaños dentro de la misma variedad, por lo que no se realizó una elección de tamaño por parte del *Z. subfasciatus* ya que todas las muestras eran homogéneas.

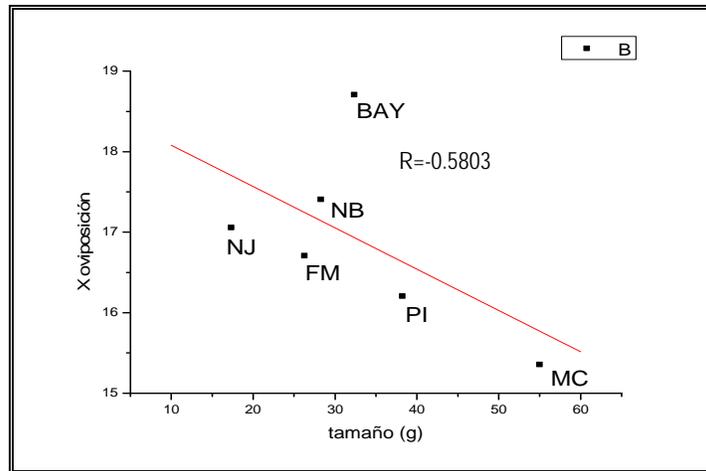


Figura 20. Gráfico de correlación promedio oviposición vs. Tamaño

Respecto al porcentaje de emergencia presentada entre las diferentes variedades (figura 21) existe una correlación negativa débil $r=-0.44023$ (Lind, 2001), en este caso la variedad que mayor porcentaje de emergencia presentó fue la de BAY igual que en la oviposición, como se observa entre los dos gráficos (figura 20 y 21) la emergencia tuvo una menor correlación con el tamaño del grano.

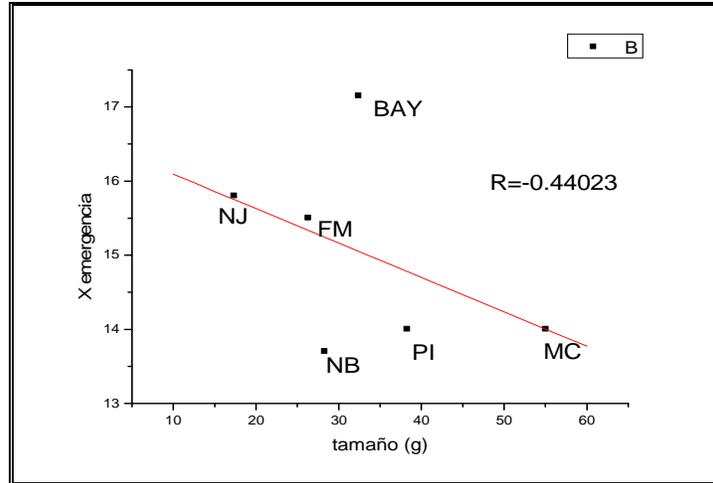


Figura 21. Gráfico de correlación promedio emergencia vs. Tamaño

En conclusión tanto para la oviposición como para la emergencia el tamaño de la semilla no fue un factor que afectara la elección del *Z. subfasciatus* sobre alguna de las seis diferentes variedades de frijol, como ya se había mencionado el experimento fue de elección forzada, por lo que no tuvieron libertad para elegir el tamaño de semilla de frijol y esto pudiera explicar estos resultados.

6.6. Determinación de porcentaje de cáscara

Se sabe que la cáscara tiene un papel muy importante en la defensa contra el ataque de insectos, ya que es una barrera química y/o física; por lo que mientras mayor sea el contenido de cáscara en la semilla, más difícil será para la larva perforar esta y penetrar a los cotiledones (Martín-Tanguy *et al.*, 1977). Los resultados de la determinación del porcentaje de cáscara en las diferentes variedades de frijol se muestran en la tabla 19.

Tabla 17. Porcentaje de cáscara en las diferentes variedades de frijol

VARIEDAD	PORCENTAJE DE CÁSCARA %	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	CONTENIDO DE CÁSCARA
Negro Jamapa	9.00 ^{a*}	0.27	Intermedio
Flor de Mayo	10.15 ^a	0.35	Alto
Pinto	8.44 ^{ab}	0.05	Intermedio
Mayo Coba	6.35 ^c	0.35	Bajo
Negro Bola	9.54 ^a	0.30	Intermedio
Bayo	9.10 ^a	0.26	Intermedio

*Diferentes letras indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) ($n=3$)

La variedad con más porcentaje de cáscara fue Flor de mayo, y la de menor contenido fue mayo coba, estando las demás en la clasificación de contenido intermedio. Con estos resultados se evaluó si existía una relación con el promedio de oviposición y el promedio de emergencia presentado en las diferentes variedades de frijol.

En la figura 22 se muestra que existe una correlación fuerte $r=0.63396$ (Lind, 2001) entre la oviposición y el porcentaje de cáscara, MC con un contenido de cáscara bajo tiene una baja oviposición, en cambio BAY con un contenido de cáscara intermedio presentó alta oviposición. En este caso se observó que los gorgojos tuvieron una preferencia al ovipositar en semillas con un alto contenido de cáscara (FM).

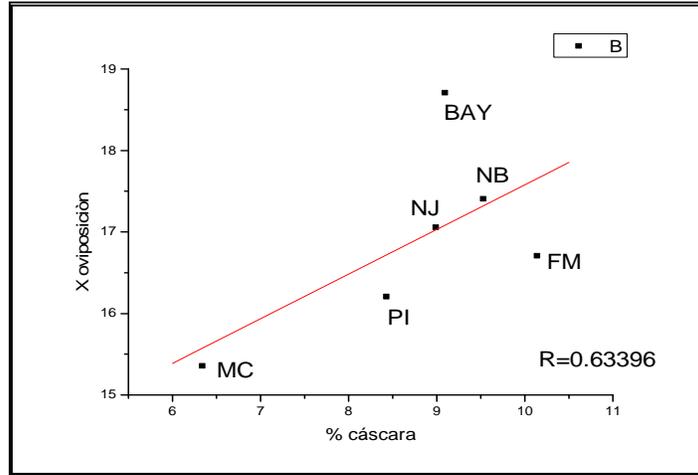


Figura 22. Gráfico de correlación promedio oviposición vs. %cáscara

Los resultados de una posible relación entre la emergencia y el porcentaje de cáscara (figura 23) mostraron que, existe una correlación débil $r=0.37496$ (Lind, 2001). La variedad BAY fue la que mayor porcentaje de emergencia presentó teniendo un contenido de cáscara intermedio, MC presentó más emergencia que PI y NB aún cuando estas dos últimas presentaron mayor contenido de cáscara.

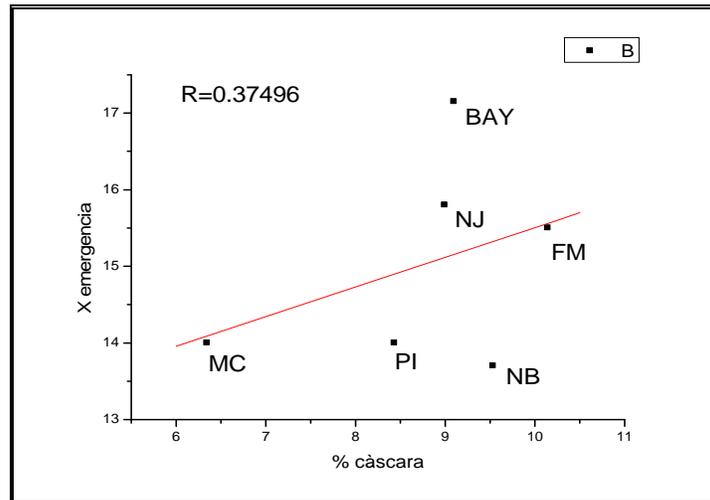


Figura 23. Gráfico de correlación promedio emergencia vs. % cáscara

Se puede decir que mientras mayor sea el porcentaje de cáscara en las semillas de frijol, mayor oviposición de *Z. subfasciatus* hubo, y en el caso de la emergencia aunque la correlación es baja sigue la misma tendencia. Lo que nos está sugiriendo es que no es la cantidad de cáscara sino el tipo o composición de la misma. La testa está formada principalmente por polisacáridos de pared celular, conocidos comúnmente como fibra, la cual puede ser muy difícil de romper por la larva (Currie y Howe, 1964; Raina, 1971 y Carreras, 1960), el grosor de la testa es consecuencia de la acumulación de celulosa y lignina que ocasiona tejidos más resistentes a la acción de las mandíbulas de las larvas de los insectos y que afecta la penetración inicial de larvas de brúquidos en los granos y

la salida de adultos. Por lo tanto, podría decirse que la composición de estos polisacáridos y su tamaño, más que la cantidad de cáscara, influyen en la oviposición y emergencia del gorgojo.

Otro factor son los taninos que es un compuesto antinutricional para los insectos, y están presentes en la testa porque son los que dan el color a la semilla y pudieran influir en la elección del *Z. subfasciatus*.

Con base en lo anterior se podría concluir que, más que la cantidad de cáscara, influye la composición de esta en la oviposición y la emergencia del gorgojo pinto del frijol.

6.7. Determinación de taninos

Los taninos son parte de los compuestos antinutricionales del frijol, hay que recordar que estos compuestos son los encargados de dar color a la testa, esto es, que mientras más oscuras son las semillas de frijol mayor contenido de taninos están presentes. Son compuestos que precipitan al hierro en la preparación de la comida o en el intestino, además de que forman complejos de proteína-carbohidrato por lo que interfieren en la digestibilidad de proteínas y carbohidratos (Huisman y Tolman, 1992).

Tabla 18. Porcentaje de taninos en las diferentes variedades de frijol

VARIEDAD	TANINOS %
Negro jamapa	0.257 ^{a*}
Flor de mayo	0.173 ^b
Pinto	0.138 ^c
Mayo coba	0.305 ^d
Negro bola	0.600 ^e
Bayo	0.757 ^f

*Porcentajes promedio con diferentes letras indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) (n=3)

Los resultados que se obtuvieron (tabla 18) indican que la variedad que más porcentaje de taninos presentó fue la de bayo y la de menos porcentaje fue la de pinto, las variedades más oscuras o negras como negro jamapa y negro bola presentaron porcentajes por debajo de las de bayo, aunque son variedades en las que se esperaba un mayor contenido de taninos, no se observó esta tendencia. Aunque se sabe que el color de la testa es un indicador en el contenido de taninos, ya que mientras más oscura sea la testa mayor contenido de taninos se presentan, también existen otros compuestos fenólicos que determinan el color.

Al realizar un análisis estadístico a los resultados obtenidos, se observó que, todas las variedades fueron significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

En la figura 24 se observa que existe una correlación fuerte entre el porcentaje de taninos y la oviposición $r=0.7734$ (Lind, 2001), es decir que a mayor porcentaje de taninos en una variedad de frijol mayor oviposición hubo.

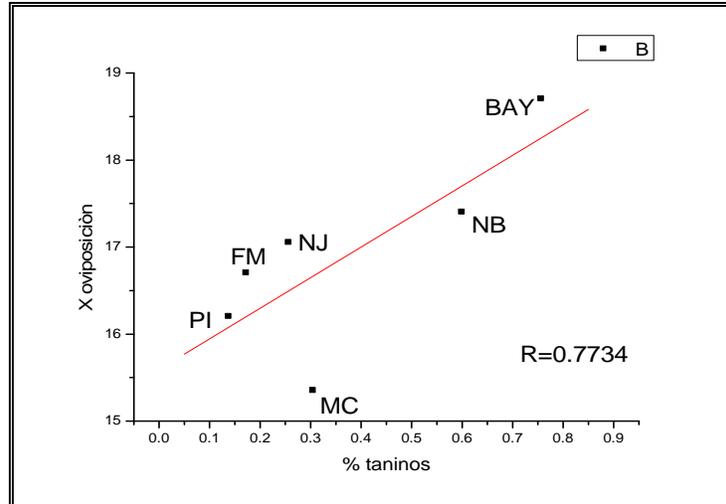


Figura 24. Gráfico de correlación promedio oviposición vs. % taninos

En el caso de emergencia (figura 25) la correlación fue positiva débil con el contenido de taninos $r=0.37814$ (Lind, 2001), Se observó que FM,NJ y BAY tienden a aumentar en la emergencia conforme el contenido de taninos es mayor; mientras que para PI,MC y NB se tiende a disminuir conforme el contenido de taninos es mayor. Es importante señalar que se observaron dos tendencias diferentes, que pudiera ser debida a la variedad y su calidad de compuestos químicos.

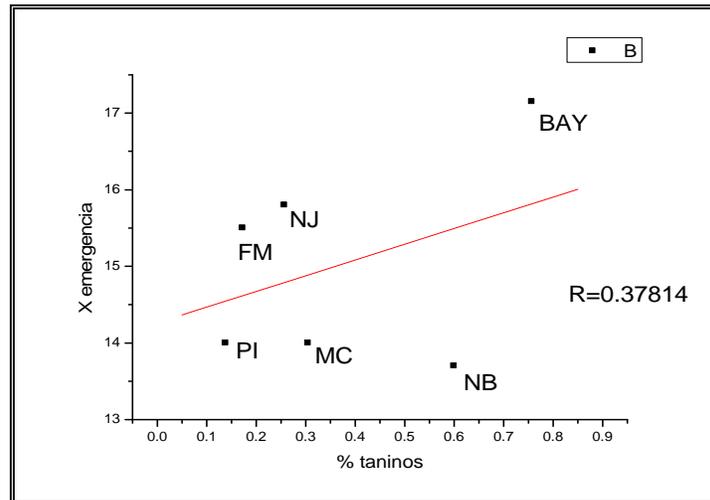


Figura 25. Gráfico de correlación promedio emergencia vs. % taninos

Si se observa la tabla 18 se puede ver que NB es la segunda variedad con un alto porcentaje de taninos y presenta la menor emergencia, mientras que BAY tiene el mayor contenido de taninos y tuvo una emergencia alta, lo que sugiere que los taninos no tienen efecto negativo en el desarrollo del insecto. Sabemos que los taninos son un factor antinutricional que puede limitar el desarrollo de *Z. subfasciatus*, y que existe una relación entre proteínas y taninos que son dependientes de las características de ambos tipos de compuestos como el tamaño de la molécula, su composición aminoacídica y el pH (Hagerman, 1989). Los taninos condensados están presentes en la testa de los frijoles, encontrándose en semillas secas entre 0-2%, variando según la especie y el color de la testa (Reddy, 1985), influyendo de esta manera en la oviposición y

emergencia del *Z. subfasciatus*. De acuerdo a lo que se mencionó anteriormente, se recomienda analizar el tipo de tanino que existe en el frijol, porque esto es lo que podría influir en la oviposición o emergencia.

6.8. Determinación de inhibidores de tripsina

Las proteasas, son enzimas naturales que hidrolizan proteínas, son de gran importancia para la absorción de aminoácidos de la dieta y entre ellas se encuentra la tripsina. En leguminosas como el frijol, se encuentra una sustancia inhibidora de tripsina capaz de unirse a la enzima y formar un complejo inactivo, sus efectos nocivos son retardar el crecimiento, hipertrofia pancreática, reducción de la digestibilidad de la proteína e incremento de los requerimientos de aminoácidos azufrados (Chang y Wang, 1988). Los resultados de la cuantificación de inhibidores de tripsina se muestran en la tabla 19.

Tabla 19. Inhibidores de tripsina en las diferentes variedades de frijol

VARIEDAD	UTI*/mg muestra
Negro Jamapa	17.32 ^{a*}
Flor de mayo	16.75 ^a
Pinto	12.25 ^b
Mayo coba	25.05 ^c
Negro bola	13.34 ^b
Bayo	10.46 ^d

*Concentraciones promedio con diferentes letras indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) (n=3)

*Unidades de Tripsina Inhibida

Se observó que la variedad mayo coba fue la de mayor contenido de inhibidores de tripsina con 25.05 UTI/mg muestra, mientras que la variedad bayo fue la que menos inhibidores de tripsina presentó con 10.46 UTI/mg muestra.

Al analizar una posible correlación entre la oviposición y los inhibidores de tripsina se tuvo una correlación fuerte $r=0.76548$ (Lind, 2001) es decir, que la oviposición fue disminuyendo conforme aumentaba el contenido de inhibidores de tripsina para las seis variedades de frijol, aunque la variedad PI sale de la tendencia.

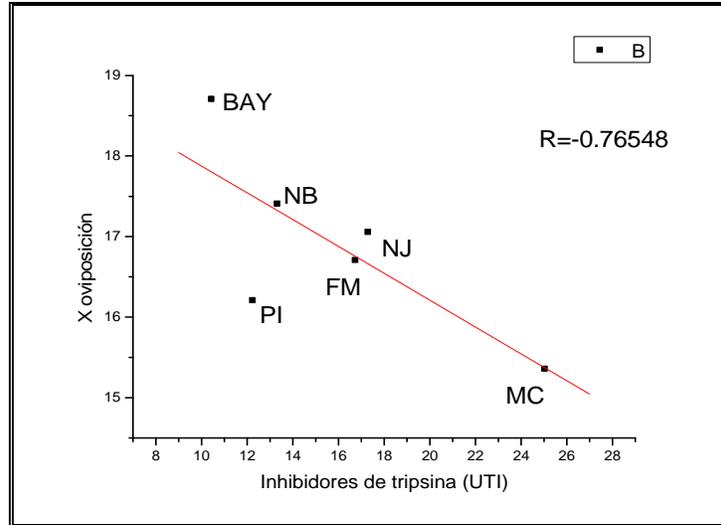


Figura 26. Gráfico de correlación promedio oviposición vs. Inhibidores de tripsina

En el caso de la emergencia (figura 27) se encontró una correlación débil $r=0.34789$ (Lind, 2001). Se observó que BAY fue la variedad que mayor emergencia presentó, con un contenido de inhibidores bajo, mientras que PI y NB presentan menor emergencia aún teniendo un bajo contenido de inhibidores. En este caso, si no se considerará el grupo de PI y NB, ya que salen de la tendencia, se encontraría una correlación alta de $r=0.89353$ (Lind, 2001), algo que sería explicable, ya que la presencia de inhibidores hacen al huésped menos deseable y pueden ser letales para el insecto (Cardona *et al.*, 1988).

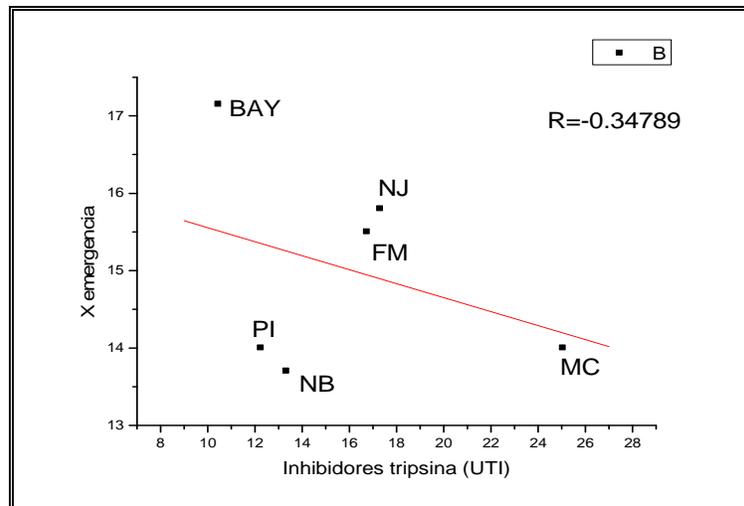


Figura 27. Gráfico de correlación promedio emergencia vs. Inhibidores de tripsina

En este caso se observó que la oviposición disminuyó al aumentar el contenido de inhibidores, por lo que el efecto de los inhibidores de tripsina en el desarrollo (emergencia) indica que a mayor concentración de estos compuestos menor es la emergencia, aunque esto no se cumple para NB y PI donde la concentración de inhibidores es intermedia baja y la emergencia es baja. Los inhibidores de tripsina son muy frecuentes en los alimentos de origen vegetal, los cuales inhiben los sistemas enzimáticos de sus depredadores (microorganismos o insectos), ya que los inhibidores de tripsina causan una reducción de la digestibilidad de la proteína y un

incremento de los requerimientos de aminoácidos azufrados (Liener, 1989). Por lo tanto, al parecer para la oviposición y emergencia es importante tener un contenido bajo en tripsina.

6.9. Determinación de ácido fítico

La presencia de ácido fítico hace que se reduzca la biodisponibilidad de proteínas y minerales, en consecuencia, va a influir en el valor nutritivo de los alimentos. En leguminosas constituye entre 1% y 2% del peso de la semilla, el fósforo del ácido fítico constituye aproximadamente el 80% del fósforo total, y se localiza fundamentalmente en el cotiledón y ejes embrionarios asociado a estructuras proteínicas (Oberleas, 1973). Los fitatos también interactúan con residuos básicos de proteínas, participando en la inhibición de enzimas digestivas entre ellas α -amilasa, que se encuentran en las glándulas salivales del *Z. subfasciatus* y que intervienen en la ruptura de la testa y la digestión del endospermo de la semilla (Pueyo, 1993). Los resultados de la determinación de ácido fítico se muestran en la tabla 20.

Tabla 20. Porcentaje de ácido fítico en las diferentes variedades de frijol

VARIEDAD	ÁCIDO FÍTICO %
Negro Jamapa	0.916 ^{a*}
Flor de mayo	0.711 ^b
Pinto	0.721 ^b
Mayo coba	0.751 ^b
Negro bola	0.710 ^b
Bayo	0.550 ^c

*Porcentajes promedio con diferentes letras indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) (n=3)

Los resultados muestran que la variedad negro jamapa es la que contiene un mayor porcentaje de ácido fítico, mientras que la variedad bayo tiene el menor porcentaje.

Al analizar si existía una correlación entre la oviposición y el contenido de ácido fítico, se encontró una correlación débil $r=0.49554$ (Lind, 2001). La variedad BAY es la que presenta mayor número de oviposición y el menor contenido en ácido fítico; mientras que NB, FM, PI y MC tuvieron un contenido de ácido fítico intermedio y similar entre ellas y no siguen una tendencia, aún cuando NJ tiene un menor contenido de ácido fítico la oviposición es mayor que en las variedades FM, PI y MC.

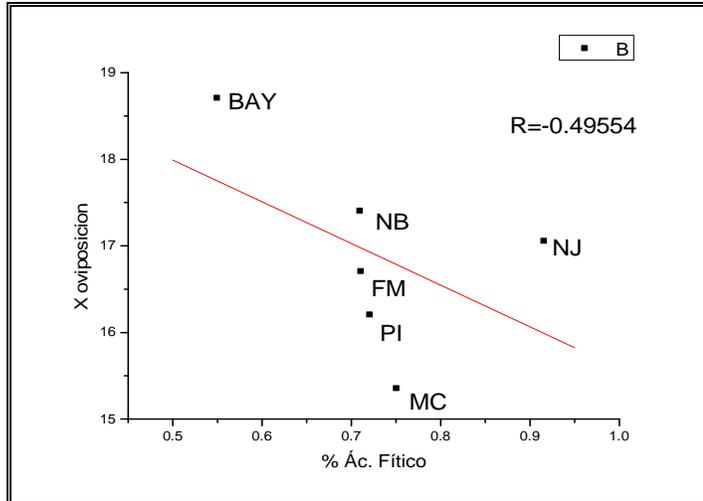


Figura 28. Gráfico de correlación promedio oviposición vs. % ácido fítico

En cuanto a la emergencia (figura 29) la correlación es débil (Lind, 2001) ($r=0.29438$), mucho menor que la que presenta la oviposición. De hecho las variedades FM, PI, MC y NB, no siguen una tendencia.

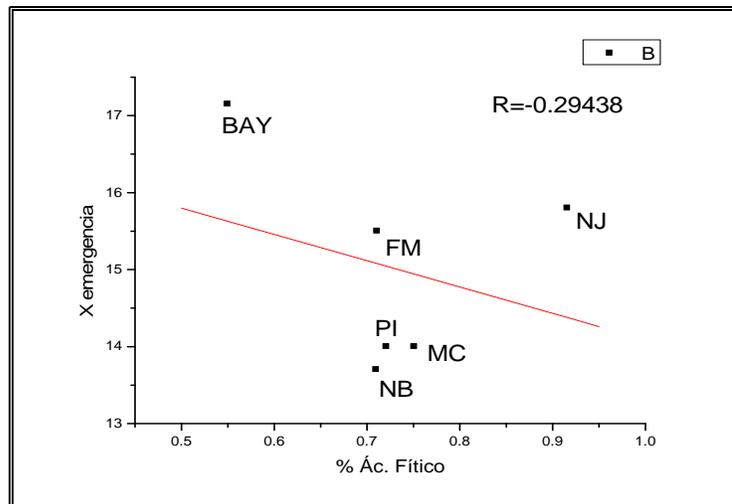


Figura 29. Gráfico de correlación promedio emergencia vs. % ácido fítico

Cuando se calcula la correlación con todas las variedades el valor es bajo, pero cuando se toman sólo los tres grupos estadísticamente diferentes BAY, NJ y uno de las cuatro variedades que forman un grupo, en este caso FM, se encuentra una correlación alta de $r=0.75171$ y esto sugiere que el ácido fítico tienen un efecto sobre la emergencia en estas variedades, es decir, sobre lo que come la larva para desarrollarse y convertirse en insecto (Cardona *et al.*, 1988).

7. CONCLUSIONES

El estudio de la oviposición y emergencia del gorgojo *Z. subfasciatus* en seis diferentes variedades comerciales de frijol permitió conocer que la variedad Bayo fue la más susceptible al ataque del insecto mientras que Mayo Coba fue la menos susceptible, tomando en cuenta el promedio de huevecillos ovipositados y el promedio de emergencia.

La composición química de las diferentes variedades comerciales de frijol evaluadas en el presente estudio coincidió con la reportada en la literatura a excepción del contenido de proteína de la variedad Negro Bola que fue muy baja y su contenido de carbohidratos fue mayor a lo normal como consecuencia de que los otros componentes del grano no se modificaron.

Se encontró una relación importante entre la composición de la testa (porcentaje de cáscara, contenido de minerales y taninos) y la sensibilidad al ataque del *Z. subfasciatus* medido como porcentaje de oviposición en cada variedad de frijol.

También se encontró una relación entre el contenido de proteínas y de carbohidratos con la emergencia del *Z. subfasciatus*, pero los resultados sugieren que además de la cantidad de estos dos compuestos podría tener influencia el tipo de proteína y/o de carbohidrato los cuales pudieran ser de mejor calidad biológica o posiblemente tóxicas para el insecto.

Existió una correlación positiva fuerte entre el contenido de inhibidores de tripsina y la emergencia del insecto pero sólo para las variedades Bayo, Negro Jamapa, Flor de Mayo y Mayo Coba así como con el contenido de ácido fítico pero sólo para las variedades Bayo, Flor de Mayo y Negro Jamapa

8. RECOMENDACIONES

Como una de las principales partes del grano que tuvo una relación con la susceptibilidad al ataque del gorgojo del frijol fue la testa, la cual, está formada principalmente por polisacáridos de pared celular, se recomienda evaluar si estos polímeros tienen una relación directa con esta susceptibilidad.

Como hubo una correlación negativa entre el contenido de carbohidratos en las variedades de frijol y la emergencia del *Z. subfasciatus* y una posible explicación sería que exista un inhibidor de amilasas (α AI), para probar esta suposición se sugiere cuantificar el contenido de inhibidores de amilasa en las variedades de frijol estudiadas.

Dado que los resultados de correlación entre la emergencia del gorgojo del frijol y el contenido de proteína del grano parecen indicar que lo importante es el tipo de proteína y no necesariamente la cantidad, se recomienda identificar si existe la proteína arcelina que ha mostrado ser tóxica para el insecto estudiado.

Debido a que se determinó la influencia del tamaño de frijol y el porcentaje de cáscara sobre la oviposición y emergencia de *Z. subfasciatus* por el método de elección forzada, se recomienda que ahora la experimentación se haga usando el método de libre elección.

BIBLIOGRAFÍA !

1. AACC (American Association of Cereal Chemistry). (1976). Approved methods of analysis. St. Paul: American Association of Cereal chemists. 6th ed.
2. Ajayi F.A. y Lale N.E.S. (2000). Susceptibility of unprotected seeds and seeds of local bambara groundnut cultivars protected with insecticidal essential oils to infestation by *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of stored products research. 37:47-62.
3. AOAC; (1995) Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. The Association: Arlington, VA.
4. Batten G. D.; Greenwood J. S. y Lott J. N. A. (1995). Mechanisms and mineral nutrient storage during seed development. En: Seed Development and Germination. J. Kigel G. Galili (Eds) Marcel Dekker. New York. p. 215.
5. Beck S.D. (1965). Resistance of plants to insects. Ann. Rev. Ent. 10: 207-232
6. Beebe S.; González A. y Rengifo J. (1999). Research on trace minerals in common bean. International Food Policy Research Institute.
7. Bernal C., Galindo I., Pérez D. y Diez N. (2006). Aplicación de la proteómica comparativa para la identificación de proteínas en *Phaseolus vulgaris* asociadas a resistencia a plagas. Agronomía Tropical. Venezuela. 56 (4): 555-559.
8. Berry J.; Nabhan G. y Weber C. (1985). Variation in composition of Hopi Indian beans. Ecology of Food and Nutrition. 16: 135-152.
9. Blanco L.A. y Aguirre M.C. (2002). Proteínas involucradas en los mecanismos de defensa de plantas. Acta Universitaria, Universidad de Guanajuato. 12 (003): 3-28.
10. Borror D.J.; Jonson N.F. y Triplehorn C. A. (1992). An Introduction to the study of insect. Harcourt Brace College Publisher. 6a. Philadelphia, USA. p.875.
11. Bostic R. (1997). Diet and Nutrition in the Etiology and Primary Prevention of Colon Cancer. Ed. Preventive Nutrition. New Jersey, USA: Humana Press. pp. 57-95.
12. Box J. (1960). Leguminosas de grano. Salvat editores. México. pp. 355 – 408.
13. Bravo L.; Saura F. y Siddhuraju P. (1998). Effect of various processing methods on the in vitro starch content of indian pulses. Journal Agric. Food Chem. 46:4667-4674.
14. Bressani R. (1993). Grain quality of common beans. Food Revist Int. 9:237-97.
15. Camacho A.; Carrillo O. (1992). Tecnologías no convencionales de manejo poscosecha de semilla de frijol. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. p. 153.
16. Cárdenas H. (2000). Evaluación de la calidad de la proteína de cuatro variedades mejoradas de frijol. Revista Cubana Alimentaria Nutricional. 14(1):22-27
17. Cardona C. (1994). Insectos y otras plagas invertebradas en frijol en América Latina. Insectos de grano almacenados. En: Pastor-Corrales M. y Schwartz H.F. (eds). Problemas de Producción del frijol en los trópicos. Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT. Cali, Colombia. P. 734.
18. Cardona C. and Kornegay J. (1999). Bean germoplasm resources for insect resistance. En: Clement, S.; Quisenberry, S. (eds). Global Plant Genetic Resources for Insect-Resistant Crops. CRC Press LLC. Florida, UE.
19. Cardona C.; García J.E. y Schoonhoven A. (1988). Principales insectos que atacan el grano de frijol almacenado y su control. Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT. Cali, Colombia. p. 46.
20. Carreras P.M. (1960). Evaluación del daño ocasionado por el gorgojo pinto (*Spermophagus pectoralis* Say) a diez variedades de frijol. Tesis profesional. Escuela Nacional de Agricultura. Chapingo, México.

BIBLIOGRAFÍA !

21. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL, CIAT. (1982). Programa de frijol. Estrategia de investigación para incrementar la producción. Reportes anuales. Apartado: plagas de granos almacenados. Cali, Colombia.
22. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL, CIAT. (1984). Morfología de la planta de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Guía de estudio. CIAT. Cali, Colombia. p. 49.
23. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL, CIAT. (1988). Frijoles silvestres fuente de resistencia a brúquidos. Cali, Colombia. Vol. 7. No. 1.
24. Cheryan M. (1980). Phytic acid interactions in food systems. *Critical Reviews in Food Sci. and Nutrition*. 76:1-9.
25. Chippendale G.M. (1978). *Biochemistry of Insects*. Edit by Rock M. Academic Press, New York, USA.
26. Currie J.E. y Howe R.W. (1964). Some laboratory observations on rates development, mortality and oviposition of several species of bruchidae breeding in stored pulses. *Bulletin Entomology Research*. 55(3): 437-447.
27. Debouck D. e Hidalgo R. (1985). Morfología de la planta de fríjol común. En Marcelino López, Fernando Fernández y Aart van Sochoonhoven (comp), *Frijol: investigación y producción*. PNUD/CIAT. Cali, Colombia. p. 7-41.
28. Dvorakova J. (1998). Phytase: Sources, preparation and exploitation. *Folia Microbiol*. 43:1186-1189
29. Elías L.G., García-Soto y Bressani R. (1982). Métodos para establecer la calidad tecnológica y nutricional del frijol. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP)
30. Fernández X. y Rodríguez C. (2003). Los frijoles (*Phaseolus vulgaris* L.): Su aporte a la dieta del costarricense. *Acta Med. Costarric*. 45(3).
31. Fernandez, G.C.J., and Talekar, N.S. (1990). Genetics and breeding for bruchid resistance in Asiatic Vigna species. In *Bruchids and legumes: economics, ecology and coevolution*. Edited by K. Fujii. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht Netherlands. pp. 209-217.
32. García C.M. (1998). Producción de semillas de buena calidad. PRIAG. Manual para agricultores. Capítulo 4. p. 153.
33. Gatehouse A. (1987). Role of carbohydrates in insect resistance in *Phaseolus vulgaris*. *J. Insect. Physiol*. Vol. 33, No.11 pp 843-850.
34. Gibson K.E. y Raina A.K. (1972). A simple laboratory method of determining the seed host preference of Bruchidae. *J. Econ. Entomol*. 65(4):1189-1190.
35. Guillaume J.; Kossa A. y Martín-Tanguy J. (1977). Condensed tannins in Horse Bean sedes: Chemical structure and apparent effects on poultry. *J Sci Food Agric*. 28: 757-765.
36. Guzmán S. (2002). Calidad alimentaria y potencial nutraceutico del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agricultura Técnica en México*. 28(2):159-173.
37. Hagerman A.E. (1989). Chemistry of tannin-protein complexation. En: *Chemistry and significance of condensed tannins*. New York: Plenum Press. p. 323-334.
38. Harland B.; Morris E. (1995). Phytate: a good or bad food component. *Nutr. Res*. 15:733-754.
39. Haug W. Lantzsck. (1983). Sensitive Method for rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *J. Sci Food Agric*. 34:1423-1426.
40. Hogue C. L. (1993). Beetles. Seed beetles. *Latin America insects and entomology*. University of California Press. Los Angeles, UE. p. 536.
41. Huisman J. y Tolman G.H. (1992). Antinutritional factors in the plant proteins of diets for non-ruminants. In : *Recent Advances in Animal Nutrition*. UK. pp 3-31.

BIBLIOGRAFÍA !

42. ISO 9648; (1988) Determinación del contenido de taninos en sorgo. Internacional Organization of Standarization.
43. Janzen D.H., Juster H.B. and Bell E.A. (1977). Toxicity of secondary compounds to the seed-eating larvae of the Bruchidae beetle *Callosobruchus maculatus*. *Phytochem.* 16(2):223-227.
44. Jennings P.R. y Maxwell F.G. (1984). Mejoramiento de plantas resistentes a insectos. Editorial Limusa, S.A. México. p. 696.
45. Kakade M.L., Rackis J.J., McGhee J.E. and Puski G.(1974). Determination of Trypsin Inhibitor Activity of Soy Products: A Collaborative Analysis of an Improved Procedure. *American Association of Cereal Chemistry.* 51:376-381
46. Kelley L.; Chandalia M.; Gar A.; Gundry S.; Lutjohann D. y Von Bergmahn K. (2000). Beneficial Effects of Dietary Fiber intake in Patients with Type Diabetes Mellitus. *New Eng J Med.* 342(19):1440-1441.
47. Kohashi S.J. (1996). Aspectos de la morfología y fisiología *Phaseolus vulgaris L* y su relación con el rendimiento. Instituto de Recursos Naturales. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. p. 42.
48. Laurant P.; Touyz R. (2000). Physiological and Pathophysiological Role of Magnesium in the Cardiovascular System: Implications in Hypertension. *J Hipertens* 18 (9): 1171-1191.
49. Liener I.E. (1989). Antinutritional factors in legume seeds: state of the art. In: Proceedings of the first International Workshop on Antinutritional Factors (ANF) in legume seeds. Wageningen, Netherlands. Pp 23-25
50. Lind D.A, Mason R.D., Marchal W.G. (2001). Estadística para Administración y Economía. Ed. Irwin McGraw-Hill.F.
51. Martín- Tanguy J., Guillaume J. and Kossa A. (1977). Condensed tannins in Horse Bean seeds: Chemical structure and apparent effects on poultry. *J. Sci. Food Agric.* 28:757-765.
52. Marzo F., Alonso R., Urdaneta E. and Ibañez F. (2001). Nutritional quality of extruded kidney bean (*Phaseolus vulgaris L*. var. Pinto) and its effects on growth and skeletal muscle nitrogen fractions in rats. Navarra, España.
53. Mc Carty M. (1999). Vegan protein may reduce risk of cancer, obesity and cardiovascular disease by promoting increased glucagon activity. *Med. Hypothes.* 53(6): 459-85.
54. Menéndez A., E. (1983). Evaluación estadística por computadora a posibles indicadores de resistencia en frijol, al ataque de insectos de almacén. Memorias del Coloquio Internacional sobre conservación de semillas y granos almacenados. México. p. 176-183.
55. Messina M. (1995). Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. *Am J Cl Nut.* 70 (3 Suppl.): 439S-450S.
56. Munguía Pacheco Mariana (2010). Influencia del deterioro del frijol (*Phaseolus vulgaris L.*) provocado por un mal almacenamiento sobre su calidad nutrimental. Tesis de Licenciatura, FES-Cuautitlán, UNAM. México.
57. NMX-FF-038-SCFI-2002: Fecha de consulta: 22 de marzo de 2011. Disponible en: http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Lists/Instrumentos%20Tcnicos%20Normalizaci n%20y%20Marcas%20Colecti/Attachments/91/NMX_FRIJOL.pdf
58. Oberleas D. (1973). Toxicans occurring naturally in foods. *National Academy of Sciences. USA.* pp. 363-371.
59. Ortega M.L. (1987). Tasas de supervivencias y reproducción de *Acanthoscelides obtectus* Say en diferentes variedades de frijol *Phaseolus vulgaris L*. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.
60. Ortiz V.M. (1998). El frijón en el estado de Zacatecas. Gobierno del Estado de Zacatecas, Zacatecas, p. 181.

BIBLIOGRAFÍA !

61. Painter R.H. (1958). Resistance of plants to insects. *Ann. Rev. Entomol.* 3: 193-218
62. Pérez P. (2002). Caracterización física, culinaria y nutricional de frijol del altiplano subhúmedo de México. *Arch. Latinoamericanos Nutr.* 52(2).
63. Philbrick Helen y John. (1982). *El libro de los insectos*. Continental. México.
64. Pueyo J.J., Hunt D.C. and Chrispeels M.J. (1993). Activation of bean (*Phaseolus vulgaris*) α -amylase inhibitor requires proteolytic processing of the proproteir. *Plant Physiol.* 101:1341-1348.
65. Puzzi Domingos. (1984). *Manual de almacenamiento de granos*. Editorial Hemisferio sur S.A. Argentina. p. 109.
66. Raina A.K. (1971). Comparative resistance to three species of *Callosobruchus* in a strain of chickpea (*Cicerietinum*) *J Stored Prod Res.* 7(3): 213-216.
67. Ramayo R. L. (1983). *Tecnología de granos y semillas*. Departamento de Industrias Agrícolas. UACH, Chapingo. p. 216.
68. Reddy B. (1999). Prevention of colon carcinogenesis by components of dietary fiber. *Anticancer Res.* 19(5A): 3681-3.
69. Rodríguez H, C. (2000). *Plantas contra plagas; potencial práctico de ajo, anona, chile y tabaco*. RAPAM y RAAA. Editorial Futura. Texcoco, Estado de México, México. 133 p.
70. Rodríguez R. F. y Rodríguez M. C. (1990). Evaluación de la actividad tóxica de polvos vegetales y minerales sobre el gorgojo mexicano del frijol *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) en frijol almacenado bajo condiciones de laboratorio. En: *II Simposio Nacional Sobre Sustancias Vegetales y Minerales en el Combate de Plagas de la Sociedad Mexicana Entomologica*. Oaxaca, Oax., p. 146-161.
71. Romero P.E. (1993). El frijol y la alimentación. En Cuauhtémoc González Pacheco y Felipe Torres Torres (Coord), *Los retos de la soberanía alimentaria en México*. Tomo I, Instituto de Investigaciones Económicas, UNAM–Juan Pablos, México. p. 53-67.
72. SAGARPA (2007): Fecha de consulta: 19 febrero de 2011. Disponible en: www.siap.sagarpa.gob.mx/ventana.php?idLiga=1500&tipo=0
73. Southgate B.J. (1979). Biology of Bruchidae. *Ann Rev Entomol.* 24: 449-473.
74. Suárez M.P. (2003). Acido Fólico: Nutriente Redescubierto. *Acta Médica Costarricense.* 45(1):5-9
75. Thiery D. (1984). Hardeness of same fabaceus seed coat in relation to larval penetration by *Acanthoscelides obtectus* (Say). *J. Stores Prod Res.* 20(4): 177-181
76. Thompson L. U. (1986). Phytic acid: a factor influencing starch digestibility and blood glucose responce. En: *Phytic Acid: Chemistry and Applications* (E. Graf, Ed.). Pilatus Press, Minneapolis. p. 173-194.
77. Thompson L. U.; Yoon J. H. (1984). Starch digestibility as affected by polyphenols and phytic acid. *J. Food Sci.* 49:1228-1229.
78. Tiburcio G.T. (1992). Alteração na composição centesimal nos polifenólicos e na digestibilidade *in virto* da proteína em seis variedades de feijão alado (*P. tetragonolobus*) após armazenamento. *Dissertação (Mestrado em ciência dos alimentos)*-Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia, Belo Horizonte. p. 54.
79. Vélez A.R. (1997). *Plagas agrícolas de impacto económico en Colombia: Bionomía y Manejo Integrado*. Editorial Universidad de Antioquía. Medellín, Colombia. p. 480.
80. Vera G.J, Rodríguez Q.M, Valdez C.M y Castillo M.A. (2000). Identificación de ínstares larvales de *Zabrotes subfasciatus* (boh.) (Coleoptera: bruchidae) mediante las dimensiones de sus cápsulas cefálicas. *Agrociencia.* 34(1): 83-90.

BIBLIOGRAFÍA !

81. Vidales-Estrada M. (1991). Plantas tropicales en el control del gorgojo *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae) en maíz almacenado. Tesis M.C. FAUANL. Marín, N.L. p.69.
82. Voysest V. O. (2000). Mejoramiento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), Centro Americano de Agricultura Tropical, Cali, Colombia. p. 195.
83. Wang C.R. y Chang, S.K. (1988). Effect of selected canning methods on trypsin inhibitor activity sterilization valve and firmness of canned navy beans. J. Agri. Food. Chem. 36:1015
84. Wang, C.R.; Chang, S.K.c. (1988). Effect of selected canning methods on trypsin inhibitor activity sterilization valve and firmness of canned navy beans. J. Agri. Food. Chem. 36:1015
85. Whitney E.; Rolfes S. (1999). Understanding Normal and Clinical Nutrition. 8ª Ed. USA: Wadsworth Publishing Company.