

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO EN ALIMENTOS
Programa de Posgrado en Ciencias y Tecnología de Alimentos

Uso de Atmósferas Modificadas Durante el Almacenamiento del Garbanzo: su Efecto en la Calidad del Grano y Semilla y Sobre la Mortalidad y Fecundidad del Insecto *Callosobruchus chinensis*

TESIS

Como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS

Autor

M.C. Luz Raquel Bourne Murrieta

APROBACIÓN

Título de la Tesis

Uso de Atmósferas Modificadas Durante el Almacenamiento del Garbanzo: su Efecto en la Calidad del Grano y Semilla y Sobre la Mortalidad y Fecundidad del Insecto *Callosobruchus chinensis*

Autor



M.C. Luz Raquel Bourne Murrieta



Dr. Jordi Riudavets Muñoz
Director de Tesis



Dr. Jesús Borboa Flores
Co-Director

Dra. Oliviert Martínez Cruz
Secretario



Dra. Carmen Lizette Del Toro S.
Sinodal

Dr. Silverio García Lara
Sinodal

Hermosillo, Sonora a enero de 2022.

Asunto: Cesión de derechos

**UNIVERSIDAD DE SONORA
P R E S E N T E.**

Por este conducto hago constar que soy autor y titular de la obra denominada: Uso de Atmósferas Modificadas Durante el Almacenamiento del Garbanzo: su Efecto en la Calidad del Grano y Semilla y Sobre la Mortalidad y Fecundidad del Insecto *Callosobruchus chinensis*, en los sucesivo LA OBRA, realizada como trabajo terminal con el propósito de obtener el Grado de Doctor en Ciencias de los Alimentos, en virtud de lo cual autorizo a la Universidad de Sonora (UNISON) para que efectúe la divulgación, publicación, comunicación pública, distribución, distribución pública, distribución electrónica y reproducción, así como la digitalización de la misma, con fines académicos o propios de la institución y se integren a los repositorios de la universidad, estatales, regionales, nacionales e internacionales.

La UNISON se compromete a respetar en todo momento mi autoría y a otorgarme el crédito correspondiente en todas las actividades mencionadas anteriormente.

De la misma manera, manifiesto que el contenido académico, literario, la edición y en general cualquier parte de LA OBRA son de mi entera responsabilidad, por lo que deslindo a la UNISON por cualquier violación a los derechos de autor y/o propiedad intelectual y/o cualquier responsabilidad relacionada con la OBRA que cometa el suscrito frente a terceros.

A T E N T A M E N T E



M.C. Luz Raquel Bourne Murrieta

Nombre y Firma del Autor



LIC. GILBERTO LEÓN LEÓN
Abogado General
UNIVERSIDAD DE SONORA

DEDICADO

A la memoria de mi Padre

A mi amada Madre

A mis pequeños amores y grandes maestros Mei Li e Iker Xavier

A mi gran amor Francisco, siempre

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Sonora, mi amada Alma Mater. Búho por siempre.

Al Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, al personal y maestros que conforman este gran centro de investigación. Una mención especial a la Dra. Patricia Torres, por su apoyo y sus palabras de consuelo en momentos difíciles. A todos mil gracias.

A los sinodales Dr. Jordi Riudavets, Dr. Jesús Borboa, Dra. Oliviert Martínez, Dra. Carmen Lizette Del Toro y Dr. Silverio García, por el tiempo dedicado a este trabajo, su guía fue fundamental para finalizar este proyecto.

Inicie esta aventura con un pequeño grupo de chicas y chicos muy jóvenes, todos unos perfectos desconocidos y en el camino nos hemos convertido en grandes amigos, gracias Fátima, Mariela, Liliana, Daniel, Encinas e Iván, por todo el tiempo compartido y por el apoyo que siempre me dieron. En palabras de Mariela, les robe juventud. Gracias infinitas.

A mis hermanitas Dina, por apoyarme y motivarme siempre y a Cecilia que siempre me regañó por seguir estudiando.

CONTENIDO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABLAS.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii
INTRODUCCIÓN.....	13
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	15
Garbanzo (<i>Cicer arietinum</i> L.).....	15
Importancia y Distribución.	15
Características Botánicas y Clasificación	15
Producción de Garbanzo.....	16
Propiedades Nutricionales del Garbanzo.....	16
Almacenamiento del Garbanzo.....	18
Plaga del Garbanzo Almacenado.....	18
Genero <i>Callosobruchus</i>	18
Métodos de Control de Plagas de Insectos de Almacén.....	19
Métodos Químicos.....	19
Fosfina.....	19
Atmósferas Modificadas con CO ₂	20
Sorción de CO ₂ en el Grano de Garbanzo.....	22
Almacenamiento Hermético.....	23
HIPÓTESIS.....	24
OBJETIVOS.....	24
Objetivo General.....	25
Objetivos Específicos.....	25
MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
Almacenamiento de Garbanzo.....	26
Grano de Garbanzo.....	26
Bolsas Herméticas y Equipo de Monitoreo.....	26

	Página
Características Biológicas de la Semilla de Garbanzo.....	28
Prueba de Germinación.....	28
Prueba de Vigor.....	28
Atributos de Calidad del Grano de Garbanzo.....	28
Absorción de Agua.....	28
Tiempo de Cocción.....	29
Textura.....	29
Prueba de Color.....	29
Determinación de Sorción de CO ₂ y Presión Negativa	31
Sorción de CO ₂	31
Presión negativa.....	31
Evaluación de la Mortalidad y Fecundidad de <i>C. chinensis</i>	32
Cultivos del insecto <i>C. chinensis</i>	32
Evaluación de la Mortalidad de Huevos y Pupas de <i>C. chinensis</i>	32
Fecundidad	33
Diseño de Experimentos y Análisis Estadístico.....	33
Almacenamiento de Garbanzo y Pruebas de Calidad.....	33
Sorción y Presión Negativa.....	34
Porcentaje de Mortalidad de Huevos y Pupas.....	34
LT ₅₀ y LT ₉₅	34
Fecundidad.....	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
Almacenamiento de Garbanzo.....	36
Monitoreo de Temperatura y Humedad Relativa.....	36
Monitoreo de Gases en los Tratamientos de Almacenamiento.....	38
Características Biológicas en los Tratamientos de Almacenamiento.....	40
Prueba de Germinación.....	40
Prueba de Vigor.....	43
Atributos de Calidad del Grano de Garbanzo.....	45

	Página
Prueba de Color.....	45
Absorción de Agua.....	45
Textura.....	49
Determinación de Sorción de CO ₂ y Presión Negativa.....	49
Sorción de CO ₂	49
Presión Negativa.....	52
Evaluación de la Mortalidad de <i>C. chinensis</i>	54
Mortalidad de Huevos y Pupas.....	55
Fecundidad.....	60
CONCLUSIONES.....	64
RECOMENDACIONES.....	66
REFERENCIAS.....	67

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	Página
1 Producción mundial de garbanzo en los últimos 10 años.....	19
2 Temperatura y humedad relativa en la bodega de almacenamiento comercial y en los tratamientos de almacenamiento probados BHCO ₂ (Bolsa hermética/CO ₂), BHBG (Bolsa Biogenerador), CHBG (Costal Biogenerador) y CPP (Costal de Polipropileno), de octubre 2017 a abril 2018. Datos representados como media de 3 repeticiones ± desviación estándar	40
3 Porcentaje de germinación de las semillas almacenadas de octubre de 2017 a abril de 2018, en los diferentes tratamientos de almacenamiento. Datos representados como media de 4 repeticiones ± desviación estándar. Medias con diferente letra minúscula son significativamente diferentes ($p < 0.05$) entre los diferentes tratamientos. Medias con igual letra mayúscula (eje de las X) no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) entre los tratamientos de almacenamiento. El tiempo de muestreo con * indica diferencia significativa ($p < 0.05$).....	44
4 Peso, plúmula, radícula y número de raicillas (vigor) en la germinación de garbanzo almacenado en los meses de octubre de 2017 a abril de 2018. Datos representados como media de 4 repeticiones ± desviación estándar. Medias con diferente letra minúscula son significativamente diferentes ($p < 0.05$) entre los diferentes tratamientos. Medias con igual letra mayúscula (en el eje X) no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) entre los tratamientos de almacenamiento.....	47
5 Absorción de agua (%) del garbanzo almacenado seis meses en diferentes tratamientos de almacenamiento. Datos representados como media de 3 repeticiones ± desviación estándar. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$)	51
6 Textura del garbanzo (Kgf) almacenado seis meses en diferentes tratamientos de almacenamiento. Datos representados como media de 3 repeticiones ± desviación estándar. Medias con igual letra mayúscula no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).....	53
7 Cambios en el contenido de CO ₂ dentro de los envases de plástico sellados durante la exposición de huevecillo (a) y pupas (b) a dos atmósferas modificadas y diferentes proporciones de llenado de garbanzos y tiempo de exposición. Datos representados como media de 3 repeticiones ± error estándar.....	54
8 Respuesta de mortalidad para huevos expuestos a dos atmósferas modificadas diferentes (a: 50% CO ₂ ; b: 90% CO ₂) en paquetes de garbanzos con dos proporciones de llenado (1 y 96%) de 6 h a 120 h de exposición. Datos representados como media de 3 repeticiones.....	58

9	<p>Respuesta de mortalidad para pupas expuestas a dos atmósferas modificadas diferentes (a: 50% CO₂; b: 90% CO₂) en paquetes de garbanzos con dos proporciones de llenado (1 y 96%) de 6 h a 120 h de exposición. Datos representados como media de 3 repeticiones</p>	59
10	<p>Número de huevos ovipositados por las hembras que emergieron de huevos tratados con 50% (a, b) o 90% de CO₂ (c, d) y con una proporción de llenado del 1% (a, c) o 96% (b, d). El Boxplot representa la media (círculo sólido), la mediana (línea sólida), el rango intercuartílico (longitud de la caja) y los valores mínimo y máximo (bigotes). Datos representados como media de 3 repeticiones. Sin diferencias significativas debido a los tiempos de exposición, las concentraciones iniciales de CO₂ o las proporciones de llenado ($F = 1.3577$; $df = 19.76$; $p = 0.1747$).....</p>	64
11	<p>Número de huevos ovipositados por las hembras que emergieron de pupas tratadas con 50% (a, b) o 90% de CO₂ (c, d) y con una proporción de llenado del 1% (a, c) o 96% (b, d). El Boxplot representa la media (círculo sólido), la mediana (línea sólida), el rango intercuartílico (longitud de la caja) y los valores mínimo y máximo (bigotes). Datos representados como media de 3 repeticiones. Significativamente diferente para los tratamientos ($F = 4.4974$; $df = 15.68$; $p < 0.0001$).....</p>	65

LISTA DE TABLAS

TABLA	Página
1 Taxonomía del garbanzo.....	17
2 Composición nutricional del garbanzo.....	20
3 Especificaciones de bolsas herméticas y costales usados para el almacenamiento de garbanzo	30
4 Valores de Delta E y su relación con la calidad.....	33
5 Concentración de CO ₂ y O ₂ en los tratamientos de almacenamiento de garbanzo de octubre de 2017 a abril de 2018. Media de 2 repeticiones ± la desviación estándar.....	42
6 Resultados de la prueba de color (ΔE) en garbanzo expuesto a diferentes tratamientos de almacenamiento de octubre de 2017 a abril de 2018. Dato representado como media de 3 repeticiones ± desviación estándar. Medias con diferente letra son significativamente diferentes ($p<0.05$).....	49
7 Sorción de CO ₂ y presión negativa dentro de los envases con dos proporciones de llenado de garbanzos, después de aplicar dos atmósferas modificadas durante 48 h. Dato representado como media de 3 repeticiones. Valores con diferente letra son significativamente diferentes ($p<0.05$).....	56
8 Análisis de Probit para la toxicidad de dos atmósferas modificadas (50 y 90% CO ₂) con dos proporciones de llenado (1 y 96%) en huevos de <i>C. chinensis</i> . Valores con diferente letra son significativamente diferentes ($p<0.05$).....	60
9 Análisis de Probit para la toxicidad de dos atmósferas modificadas (50 y 90% de CO ₂) aplicados a dos proporciones de llenado del envase (1 y 96%) en pupas de <i>C. chinensis</i> . Valores con diferente letra son significativamente diferentes ($p<0.05$).....	61

RESUMEN

En México, en el almacenamiento de garbanzo se utilizan costales de polipropileno los cuales son una barrera de fácil de penetración por plagas de insectos como *Callosobruchus chinensis*. Para su control, se aplica fosfina, la cuál deja residuos tóxicos en el grano y genera resistencia en los insectos, diversos estudios han mostrado la eficacia de las atmósferas modificadas (AM) en el control de insectos, sin los efectos indeseables de la fosfina. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue: evaluar cuatro sistemas de almacenamiento de garbanzo en una bodega comercial, relacionándolos con los atributos de calidad física y biológica del grano y valorar la eficiencia de control de las atmósferas modificadas en el insecto *C. chinensis*. El garbanzo se almacenó seis meses en bolsas herméticas P25RZ, GSbag-1 y sacos de polipropileno, muestreando cada dos meses. Para evaluar el efecto del CO₂ sobre el insecto, huevos de 1 día y pupas de 21 días de edad, se expusieron a 50% y 90% de CO₂, en dos proporciones de llenado con garbanzos (96% y 1%) y diferentes tiempos de exposición. Se determinó la sorción del gas en el grano y la presión negativa generada. Además, se evaluaron la mortalidad y la fecundidad de las hembras emergidas de los tratamientos. Los resultados mostraron que los tratamientos biogenerador y con CO₂ fueron efectivos para conservar la calidad física y biológica del garbanzo almacenado. La mortalidad de *C. chinensis* aumentó con el tiempo de exposición y la concentración inicial de CO₂. La fecundidad se redujo significativamente en las hembras que emergieron de las pupas después de 48 h de exposición al tratamiento. En los envases con 90% de CO₂ y 96% se generó la mayor presión negativa.

ABSTRACT

In Mexico, polypropylene sacks are used in the storage of chickpeas which are an easy barrier to penetration by insect pests such as *Callosobruchus chinensis*. For its control, phosphine is applied, which leaves toxic residues in the grain and generates resistance in insects, several studies have shown the effectiveness of modified atmospheres (AM) in the control of insects, without the undesirable effects of phosphine. Therefore, the objective of this work was: to value four chickpea storage systems in a commercial winery, relating them to the attributes of physical and biological quality of the grain and to assess the control efficiency of the modified atmospheres in insect *C. chinensis*. The chickpea was stored for six months in airtight bags P25RZ, GSbag-1 and polypropylene bags, sample every two months. To assess the effect of CO₂ on the insect, 1-day-old eggs and 21-day-old pupae were exposed to 50% and 90% CO₂, in two chickpea filling ratios (96% and 1%) and different exposure times. The sorption of the gas in the grain and the negative pressure generated were determined. In addition, the mortality and fecundity of the females emerged from the treatments were evaluated. The results showed that biogenerator and CO₂ treatments were effective in preserving the physical and biological quality of the stored chickpea. Mortality from *C. chinensis* increased with exposure time and initial CO₂ concentration. Fertility was significantly reduced in females who emerged from pupae after 48 h of exposure to treatment. In containers with 90% CO₂ and 96% chickpea filling ratio, a higher negative pressure was generated.

ZUSAMMENFASSUNG

In Mexiko werden Polypropylen säcke zur Lagerung von Kichererbsen verwendet, die leicht von Insekten wie *Callosobruchus chinensis* durchdrungen werden können. Zur Schädlingsbekämpfung wird Phosphin eingesetzt, das giftige Rückstände im Getreide hinterlässt und bei Insekten Resistenzen erzeugt. Mehrere Studien haben die Wirksamkeit von modifizierten Atmosphären (AM) zur Schädlingsbekämpfung ohne die unerwünschten Wirkungen von Phosphin gezeigt. Ziel dieser Arbeit war es daher, vier verschiedene Kichererbsen-Lagersysteme in einem gewerblichen Lagerhaus zu bewerten, auf die Eigenschaften der physikalischen und biologischen Qualität des Getreides zu beziehen und die Wirksamkeit der modifizierten Atmosphären gegen das Insekt *C. chinensis* zu bewerten. Die Kichererbsen wurde sechs Monate in luftdichten Beuteln P25RZ, GSbag-1 und Polypropylen säcken gelagert, wobei alle zwei Monate Proben genommen wurden. Um die Wirkung von CO₂ gegen *C. chinensis* zu bewerten, wurden 1 Tag alte Eier und 21 Tage alte Puppen 50 % und 90 % CO₂ ausgesetzt, mit unterschiedlichem Kichererbsen füll volumen (96 % und 1 %) sowie unterschiedlichen Belichtungszeiten. Die Sorption des Gases im Korn und der erzeugte Druckverlust wurden bestimmt. Darüber hinaus wurden die Sterblichkeit und Fruchtbarkeit der aus den Behandlungen hervorgegangenen Weibchen bewertet. Die Ergebnisse zeigten, dass die luftdichten Beutel zusammen mit dem CO₂ die physikalische und biologische Qualität der gelagerten Kichererbse wirksam erhalten. Die Sterblichkeit durch *C. chinensis* nahm mit der Expositionszeit und der anfänglichen CO₂-Konzentration zu. Die Fertilität war bei Weibchen, die nach 48-stündiger Behandlung aus der Puppe geschlüpft waren, signifikant reduziert. In Behältern mit 90 % CO₂ und 96 % Kichererbsen-Füllanteil wurde der höchste Druckverlust erzeugt.

RÉSUMÉ

Au Mexique, des sacs en polypropylène sont utilisés pour le stockage des pois chiches, qui constituent une barrière facilitant la pénétration des insectes nuisibles tels que *Callosobruchus chinensis*. Pour son contrôle, la phosphine est appliquée, qui laisse des résidus toxiques dans le grain et génère une résistance chez les insectes. Diverses études ont montré l'efficacité des atmosphères modifiées (AM) dans le contrôle des insectes, sans les effets indésirables de la phosphine. Par conséquent, l'objectif de ce travail était : d'évaluer quatre systèmes de stockage de pois chiches dans une cave commerciale, en les mettant en relation avec les attributs de qualité physique et biologique du grain et d'évaluer l'efficacité de contrôle des atmosphères modifiées chez l'insecte *C. chinensis*. Le pois chiche a été stocké pendant six mois dans des sacs hermétiques P25RZ, GSbag-1 et des sacs en polypropylène, avec un échantillonnage tous les deux mois. Pour évaluer l'effet du CO₂ sur l'insecte, des œufs de 1 jour et des pupes de 21 jours ont été exposés à 50 % et 90 % de CO₂, dans deux proportions de remplissage avec des pois chiches (96 % et 1 %) et à des moments différents d'exposition. La sorption de gaz dans le grain et la pression négative générée ont été déterminées. De plus, la mortalité et la fertilité des femelles issues des traitements ont été évaluées. Les résultats ont montré que les traitements biogénératifs et au CO₂ étaient efficaces pour préserver la qualité physique et biologique du pois chiche stocké. La mortalité de *C. chinensis* augmentait avec le temps d'exposition et la concentration initiale de CO₂. La fertilité a été significativement réduite chez les femelles qui ont émergé des pupes après 48 h d'exposition au traitement. Dans les conteneurs avec 90 % de CO₂ et 96 %, la pression négative la plus élevée a été générée.

INTRODUCCIÓN

El garbanzo es la tercera leguminosa más consumida en el mundo y se considera una excelente fuente de proteína vegetal, además de aportar carbohidratos, minerales y compuestos fenólicos, entre otros (FAO, 2018). En México, el Estado de Sonora destaca como el segundo productor nacional de garbanzo, destinándose principalmente a exportación (SIAP, 2020). Actualmente, el almacenamiento se realiza en costales de polipropileno, el cual es de fácil penetración por insectos, principalmente del género *Callosobruchus spp* (SAGARPA, 2011; Andrade et al., 2016) Para intentar prevenir la presencia de esta plaga, el garbanzo es fumigado mensualmente con fosfina (Guerra et al., 2008), lo que favorece la acumulación de residuos sobre el grano debido a su uso repetitivo, provoca en los insectos resistencia que disminuye la eficacia del tratamiento (Flora et al., 2006; Navarro, 2012). Además, la fosfina es muy tóxica lo que implica una alta peligrosidad para el personal que trabaja en los almacenes. Lo anterior, a provocado la búsqueda y desarrollo de nuevas tecnologías de almacenamiento, dentro de las cuales está el almacenamiento hermético con atmósfera modificada (AM) con CO₂, cuya implementación se está extendiendo en todo el mundo por sus múltiples beneficios como son, preservar la calidad y prolongar su vida útil de los productos, no dejan residuos y no favorecen la resistencia en los insectos (Longstaff, 1994; Navarro, 2012).

En los sistemas herméticos donde se aplica el CO₂ este se adsorbe dentro del grano a través de los poros de su superficie, primero se da una adsorción física que involucra fuerzas de Van der Waals y finalmente otra donde hay transferencia de electrones llamada quimisorción (Navarro, 1997). La cantidad y velocidad de adsorción está en relación con los componentes de los granos. En otras legumbres como la soya se adsorbe rápidamente por su alto contenido de aceites y en las proteínas se une al grupo amino formando carbamatos. El CO₂ se libera y sale del interior del grano al perderse la herméticidad. En los contenedores donde se aplican las atmósferas modificadas puede perderse la hermeticidad como consecuencia de la presión negativa que se genera por la adsorción de CO₂ de los granos (Mitsuda, 1973).

Respecto al modo de acción de las atmósferas modificadas sobre el control de las plagas, cuando los insectos son expuestos al CO₂, éste penetra a través de sus espiráculos produciendo una hipercapnia y afectando su sistema nervioso central, por lo que deja de moverse y alimentarse para finalmente morir por desecación (Navarro, 2012). Cada especie y estadio muestra diferente sensibilidad o tolerancia a diferentes concentraciones de CO₂, que se relaciona con su actividad respiratoria (Riudavets et al., 2016). En diversos estudios se ha mostrado que los huevos son más sensibles y las pupas más resistentes, aun cuando ambas tienen baja actividad respiratoria (Wong-Corral et al., 2013; Iturralde-García et al., 2016).

Con base a lo anterior, se busca ofrecer nuevas alternativas de almacenamiento de garbanzo al método tradicional, que reduzcan el uso frecuente de plaguicidas por sus consecuencias en la salud y resistencia de los insectos. El uso de nuevas tecnologías como son los almacenes herméticos en combinación con atmósferas modificadas, han demostrado ser eficaces en el control de plagas con la ventaja de mantener la calidad y valor de los granos y/o productos almacenados.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Garbanzo (*Cicer arietinum* L.)

El cultivo del garbanzo fue una de las primeras leguminosas domesticadas en el viejo mundo. Evidencias arqueológicas indican que ya se utilizaba como alimento y como ofrenda desde antes de la era cristiana (Morales-Gómez et al., 2004). Su origen se localiza en el Suroeste de Turquía y Siria. Desde allí se extendió muy pronto hacia Europa, especialmente por la región mediterránea y más tarde a África, por Etiopía (Sali et al., 2016).

Importancia y Distribución

Se le considera el cultivo ideal, ya que apoya 3 objetivos de desarrollo fundamentales: disminuir la pobreza, mejorar la nutrición y salud humana y por último estimular la resiliencia de los ecosistemas (Akidobe and Maredia, 2011). El garbanzo se cultiva en muchas partes del mundo por ser una fuente importante de alimento humano y animal, ya que posee un alto valor nutritivo (FAO, 2018). Actualmente se encuentra ampliamente distribuido en climas áridos y semiáridos de más de 33 países en el mundo, incluyendo el oeste y sur Asia, Norte y Este de África, Sur de Europa, Norte y Sur de América y Australia y en regiones templadas, subtropicales y tropicales como cultivo de invierno (Anbessa et al., 2007; Neugschwandtner, et al., 2013). En el Noroeste de México su introducción data de principios del siglo XX, donde encontró una excelente adaptación (Morales-Gómez et al., 2004).

Características Botánicas y Clasificación

El garbanzo pertenece a la familia *Fabaceae* (Tabla 1), es una planta anual, con raíces profundas, tallos pelosos y ramificados que alcanzan una altura de hasta 0.60 m. La planta tiene abundancia de glándulas excretoras; las hojas son paripinnadas o imparipinnadas; folios de borde dentado; flores axilares solitarias; frutos en vaina bivalva con una o dos semillas en su interior, ligeramente arrugadas, con dos grandes cotiledones (Morales-Gómez et al., 2004).

Tabla 1. Taxonomía del garbanzo

Familia	Fabaceae
Género	<i>Cicer</i>
Especie	<i>C. arietinum</i>
Nombre científico	<i>Cicer arietinum</i>
Nombre común	Garbanzo

Las semillas de garbanzo varían en tamaño, forma y color (Singh et al., 1991). Basándose en esta variación, el garbanzo se clasifica en 2 tipos de semillas: Kabuli y Desi. La semilla de tipo Kabuli tiene una semilla fina de color blanco a crema y el peso de 100 semillas va de 28 a 70 g. La semilla de garbanzo tipo Desi tiene una piel más gruesa e irregular que va del color café a negro y el peso de 100 semillas es de 28 g (Nizakat et al., 2007).

Producción de Garbanzo

Según estadísticas de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura a nivel mundial el garbanzo ocupa el segundo lugar en producción, después del frijol. Su producción ha aumentado en los últimos años (Figura 1), alcanzando una producción de 15 mil millones de toneladas (FAOSTAT, 2020). En México, su cultivo ocupa el segundo lugar de la producción de leguminosas después del frijol con 126 mil toneladas. A nivel nacional, Sonora es uno de los principales Estados productores de garbanzo de la variedad Kabuli, ocupando el segundo lugar después de Sinaloa, con una aportación de 22 mil toneladas (SIAP, 2020).

Propiedades Nutricionales del Garbanzo

El garbanzo es una fuente importante de proteína, carbohidratos, minerales, ácidos grasos, compuestos fenólicos y minerales (Tabla 2), reconociéndose principalmente como la mejor fuente de proteína vegetal (Geil y Anderson 1994; Goni et al., 2003), también contienen compuestos bioactivos, tales como inhibidores de proteasas y amilasas, lectinas, saponinas, ácido fítico y compuestos fenólicos (Yixiang et al., 2014). El contenido de polifenoles de los vegetales varía, por ejemplo en cereales y leguminosas los principales son los flavonoides, ácidos fenólicos y taninos. Los compuestos fenólicos son de considerable importancia en la fisiología de las plantas ya que juegan un papel muy importante en su crecimiento y reproducción, contribuyen a su pigmentación, proporcionan protección contra patógenos y depredadores y además son importantes en las características sensoriales de las semillas (Bravo, 1998., Balasundram et al, 2006).

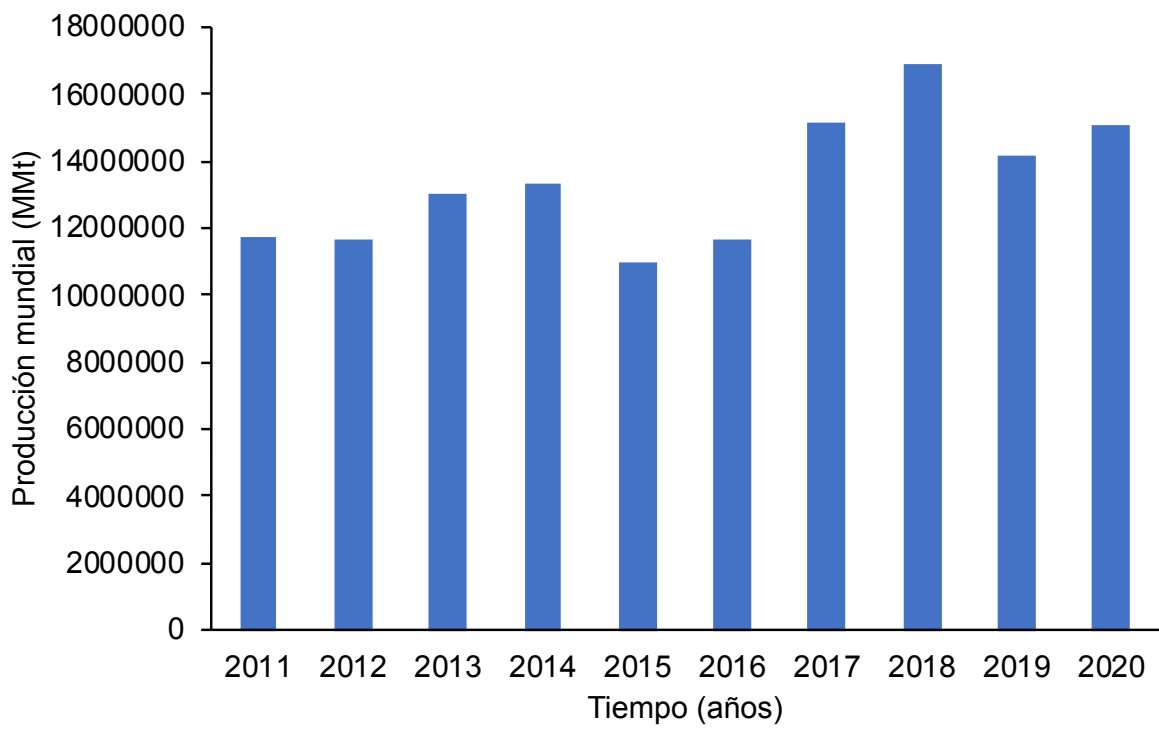


Fig. 1. Producción mundial de garbanzo en los últimos diez años

Tabla 2. Composición nutricional del garbanzo

Composición	(%)	Principales compuestos
Proteína	19-27	Globulina, glutelina
Carbohidratos	52-71	Almidón y fibra dietaría insolubl
Minerales	1.8-3.5	K, P, Mg y Ca
Vitaminas	453 µg/100 g	Tiamina
	1,602-3,900 µg/100 g	Niacina
Ácidos grasos	2-7	Linoleico (57 %), Oleico (25%)
Compuestos fenólicos	106 µg/100 g	Ácido ferúlico,
	7-10 µg/100 g	Ácido cumárico
	108-175 µg/100 g	Ácido clorogénico

Hall et al (2017)

Almacenamiento del Garbanzo

Debido a los volúmenes tan grandes de garbanzo cosechado es necesario recurrir a su almacenamiento, que, por lo general, dura desde uno hasta varios años. El principio de un buen almacenamiento y conservación de granos y semillas es el empleo de bodegas secas, limpias y libres de plagas; donde se almacenen granos o semillas secas, enteras, sanas y sin impurezas, con el objetivo de cuidar su calidad nutritiva, así como el valor comercial de granos y semillas (Subramanyam y Hagstrum, 2000). En México, uno de los métodos de almacenamiento de mayor uso para granos y semillas son los sacos, estos pueden ser de yute, henequén, fibras locales o sintéticas. Tienen poca duración, su manipulación es lenta y no proporcionan buena protección contra la humedad, insectos y roedores. Los sacos rotos ocasionan pérdidas del producto almacenado y facilita la infestación por plagas (SAGARPA, 2011).

Plaga del Garbanzo Almacenado

Genero *Callosobruchus*

El garbanzo almacenado es atacado principalmente por los insectos de la familia Bruchidae, *Callosobruchus maculatus*, *Callosobruchus chinensis* y *Callosobruchus analis*. El insecto del género *Callosobruchus* es una plaga cosmopolita, que se desarrolla en zonas tropicales, subtropicales y templadas, originario del continente africano (USDA, 2004); donde al igual que en Brasil ha sido reportado como la principal plaga que ataca el frijol y el garbanzo almacenado (Ofuya y Reichmuth, 1992; Andrade et al., 2016).

Este insecto es una plaga de tipo primario que se alimenta principalmente de semillas de leguminosas durante su etapa larvaria (Yan Yan et al., 2016). La larva al emerger perfora la base del huevecillo y a través de la testa de la semilla llegan hasta los cotiledones. Los adultos no se alimentan del grano, son de vida corta, no más de 12 días y durante ese tiempo las hembras pueden ovipositar más de 115 huevecillos, los cuales son adheridos fuertemente a la superficie del grano. Las condiciones óptimas de desarrollo son de 32 °C y 90 % humedad relativa. Mientras que la duración del ciclo biológico es de 25 a 36 días a 30 °C y humedad relativa del 55%, (Rentería, 1987). El

desarrollo del ciclo de vida de esta plaga produce pérdida de peso, afecta la germinación y disminuye el valor nutricional del grano (Ofuya y Reichmuth, 1992), perdiendo el valor de mercado, ya que no son aceptables para la elaboración de alimentos para consumo humano y no pueden ser utilizados como semillas para la siembra (Boeke et al., 2004).

Métodos de Control de Plagas de Insectos de Grano Almacenado

Métodos Químicos

Los fumigantes son compuestos químicos que producen un gas al estar a temperatura ambiente, éste se distribuye entre los espacios de los granos, eliminando a todos los insectos por la acción que ejerce en su sistema nervioso (Navarro, 2006). A este grupo pertenecen el bromuro de metilo y la fosfina, siendo los más efectivos para eliminar plagas de insectos y otros artrópodos de los granos almacenados (Pimentel et al., 2009).

Fosfina

La fosfina es un fumigante ampliamente usado para preservar granos y semillas almacenados libres del ataque de plagas de insectos (Guerra et al., 2008). En México y específicamente en Sonora y Sinaloa las practicas usadas por los almacenistas, para el control de plagas de las leguminosas durante el tiempo de almacenamiento es fumigar con fosfuro de hidrógeno (PH_3) a intervalos de 25 a 30 días durante el tiempo de almacenamiento (Morales-Gómez et al., 2004). Estos intervalos de fumigación tan cortos se basan en que el ciclo de vida del insecto es de 25 a 30 días aproximadamente (INIFAP, 2004). Algunos autores refieren que esta práctica consecuentemente causa acumulación de residuos químicos en el grano y favorece la aparición de resistencia de las plagas a los insecticidas (Flora et al., 2006). Navarro (2012) refiere que en la última década algunos insectos han desarrollado resistencia a la fosfina.

Los síntomas más comunes por la exposición de los insectos a la fosfina incluyen, un estado de agitación seguido de un letargo, disminución de la producción metabólica y

un aumento del estrés oxidativo (Shi et al., 2004; Bergquist et al., 2009). Diversos estudios han demostrado que los insectos al estar en contacto con la fosfina muestran una disminución en la actividad de la acetilcolina esterasa (Al-Hakkak et al., 1989), lo que favorece un incremento de la acetilcolina, el cual es un neurotransmisor excitador (Al-Azzawi et al., 1990; Potter et al., 1993). Por el lado metabólico, la fosfina inhibe la respiración en las mitocondrias de insectos (Jian et al., 2000), actuando principalmente en el complejo IV, citocromo c oxidasa afectando la cadena de transferencia de electrones (Nakakita et al., 1971). Por último, la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) y las especies reactivas de nitrógeno (ERN) favorecen el daño oxidativo de las macromoléculas biológicas y conducen a la muerte celular (Jezêk et al., 2010).

En los últimos años, la conservación de cereales y otros productos agrícolas en almacenamiento ha dependido en gran medida de insecticidas para controlar las plagas durante el tiempo de almacenamiento (Longstaff, 1994). Sin embargo, la tendencia actual es hacia métodos de control alternativos, no tóxicos y que no supongan ninguna amenaza a la salud del operador, del consumidor y que a su vez sean respetuosos con el medio ambiente como es el uso de atmósferas modificadas (Navarro, 2012).

Atmósferas Modificadas con CO₂

El uso de atmósferas modificadas (MA) es una de las alternativas más prometedoras al uso de los fumigantes químicos, ofrecen una alternativa segura al medio ambiente y no dejan residuos en los productos almacenados (Longstaff, 1994). El objetivo del almacenamiento hermético es lograr una composición de gases atmosféricos ricos en CO₂ y bajo en O₂ o una combinación de ambos por el tiempo de exposición necesario para controlar las plagas de almacenamiento y preservar la calidad de la mercancía (Navarro, 2012). El agotamiento de oxígeno y el enriquecimiento de dióxido de carbono de la atmósfera intergranular forman la base para la supresión y control de la

infestación de insectos en el almacenamiento hermético de grano seco (Donahaye et al., 1996).

Los insectos requieren oxígeno para vivir y tienen mecanismos de respuesta cuando hay variaciones en la composición de oxígeno de su entorno (Navarro, 2006). Una baja concentración de oxígeno tiene un efecto en su metabolismo y disponibilidad de agua metabólica, por lo que un entorno bajo en oxígeno provoca muerte por desecación de los insectos (Fraenkel y Blewett, 1944).

La eficacia de las atmósferas modificadas para el control de diferentes especies de insectos ha sido probada en el laboratorio y en condiciones industriales (Hoback y Stanley, 2001; Shazali et al., 2004; Conyers y Bell, 2007). Las atmósferas ricas en CO₂, con más del 40 % en el aire, son más rápidas en controlar las plagas que aquellas con altos contenidos de N₂ (Navarro, 2006).

El CO₂ es un gas inerte que tiene un efecto tóxico sobre las plagas de insectos ya que reduce el nivel de oxígeno por debajo del nivel necesario para soportar la vida. Los datos sobre los efectos de los diferentes tipos de tratamientos y dosificaciones de CO₂ sobre plagas clave están disponibles para muchas especies y estadios de plagas de productos almacenados bajo condiciones particulares (Riudavets et al., 2009). Los tratamientos con CO₂ pueden tardar de unos días a varias semanas en ser eficaces en cámaras o silos herméticos dependiendo de factores físicos como: temperatura, humedad relativa y presión parcial, así como la especie, el estadio y la edad del insecto (Navarro, 2012).

En un estudio de laboratorio, New y Rees (1988) demostraron la capacidad de tres diferentes tipos de empaque con atmósfera modificada (MAP) para controlar los escarabajos *Callosobruchus maculatus* (F.) escarabajos en caupí, *Tribolium castaneum* (Herbst) en harina de trigo y *Rhyzopertha dominica* (F.) sobre el trigo.

Aunque este método se ha establecido bien para el control de las plagas de almacenamiento, su uso comercial sigue estando limitado a unos pocos países, como Argentina, India y África (Navarro, 2012). Tienen un uso limitado pero constante en la industria agrícola y alimentaria para la protección y conservación de materia prima desde la cosecha hasta el producto final (Conyers y Bell, 2007).

Entre los métodos de aplicación de las AM, la bio-generación de la atmósfera a través de la respiración de plagas de insectos y microorganismos ha demostrado ser eficaz en la reducción del oxígeno (O₂) y el aumento de la concentración de dióxido de carbono (CO₂) en el espacio intergranular (Chidananda et al., 2014). Utilizando este proceso en el almacenamiento hermético, es posible detener el desarrollo de la plaga de insectos y minimizar el daño durante el almacenamiento (Navarro et al., 1993). Las mejoras en la tecnología de generación de gas también pueden reducir el costo de la generación de AM y junto con los experimentos de laboratorio para demostrar la efectividad de O₂ o altas concentraciones de CO₂ podrían conducir a un uso más generalizado de las MA en el futuro (Annis y Dowsett, 1993).

En situaciones en las que se requiere almacenamiento prolongado, el uso de atmósferas naturalmente modificadas producidas por la respiración de insectos o microorganismos en estructuras bien selladas y denominadas tradicionalmente como almacenamiento hermético, es una alternativa de gran potencial que se está reevaluando (Navarro et al., 1994)

Sorción de CO₂ en el Grano de Garbanzo

Los granos y semillas almacenados con AM en empaques herméticos tienden a adsorber CO₂. Este fenómeno se ha estudiado en arroz, trigo, maíz, cacahuate, ajonjolí, café, canola, garbanzos y algunos otros productos (Mitsuda et al., 1973; Jian et al., 2014; Iturralde et al., 2019).

La sorción de gas en el grano involucra dos partes, la primera es la adsorción física, en la cual se forma una capa de gas en el sólido por medio de las fuerzas de Van der Waals y en la segunda se da una transferencia de electrones entre la parte sólida y el gas (Navarro, 1997). La cantidad y velocidad de gas que se adsorbe varía entre los diferentes granos y esta influenciada por la temperatura y la humedad, así como por la disolución del CO₂ en diferentes componentes como el agua, grasas, aceites y proteínas (Mitsuda, 1973). Además, la porosidad y la superficie del grano juegan un papel fundamental en la adsorción (Navarro, 1997). Iturralde-García et al (2019) concluyen que la sorción del garbanzo empacado a diferentes concentraciones de CO₂ se incrementa en las atmósferas de mayor concentración inicial y recomiendan realizar

estudios para observar el efecto que tiene la disminución del gas después de la sorción en la mortalidad de los insectos.

Almacenamiento Hermético

Actualmente, se están desarrollando almacenamientos herméticos flexible, los cuales ofrecen alta resistencia a la entrada de plagas y al intercambio de gases (Murdock et al., 1997). El almacenamiento hermético esta siendo utilizado principalmente en África para almacenar maíz ya que son ideales para su uso en climas calientes y húmedos (Villers et al., 2006). Las ventajas que ofrecen estos sistemas de almacenamienro es que previenen pérdidas poscosecha, preservan la calidad de los productos y evitan el crecimiento de hongos y aflatoxinas, las cuales son perjudícales a la salud (Jonfia-Essien et al., 2010).

HIPÓTESIS

Las atmósferas modificadas preservan la calidad del grano y semilla del garbanzo durante el almacenamiento y afectan el ciclo de vida de *Callosobruchus chinensis* al aumentar el período de exposición, la concentración inicial de CO₂ y la proporción de llenado de los envases.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar cuatro sistemas de almacenamiento de garbanzo blanco orgánico, calidad de exportación en una bodega comercial, relacionándolos con los atributos de calidad física y biológica del grano y valorar la eficiencia de control de las atmósferas modificadas en el insecto *Callosobruchus chinensis*.

Objetivos Específicos

1. Evaluar cuatro sistemas de almacenamiento de garbanzo orgánico: uno con aplicación de atmósferas modificadas, dos biogeneradores de atmósferas y un método tradicional con costales de polipropileno en una bodega comercial en la Costa de Hermosillo, Sonora.
2. Determinar el efecto de los métodos de almacenamiento en las características biológicas de la semilla y los atributos de calidad del grano de garbanzo.
3. Evaluar la sorción y la presión negativa del garbanzo almacenado en dos proporciones de llenado y dos atmósferas modificadas con CO₂.
4. Determinar la mortalidad de huevos y pupas de *C. chinensis* en garbanzo envasado con dos atmósferas modificadas con CO₂ y dos proporciones de llenado.
5. Estimar la fecundidad de los adultos que sobreviven de los huevos y pupas tratados con dos atmósferas modificadas con CO₂ y diferentes proporciones de llenado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Almacenamiento de Garbanzo

Grano de Garbanzo

Se almacenó garbanzo blanco orgánico variedad Blanoro (*Cicer arietinum* L.) calidad de exportación, cosechado durante el ciclo agrícola 2017. Previo al almacenamiento se mantuvo en condiciones de refrigeración (4° C). El garbanzo almacenado no fue tratado de manera preventiva con ningún tipo de fumigante. La bodega comercial en donde se llevó a cabo el almacenamiento de garbanzo fue en la empresa ALIANZA, ubicada en Hermosillo en el kilómetro 17 de la salida a Bahía de Kino.

Bolsas Herméticas y Equipo de Monitoreo

Para el almacenamiento se usaron cuatro bolsas herméticas GrainSafe Bag-1 con capacidad de una tonelada y ocho costales herméticos Super Grainbag Premium 25RZ (CHBG) con capacidad de 25 kg y ocho costales de polipropileno (CPP) de 25 kg. Las características de las bolsas herméticas y costales se describen en la Tabla 3. En dos bolsas herméticas de una tonelada se adicionó CO₂ (BHCO₂) hasta una concentración del 85% y las otras dos se cerraron para generar su propia atmósfera (sistema biogenerador) (BHBG).

La temperatura y humedad relativa fue monitoreada diariamente en los seis meses del almacenamiento con el uso de Datalogger EL-USB-2 (LASCAR, Salisbury Inglaterra) y la concentración de gases se midió con un Viasensor G110 (QED, Dexter USA). El almacenamiento se llevó a cabo de octubre de 2017 a abril de 2018 y se tomaron muestras de garbanzo almacenado cada 2 meses usando una sonda de alveolos.

Tabla 3. Especificaciones de bolsas herméticas y costales usados para el almacenamiento de garbanzo.

Parámetros	Bolsa P25RZ¹	Costal GSBag-1¹	Costal (PP)²
Material	Polietileno ³	Cloruro de	Polipropileno
Sistema de cierre	Zipper	Zipper hermético	Costura/hilo
Espesor	0.078 mm	0.83 mm	
Color	Verde	Blanco	Blanco
Dimensión m (LBH)	50 x 80 cm	1,2A x 1,2L x	
Capacidad	25 kg	1 tonelada	25 kg
Peso embalado	200 g	13 kg	
Vida útil	2 años	15 años	
Velocidad de transmisión de Oxígeno (c ³ /m ² /día)	< 4	< 500	3000-3700
Velocidad de transmisión de vapor de agua	< 5	< 9	10-12

¹ GrainPro

² Ospina y Cartagena (2008)

³ Alta resistencia con capa de barrera

Características Biológicas de la Semilla de Garbanzo

Prueba de Germinación

La calidad de semilla se evaluó con la prueba de germinación en la cual se determinó el desarrollo de plántulas normales, anormales y semillas no germinadas, así como el vigor de las plántulas (ISTA, 2014).

Antes de la prueba de germinación, las semillas fueron desinfectadas, primero se lavaron con agua destilada y se remojaron 5 min en hipoclorito de sodio al 20%, se enjuagaron y se remojaron nuevamente 5 min más en agua con vinagre al 20%, se lavaron con agua destilada y se eliminó el exceso de agua en servilletas de papel estériles. La prueba de germinación se realizó siguiendo la metodología del International Seed Testing Association (ISTA, 2014). Se usaron 4 repeticiones de 50 semillas cada una y fueron incubadas en una germinadora (marca Cleland International Inc. Modelo 1000 FAAT, Estados Unidos), con condiciones controladas de 25 °C y 90 % de humedad relativa por 7 días. En esta prueba se identificaron semillas germinadas y no germinadas y plántulas con crecimiento normal y anormal.

Prueba de Vigor

El vigor se evaluó seleccionando al azar 5 plántulas de la prueba de germinación y a las cuales se les tomó el peso (g), tamaño de plúmula y raíz (cm) con vernier y se contó el número de raicillas (Iturralde-García et al., 2016).

Atributos de Calidad del Grano de Garbanzo

Se llevó a cabo un análisis de calidad comercial en el grano de garbanzo, mediante la determinación de los estándares de comercialización: absorción de agua, tiempo de cocción, textura y color.

Absorción de Agua

El tiempo óptimo de cocimiento se determinó con base a la metodología propuesta por Sotelo (1994). Se remojaron 10 g de garbanzo en 50 mL de agua (1:5) a temperatura ambiente. Se realizaron mediciones en intervalos de una hora y por triplicado. El porcentaje de absorción se determinó por diferencia de pesos entre el grano húmedo

y seco. Para elaborar las curvas de absorción, se graficó el tiempo de remojo (hr) contra absorción de agua (%) (Anduaga et al., 2002; Romero-Baranzini et al., 2016).

Tiempo de Cocción

Una vez determinada la capacidad de absorción de agua, 400 g de garbanzo remojado se cocinó en una estufa convencional con un máximo de flama. En una olla de aluminio con agua destilada en una relación grano hidratado: agua de 1:10. El garbanzo se cocinó a ebullición y cada 15 min se retiró una muestra de 90 g de garbanzo durante un tiempo de 2 horas para determinar textura (Anduaga et al., 2002; Romero-Baranzini et al., 2016).

Textura

La textura del grano cocido se evaluó por triplicado utilizando un Texturómetro Instron Universal (modelo 4465, Estados Unidos), se usó una celda de extrusión por alambres (WEC) diseñada en el Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos (DIPA). Las condiciones de trabajo del Instron fueron las siguientes: velocidad de cabezal de 5 cm/min, velocidad de carta de 5 cm/min y celda de carga de 500 kg, así como la escala de 200 kg para obtener una mejor resolución en la gráfica obtenida. Los resultados se expresaron en kilogramos fuerza (Kgf), necesarios para comprimir 25 g de garbanzo cocido a través del enrejado de la celda WEC (Anduaga et al., 2002).

Prueba de Color

La evaluación de color del garbanzo se realizó con un Reflectómetro (Konica Minolta modelo CR-10, Estados Unidos) de acuerdo a las especificaciones proporcionadas en el manual del equipo, en un análisis por triplicado. Los granos enteros se colocaron en un contenedor de 4 onzas de capacidad y se leyó su absorbancia con el equipo. La lectura arroja los valores de L (Luminosidad), a (espectro de verde a rojo) y b (espectro del amarillo a azul). Estos datos se usaron para calcular el ΔE , el cual es un indicador de la variación de color de las muestras respecto a la muestra control (Tabla 4) (Iturralde-García et al., 2016).

Tabla 4. Valores de Delta E y su relación con la calidad

Valores de ΔE	Calidad
0 - 1	Excelente
1 - 2	Buena
2 - 4	Normal
4 - 5	Suficiente
Superior a 5	Mala

Konica Minolta

Determinación de Sorción de CO₂ y Presión Negativa

Sorción de CO₂

La sorción se calculó usando la fórmula descrita por Jian et al. (2014)

$$S = (\rho_{\text{CO}_2} V_S) / M_{\text{garbanzo}}$$

Donde:

S = sorción de CO₂ (g)/masa de garbanzo(kg);

ρ_{CO_2} = 0.00182952176 g/mL densidad de CO₂. (Chang and College, 2002)

V_S = volúmen de CO₂ sorbido por garbanzo (mL)

M_{garbanzo} = Masa de garbanzo (kg).

Presión negativa

La presión negativa se calculó con la fórmula de Cofie-Agblor et al. (1995)

$$P_f = ((m R T) / (V_{\text{gas}} M_{\text{CO}_2})) - P_i$$

Donde:

P_f = presión final (kPa)

R = constante universal de gas (8.314472 L kPa/K mol)

T = temperatura (° K)

V_{gas} = gas disponible en el contener (L);

M_{CO₂} = masa molar del CO₂ (g/mol)

P_i = presión inicial (Kpa).

m = masa total de CO₂ sorbido (g)

Masa total de CO₂ sorbido (m):

$$m = S M_{\text{garbanzo}}$$

Evaluación de la Mortalidad de *C. chinensis*

Cultivos del Insecto *C. chinensis*

Para los medios de cultivos se utilizaron contenedores de plástico semirrígido (tereftalato de polietileno PET) de 710 mL de capacidad con 100 g de garbanzo y 100 adultos de *C. chinensis* por frasco, se incubaron por 24 h en cámaras de cría a una temperatura de 28 ± 2°C, humedad relativa de 70 ± 15% y fotoperiodos de 16:8 (luz: oscuridad).

Evaluación de la Mortalidad de Huevos y Pupas de *C. chinensis*

En huevecillos de 1 día y pupas de 21 días de edad se probó la mortalidad en envases de plástico semirrígido (PET) de 710 mL de capacidad, probando mezclas con concentraciones del 50% y 90 % de CO₂. Los tiempos de exposición fueron de 0, 6, 18, 24, 30, 48, 72 y 96 h y de 0, 6, 24, 48, 72 y 120 h para huevos y pupas respectivamente. Por cada tratamiento se usaron 5 granos de garbanzo infestados con 3 huevos o pupas. Se probaron dos proporciones de llenado de garbanzo, una al 96% (500 g de garbanzo) y otra al 1% (solo con los granos infestados).

Las tapaderas de los envases se sellaron con silicón caliente y se llenaron con la concentración de CO₂ correspondiente, utilizando una mezcladora de gases (Witt Km 100-3M/MEM, Witt Gasetechnik, Witten, Alemania). La concentración de gases en los envases se midió con un medidor de gases (OXYBABY[®], Witt Gasetechnik, Witten, Alemania), al alcanzar la concentración deseada los orificios se sellaron con silicón y los envases fueron colocados en cámaras de incubación a 28° C, humedad relativa de 70 ± 15% y fotoperiodos de 16:8 (luz: oscuridad). Al finalizar el tiempo de exposición se midió la concentración de gases y se retiró la bolsa con granos infestados. Los granos infestados se depositaron en cajas ventiladas y se incubaron a las condiciones descritas previamente para continuar el desarrollo del insecto y observar la mortalidad y emergencia de adultos de los huevos y pupas expuestos a las AM con CO₂ en diferentes tiempos y proporciones de llenado (Wong et al., 2013; Iturralde-García et al., 2019).

Fecundidad

Los adultos emergidos se depositaron en grano sano y se incubaron para permitir la oviposición hasta finalizar su ciclo de vida que es de aproximadamente 32 días. Ya muertos, se identificaron hembras y machos usando claves taxonómicas (USDA, 2004). Los huevos ovipositados se contaron para determinar la fecundidad de las hembras. Todos los experimentos fueron realizados por triplicado y con un control para observar la viabilidad de los huevecillos.

Diseño de Experimentos y Análisis Estadístico

Almacenamiento de Garbanzo y Pruebas de Calidad

Se utilizó un diseño de experimentos de parcelas divididas en bloques al azar (2 bloques), siendo los tratamientos las parcelas grandes y los muestreos la subparcela. Para realizar esta investigación se llevaron a cabo dos experimentos similares con bolsas herméticas y costales de diferentes tamaños.

Experimento 1:

2 Bolsas herméticas de una tonelada con CO₂ (BHCO₂)

2 Bolsas herméticas con tratamiento biogenerador (BHBG)

Experimento 2:

8 Costales herméticos de 25 kg (CHBG)

8 Costales de polipropileno (CPP)

Las variables respuesta en ambos experimentos fueron:

1. Porcentaje de germinación
2. Vigor (peso, tamaño de plúmula, radícula y número de raicillas de las semillas germinadas)
3. Color de los granos de garbanzo (a, b, L y Delta E)
4. Textura (absorción de agua, tiempo de cocción)

Los datos fueron procesados utilizando el paquete estadístico JMP versión 9.01 para Mac (SAS Institute Inc., N.C, U.S.A).

Se aplicó un ANOVA de dos vías y para discriminar entre tratamientos se utilizó la prueba de comparación de medias de Tukey a un nivel de significancia del 95% ($p < 0.05$). Los resultados se expresaron como medias \pm desviación estandar.

Sorción y Presión negativa

Se utilizó un análisis factorial de dos vías y el programa JMP8.

Porcentaje de Mortalidad de Huevos y Pupas

Se calculó usando el número inicial de individuos usados en cada tratamiento y analizado con un Análisis de Probit (Poloplus, LeOra Software).

LT₅₀ y LT₉₅

Para calcular el tiempo estimado de exposición (LT) para alcanzar el 50% y 95% de mortalidad se compararon los límites fiduciales con un intervalo del 95% de confiabilidad, para la relación de LT, que fue el criterio utilizado para identificar diferencias significativas en la mortalidad de huevos y pupas para diferentes proporciones de llenado y AM (Robertson et al., 2017).

Fecundidad

La fecundidad de hembras que emergieron de huevos y pupas se compararon mediante un ANOVA de tres vías:

Tiempo de exposición

Concentración de CO₂

Proporción de llenado se utilizaron como factores independientes.

El análisis estadístico se realizó utilizando JMP® 14.2.0 ([JMP, 2018](#)). Se utilizó un nivel de significancia del 5% ($p < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Almacenamiento de Garbanzo

Monitoreo de Temperatura y Humedad Relativa

La humedad del grano junto con la temperatura y humedad relativa son factores cruciales en el ecosistema del almacenamiento, un control adecuado de éstos permite alcanzar períodos de almacenamiento prolongados, con grano libre de plagas y hongos (Alagusundaram et al., 1990; Jayas, 2012). El monitoreo de la temperatura y humedad relativa se muestra en la Figura 2. La temperatura dentro de los tratamientos probados, muestra el mismo comportamiento de la temperatura dentro de la bodega. La humedad relativa dentro de las bolsas herméticas con CO₂ (BHCO₂), Biogenerador (BHBG) y costal Biogenerador (CHBG), se mantiene del inicio al final del almacenamiento en 49%. Estos resultados coinciden con los reportados por Mutungi et al (2014), en su estudio compararon las variaciones de la humedad relativa y la temperatura al almacenar dos tipos de frijol y observaron que la humedad relativa se mantiene constante dentro de las bolsas, relacionándola con la baja humedad del frijol y la baja permeabilidad de las bolsas, mientras que la temperatura varió en relación a las condiciones ambientales. Del mismo modo, coincide con los resultados reportados en trigo almacenado en sistemas herméticos y donde la humedad relativa se mantuvo sin cambios en los siete meses de almacenamiento (Scariot et al., 2018).

La humedad relativa de la bodega muestra una tendencia a la alza desde el inicio del almacenamiento en el mes de octubre, hasta el mes de febrero alcanzando 43%, para eventualmente descender hasta el 30% al concluir el almacenamiento en el mes de abril. Dicho incremento coincide con la presencia de lluvias, según los reportes de la CONAGUA (2018). Es de resaltar el comportamiento de la humedad relativa en los costales de polipropileno (CPP), inició el almacenamiento con 49% y finalizó con 30%,

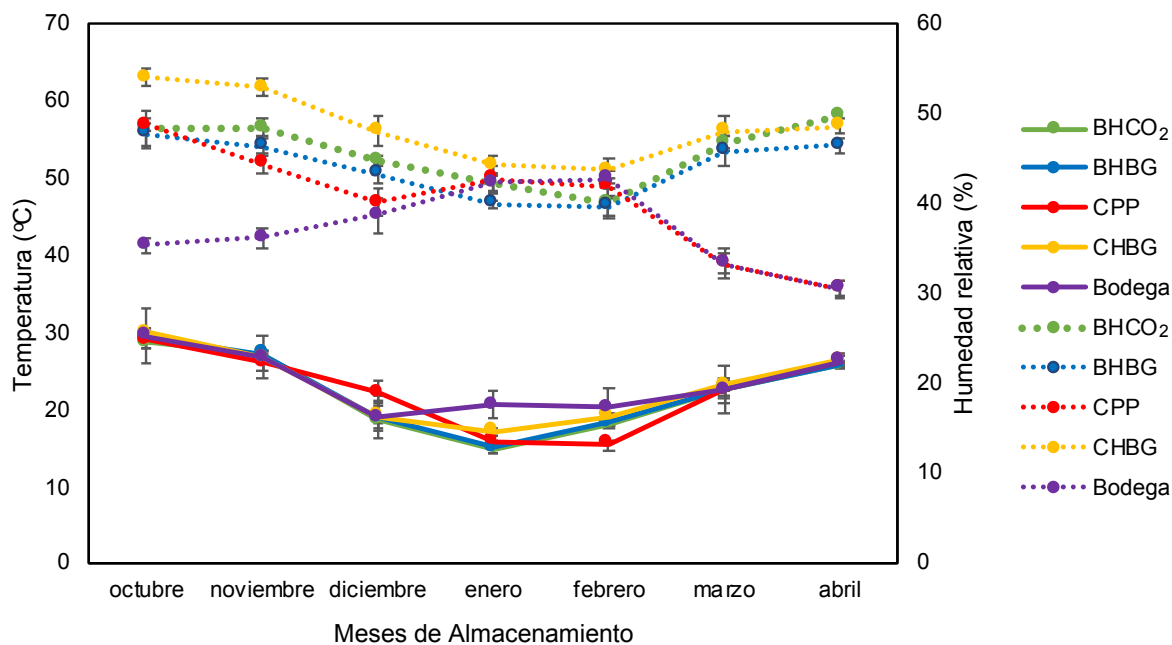


Figura 2. Temperatura y humedad relativa en la bodega de almacenamiento comercial y en los tratamientos de almacenamiento probados de octubre 2017 a abril 2018. Los datos representan la media de 3 repeticiones \pm desviación estándar.

Bolsa Hermética con CO₂ (línea verde), Bolsa Hermética Biogenerador (línea azul), Costal de Polipropileno (línea roja) Costal Hermético Biogenerador (línea amarilla) y Bodega (línea morada)

mostrando el mismo comportamiento que la humedad relativa de la bodega. En los granos de oleaginosas, cereales y otras especies, el contenido de humedad varía dependiendo de la temperatura y humedad relativa del medio ambiente (Díaz, 2005), aunado a que el polipropileno es un material con alta velocidad de transmisión de vapor de agua y una semibarrera a la intensidad relativa de vapor de agua (Ospina y Cartagena, 2008), lo cual permitió la difusión de humedad en ambos sentidos favoreciendo la pérdida de humedad del garbanzo dentro de los costales que se traduce en pérdida de peso del grano almacenado y por ende en pérdidas económicas para el almacenista (SAGARPA, 2011).

El garbanzo almacenado en los sacos de polipropileno fue fumigado mensualmente para prevenir la presencia de insectos, mientras que en las bolsas herméticas no se realizaron fumigaciones y no se detectó la presencia de insectos, por lo que el grano se mantuvo sano y sin daño en sus estructuras por la alimentación de insectos. Estas observaciones concuerdan con el trabajo de Aboagye et al (2017), al comparar el sistema hermético y no hermético en el almacenamiento de frijol. Ellos concluyeron que el almacenamiento hermético puede usarse como una alternativa segura al uso de fumigantes y reducir las pérdidas poscosecha, ya que no se encontraron insectos vivos al final de las 12 semanas con respecto a el 70% de infestación en el sistema no hermético.

Monitoreo de Gases en los Tratamientos de Almacenamiento

La lectura de concentración de gases inicial y final de cada tratamiento se muestra en la Tabla 5. En el tratamiento con CO₂ la concentración inicial fue de 85.6 ± 0.43% y 4.7 ± 0.11% de oxígeno para finalizar con 1.9 ± 0.5% y 20.2 ± 0.11% de CO₂ y O₂, respectivamente. Los tratamientos herméticos biogeneradores mostraron ligeros incrementos en la concentración final de CO₂. En las bolsas (BHBG) la concentración fue de 0.1 a 4.5 ± 0.2% y en los costales herméticos (CHBG) de 0.7% ± 0.05. Por último, los costales de polipropileno no mostraron variaciones importantes en su composición de gases del inicio al final del almacenamiento. Esto coincide con los resultados de Alemayehu et al (2020) quienes al almacenar garbanzo en costales de

Tabla 5. Concentración de CO₂ y O₂ en los tratamientos de almacenamiento del garbanzo de octubre de 2017 a abril de 2018.

Tratamientos	concentración inicial		concentración final	
	CO ₂	O ₂	CO ₂	O ₂
¹ BHCO ₂	85.6 ± 0.43	4.7 ± 0.11	1.9 ± 0.51	20.2 ± 0.11
² BHBG	0.1 ± 0.00	21.4 ± 0.15	4.5 ± 0.20	20.3 ± 0.11
³ CPP	0.1 ± 0.00	20.3 ± 0.83	0.13 ± 0.05	20.7 ± 0.28
⁴ CHBG	0.1 ± 0.00	21 ± 0.61	0.7 ± 0.05	19.5 ± .05

Medias de 2 repeticiones (± ds)

¹ Bolsa Hermética con CO₂ ² Bolsa Hermética Biogenerador

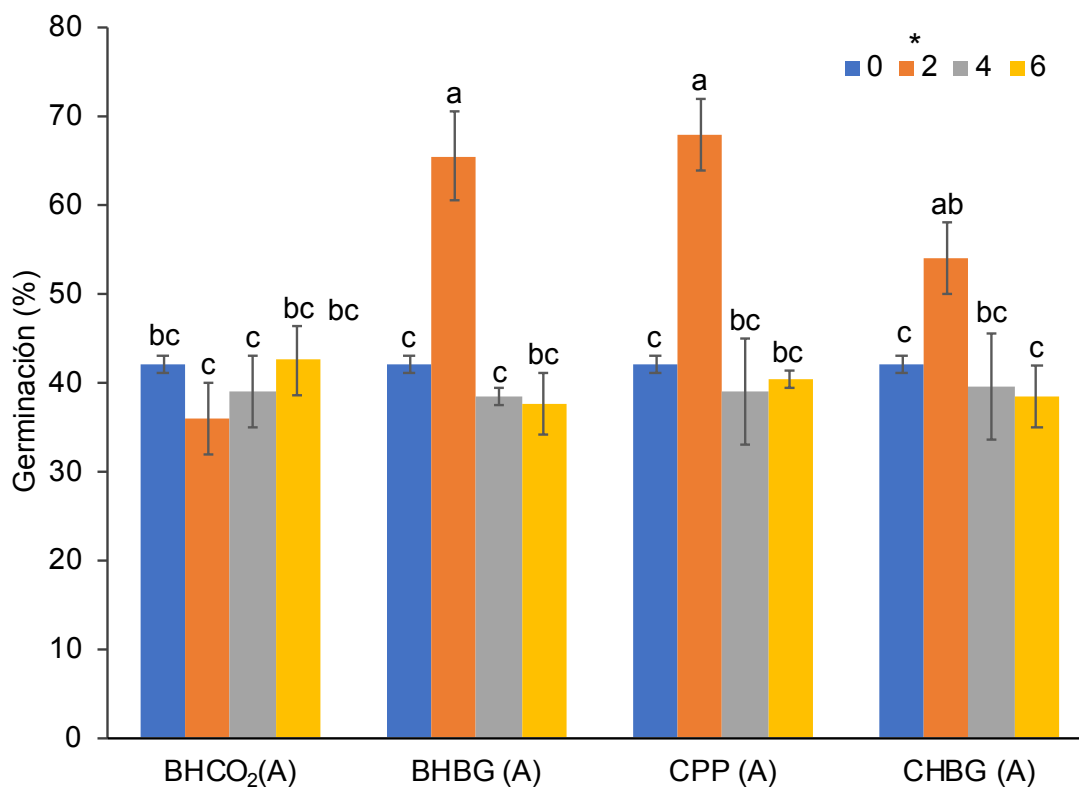
³ Costal de Polipropileno ⁴ Costal Hermético Biogenerador

polipropileno no observaron variaciones en la concentración de oxígeno y de CO₂, entre el inicio y final del almacenamiento. En su trabajo también probaron las bolsas de GrainPro y sus resultados difieren con los de esta investigación, ya que al finalizar los seis meses de almacenamiento obtuvieron concentraciones de oxígeno por abajo del 10% y a su vez incrementos de CO₂ del 17%. En este trabajo utilizaron bolsas con 50 kilos de garbanzo y las bolsas las abrieron a los seis meses, mientras que en el presente estudio por el volumen de muestra las bolsas se tenían que abrir cada dos meses para tomar las muestras de garbanzo y se volvían a cerrar, lo cual rompía la hermeticidad y facilitaba la fuga de gases y no permitió cuantificar que tanto se podría modificar la atmósfera con la respiración del garbanzo dentro de las bolsas. Aunado a esto y en concordancia con Moreno-Martínez (2000) en el almacenamiento hermético la caída en la concentración de oxígeno y el aumento del CO₂ están influenciados por la presencia y tipo de insectos, hongos, así como del tipo de grano y la humedad de almacenamiento.

Características Biológicas de la Semilla de Garbanzo

Prueba de Germinación

Con el proceso de imbibición da inicio la germinación de una semilla seca y en el caso de las dicotiledónias, como lo es el garbanzo, este finaliza cuando el eje embrionario emerge de las estructuras que lo protegen (Matilla, 2008). Los resultados de germinación se muestran en la Figura 3. La germinación control (mes de octubre) fue del 46%, esto puede estar relacionado con el hecho de que el garbanzo antes de iniciar el almacenamiento estaba almacenado en condiciones de refrigeración (4° C), la cual baja la tasa de respiración de las semillas, reduce las reacciones bioquímicas y metabólicas necesarias para el desarrollo de una nueva plántula (Wagner et al., 2012). La pérdida de la dormición de las semillas, no se conoce a detalle, sin embargo, esta relacionada con la presencia del ácido abscísico (ABA). Las temperaturas bajas favorecen la salida de ABA, que produce la señal de dormición de la semilla, mientras que en las altas temperaturas durante el almacenamiento hay una degradación de ABA, se pierde la dormición de las semillas y se favorece la germinación (Matilla, 2008).



Tratamientos de Almacenamiento

Figura 3. Porcentaje de germinación de las semillas almacenadas de octubre de 2017 a abril de 2018, en los diferentes tratamientos de almacenamiento. Datos representados como Media de 4 repeticiones \pm ds. Medias con diferente letra minúscula son significativamente diferentes ($p < 0.05$) entre los diferentes tratamientos. Medias con igual letra mayúscula (en el eje X) no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) entre los tratamientos de almacenamiento. El tiempo de muestreo con * indica diferencia significativa ($p < 0.05$).

BHCO₂ (Bolsa Hermética con CO₂), BHBG (Bolsa Hermética Biogenerador), CPP (Costal de Polipropileno) y CHBG (Costal Hermético Biogenerador).

En el mes de diciembre, el aumento en la germinación de los tratamientos BHBG, CPP y CHBG es significativamente diferente con respecto al control. De octubre a diciembre la temperatura de la bodega y los tratamientos de almacenamiento se mantuvo entre los 30 y 20 °C respectivamente, además se registró un incremento de la humedad relativa. Estas condiciones en conjunto pudieron favorecer las reacciones metabólicas como son la respiración, la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, en conjunto con la hidratación de las semillas, en la cual se da la hidrólisis de fitohormonas conjugadas a libres promoviendo el aumento de la germinación.

La germinación del garbanzo almacenado en el tratamiento de BHCO₂ durante los seis meses de almacenamiento, no mostró diferencias significativas con el control, manteniéndose en un rango del 40%. Freitas et al (2016) y Rodríguez et al (2010) coinciden que el CO₂ frena la actividad respiratoria y reduce la actividad metabólica de las semillas, protegiéndolas del envejecimiento durante el almacenamiento por períodos de hasta 160 días. Además, el resultado coincide con lo reportado por Iturralde-García et al (2016), los cuales observaron que el porcentaje de germinación del garbanzo se mantuvo al ser expuesto al 70% de CO₂ por un tiempo de 120 h. Por otra parte, en los meses de febrero a abril el porcentaje de germinación decae hasta un rango del 40%, en los tratamientos BBG, CPP y CHBG. Estos resultados son consistentes con otras investigaciones en las cuales, el almacenamiento prolongado, las condiciones de alta temperatura y humedad mostraron una tendencia a disminuir el porcentaje de germinación, demostrando el efecto negativo de estos parámetros en la capacidad de germinación de las semillas (Rani et al., 2013). Igualmente, Mutungi et al (2014) observaron una drástica caída en la germinación de las semillas después de 6 meses de almacenamiento en costales de polipropileno, comparada con la germinación de las semillas de las bolsas herméticas. Doria (2010) agrega que, para lograr buenos resultados de germinación es indispensable tener condiciones óptimas de temperatura, humedad relativa y libre de patógenos.

En las pruebas de germinación realizadas en el presente trabajo se observó una alta presencia de hongos contaminando las semillas. Las condiciones con alta humedad relativa durante el desarrollo de la prueba de germinación, favorecieron la proliferación de los hongos que trae la semilla desde el campo, contaminando y afectando el

desarrollo de la misma. Borges y Urdaneta (2010), mencionan que los hongos infectan partes internas de las semillas, afectando la germinación y desarrollo de plántulas, al provocar la pudrición de la semilla y por la competencia de las reservas de nutrientes de la semillas. Del mismo modo, los hongos en las semillas generan micotoxinas, las cuales inhiben la germinación y vigor de las plántulas (Krishnan et al., 2019).

Prueba de Vigor

El vigor es una característica compleja y se evalúa con el tamaño de plúmula, tamaño de la raíz, número de raicillas y peso de la plántula (Freitas et al., 2011). Los resultados de las determinaciones de la prueba de vigor, se muestran en la Figura 4. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$). En el número de raicillas todos los tratamientos fueron estadísticamente diferentes que el control ($p > 0.05$). En los tratamientos herméticos (BHCO₂, BHBG y CHBG), los resultados de las determinaciones de la prueba de vigor medidos en plúmula, radícula y raicillas fueron mayores en el mes 2 de muestreo y significativamente diferentes al control ($p > 0.05$). El aumento del vigor coincide con el mes donde el porcentaje de germinación fue mayor. Ludwing et al. (2021), no encontraron mayor longitud de las plántulas de soya almacenada con alta concentración de CO₂. Resultados similares se reportan en arroz, después de 45 días de almacenamiento con CO₂ no se observaron diferencias entre el tamaño de la plántulas germinadas (Aguiar et al., 2015). Respecto a la raíz, Dyvya et al (2016) reportaron que el 50% de CO₂ no tuvo un efecto en su tamaño, respecto al control. Por otro lado, con dosis de 30 y 40 % de CO₂ si observaron raíces de mayor tamaño, al finalizar los seis meses de almacenamiento. Arun et al (2017) al trabajar con caupí concluyeron que el vigor de las plántulas es un fenómeno esencialmente fisiológico influenciado por la movilización de las reservas de almacenamiento como son las proteínas, aceites y carbohidratos por las enzimas de movilización, cisteína endopeptidasa y proteinasa A y B . En conjunto, la movilización de las reservas, por las enzimas, pueden ser responsable de la germinación y el vigor de las semillas (Matilla, 2008).

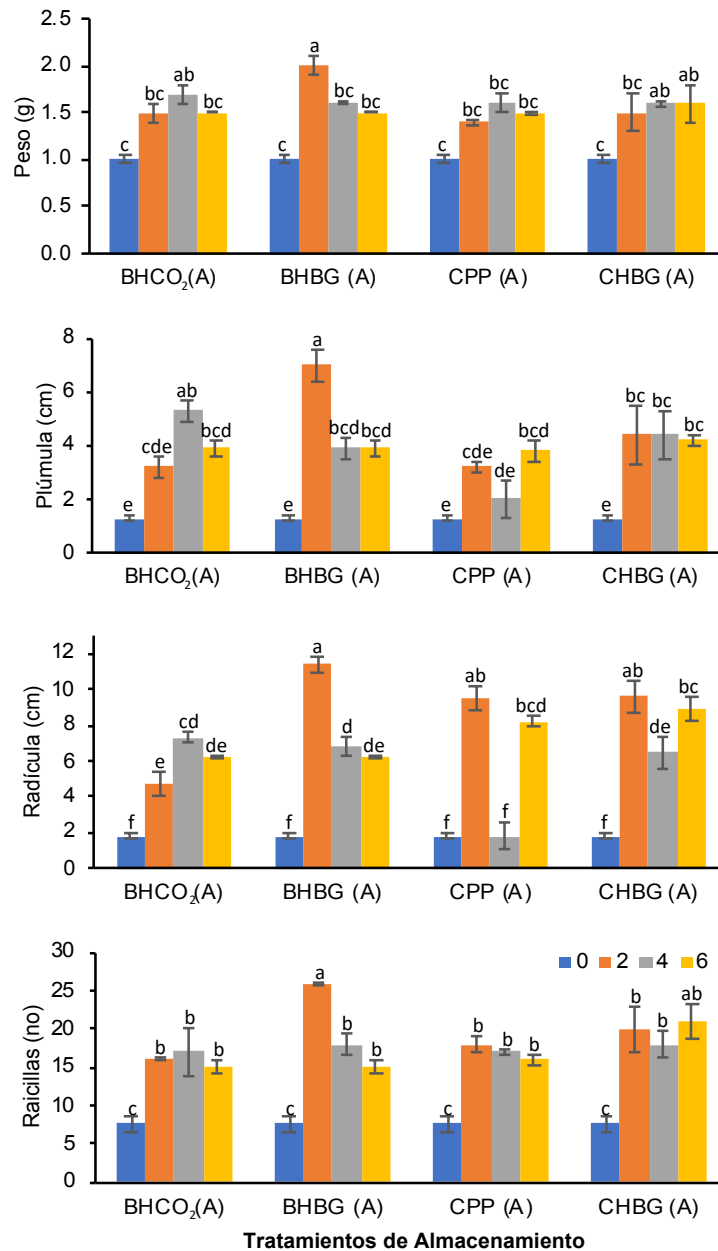


Figura 4. Peso, plúmula, radícula y número de raicillas (vigor) en la germinación de garbanzo almacenado en los meses de octubre de 2017 a abril de 2018. Datos representados como Media de 4 repeticiones \pm ds. Medias con diferente letra minúscula son significativamente diferentes ($p < 0.05$) entre los diferentes tratamientos. Medias con igual letra mayúscula (en el eje X) no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) entre los tratamientos de almacenamiento.

BHCO₂ (Bolsa Hermética con CO₂), BHBG (Bolsa Hermética Biogenerador), CPP (Costal de Polipropileno) y CHBG (Costal Hermético Biogenerador).

Atributos de Calidad del Grano de Garbanzo

Prueba de Color

El color, expresado como Delta E, determinan los cambios de color que sufre un alimento contra el tratamiento control (CPP), y esta relacionado con la calidad (Nasar-Abbas et al., 2008). Los resultados de la prueba de color reportado se muestran en la Tabla 6.

El garbanzo almacenado en los costales de polipropileno (CPP) mantiene un Delta E por arriba de 5, en todos los meses de almacenamiento, mientras que el garbanzo en bolsas herméticas (BHCO₂, BHBG y CBG), el Delta E muestra una tendencia a disminuir después del mes cuatro y hasta el final del almacenamiento. El tratamiento de bolsa hermética biogenerador (BHBG) en el mes seis tiene un Delta de 2.84 ± 0.33 y es significativamente diferente ($p > 0.05$) al de costales de polipropileno (CPP) al mes cuatro y el costal bionerador (CHBG) en el mes dos con 5.78 ± 1.42 y 5.53 ± 0.62 , respectivamente. No se encontraron diferencias significativas en los valores de las lecturas de a, b y L obtenidas con el reflectómetro, entre los tratamientos y en los meses de muestreo por tratamiento ($p > 0.05$).

Los resultados en color del garbanzo almacenado en los costales de polipropileno, se relaciona con lo reportado por Nasar-Abbas et al (2009), los cuales refieren, que los costales de polipropileno no ofrecen una barrera a la luz, la cual está relacionada con los cambios de color durante el almacenamiento. Reyes-Moreno et al (2000) al almacenar garbanzo por 160 días a 35° C y 75% de HR, observan que el valor de L decrece, pero hay un incremento del Delta E, por lo que la testa se oscurece. Los resultados de las bolsas herméticas coinciden con estudios en maíz y frijol, los cuales han mostrado que se reducen los cambios en el color de las semillas al ser almacenados en sistemas herméticos (Vanier et al., 2014; Walker et al., 2018). Por otra parte, estudios con otras leguminosas han relacionado como la temperatura y humedad influyen en los cambios de color que se producen durante su almacenamiento (Sorour y Uchino, 2004).

Tabla 6. Resultados de la prueba de color (ΔE) en garbanzo expuesto a diferentes tratamientos de almacenamiento de octubre de 2017 a abril de 2018.

Tratamientos	Tiempo (meses)	a	b	L	ΔE
Control	0	2.97 ± 1.08	13.42 ± 1.77	55.85 ± 5.26	
¹ BHCO ₂	2	4.88 ± 0.46	13.93 ± 0.28	55.08 ± 1.03	4.26 ± 0.29 ^{abc}
	4	3.81 ± 0.42	12.83 ± 1.42	54.90 ± 0.07	3.48 ± 0.40 ^{abc}
	6	4.26 ± 0.18	13.94 ± 0.42	56.51 ± 2.15	3.86 ± 0.25 ^{abc}
² BHBG	2	4.09 ± 0.52	13.52 ± 1.28	56.00 ± 5.68	5.29 ± 0.68 ^{abc}
	4	3.85 ± 0.25	12.98 ± 0.04	55.12 ± 0.24	3.70 ± 0.43 ^{abc}
	6	3.89 ± 0.03	12.95 ± 0.62	52.73 ± 0.61	2.84 ± 0.33 ^c
³ CPP	2	5.38 ± 1.34	14.93 ± 2.16	53.11 ± 4.74	5.16 ± 1.54 ^{abc}
	4	4.60 ± 0.09	14.03 ± 0.75	56.85 ± 1.96	5.78 ± 1.42 ^a
	6	4.48 ± 0.25	13.45 ± 0.02	55.80 ± 1.36	5.03 ± 0.65 ^{abc}
⁴ CHBG	2	5.50 ± 0.01	15.52 ± 0.97	54.34 ± 0.54	5.53 ± 0.62 ^{ab}
	4	4.21 ± 0.07	13.02 ± 0.12	53.33 ± 1.03	3.09 ± 0.86 ^{bc}
	6	4.42 ± 0.40	13.18 ± 0.07	54.36 ± 0.85	3.56 ± 0.24 ^{abc}

Media ± desviación estandar de tres repeticiones. Medias con diferente literal son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

¹BHCO₂: Bolsa Hermética con CO₂ ²BHBG: Bolsa Hermética Biogenerador

³CPP: Costal de Polipropileno ⁴CHBG: Costal Hermético Biogenerador

Nasar-Abbas et al (2009) relacionó el oscurecimiento de las habas al almacenarlas a condiciones elevadas de temperatura, humedad y luz, con la reducción de los compuestos fenólicos, los cuales se oxidan fácilmente. La disminución de los fenoles libres y fenólicos no taninos puede estar relacionado con la polimerización de estos compuestos generando polímeros insolubles de alto peso molécula. También se ha sugerido que el oscurecimiento puede estar relacionado con reacciones no enzimáticas, como las de Maillard y los cambios químicos de los compuestos fenólicos (Edmister et al., 1990).

La textura rugosa del garbanzo puede interferir en la lectura uniforme de los parámetros de color en el equipo y podría ser una limitante en el uso de esta tecnología para evaluar el color del grano de garbanzo, una alternativa sería moler el grano para tener una superficie uniforme.

Absorción de Agua

En la prueba de absorción de agua, se determina el tiempo en el cual el grano absorbe su peso en agua. El ablandamiento de los granos se relaciona con la desnaturalización de las proteínas y la gelatinización del almidón, para lo cual es fundamental el proceso de remojo de las semillas previo a la cocción (Chigwedere et al., 2019).

En la Figura 5, se puede observar como tanto el control, como el garbanzo almacenado en los diferentes tratamientos, alcanzan el 50% de absorción de agua en aproximadamente 80 minutos y les tomó 5 h alcanzar el 100% de absorción de agua. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos y el control ($p > 0.05$).

La rápida absorción inicial del garbanzo, esta relacionada con la imbibición de agua, y se lleva a cabo en tres fases, primero hay una fase inicial de rápida de entrada de agua hacia los capilares y el hilio del grano, posteriormente, una fase de absorción constante que se lleva a cabo en la matriz intracelular, para finalmente alcanzar la saturación con la entrada de agua en el espacio extracelular (Chigwedere et al., 2019). Romero-Baranzini et al (2014) al estudiar diferentes líneas de garbanzo, reportaron tiempos de 6 y 4 h.

Mientras que Iturralde-García et al (2016), reportaron un tiempo de 3.5 h, para el garbanzo almacenado con CO₂ expuesto a 120 h y para el tratamiento control. Los

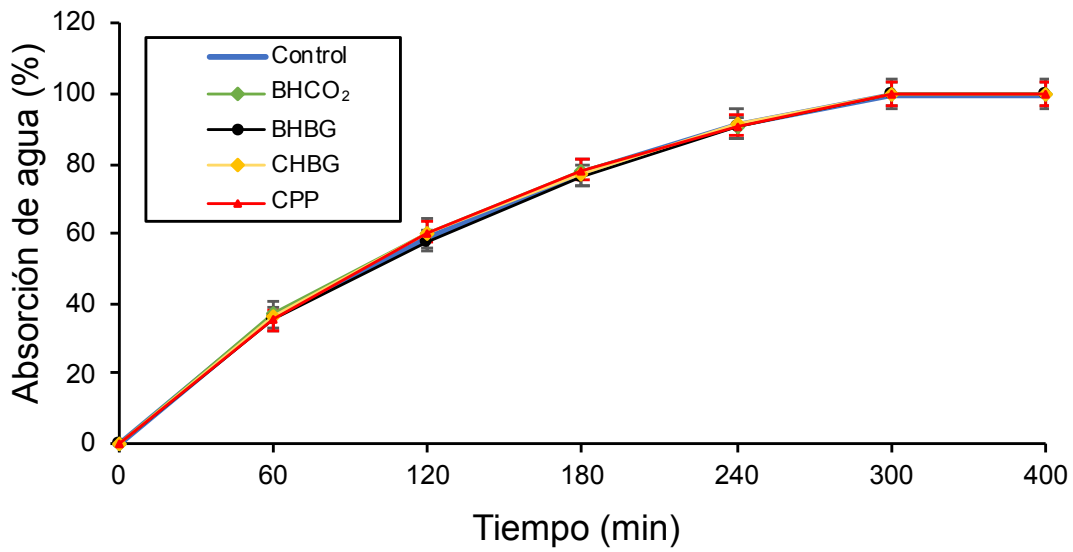


Figura 5. Absorción de agua (%) del garbanzo almacenado seis meses en diferentes tratamientos de almacenamiento. Media de tres repeticiones. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p>0.05$).

resultados de Joshi et al (2010) en tres variedades de lentejas, demostraron que la capacidad de absorción de agua depende de la variedad, esto, también puede explicar la diferencia en los tiempos de absorción de agua de los granos.

Textura

Los resultados de la prueba de textura del garbanzo se muestran en la Figura 6. Al avanzar el tiempo de cocción la textura del garbanzo disminuye paulatinamente. El tiempo óptimo de cocimiento se determinó empleando la ecuación de la curva de cocimiento y calculando el tiempo en el cual el garbanzo cocido alcanzó los 20 Kgf que es la fuerza en la cual el garbanzo alcanza la textura óptima (Anguaga et al., 2002; Romero-Baranzini et al., 2013). Tanto en el control, como el garbanzo almacenado en los diferentes tratamientos, el tiempo de cocción para alcanzar los 20 Kgf, fue de 95 minutos. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p>0.05$).

Determinación de Sorción de CO₂ y Presión Negativa

Sorción de CO₂

La variación en la concentración de CO₂ dentro de los envases a los diferentes tiempos de exposición y proporción de llenado se muestran en la Figura 7. En los envases con una proporción de llenado del 1% de garbanzos, la concentración de CO₂ se redujo 1%. Sin embargo, cuando los envases tenían una proporción de llenado del 96% de garbanzos, se observó una alta reducción de la concentración inicial de CO₂ al final del tiempo de exposición. La AM de 90% quedó en 60%, y en la del 50% en 30%, aproximadamente. La mayor disminución en la concentración inicial de CO₂ ocurrió durante las primeras horas de exposición.

Al estudiar la sorción de CO₂ en garbanzo empacado Iturralde et al. (2019) reportan una mayor sorción del garbanzo en las primeras horas de exposición al CO₂. Jian et al (2014), reportan pérdidas del 17% de la concentración inicial del CO₂, al estudiar la sorción de la canola a diferentes condiciones de almacenamiento. Mitsuda et al (1973

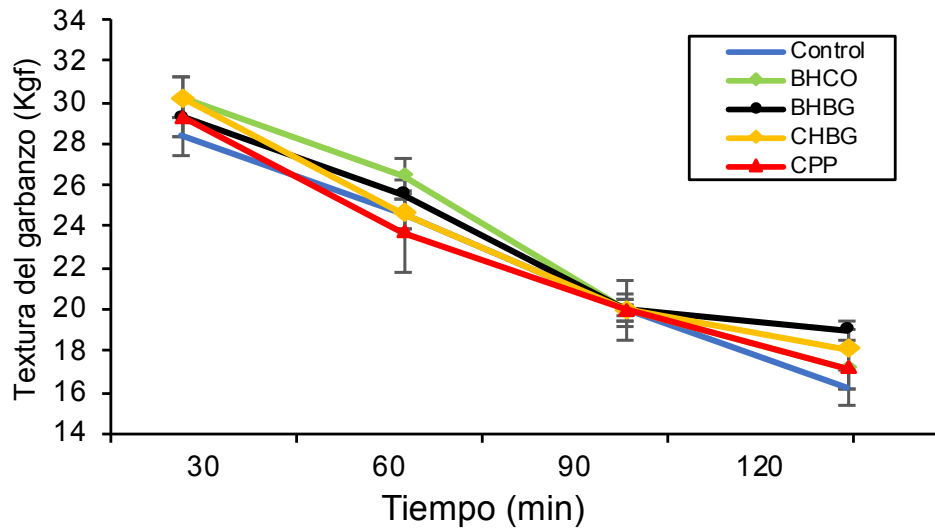


Figura 6. Textura del garbanzo (Kgf) almacenado seis meses en diferentes tratamientos de almacenamiento. Media de tres repeticiones. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p>0.05$).

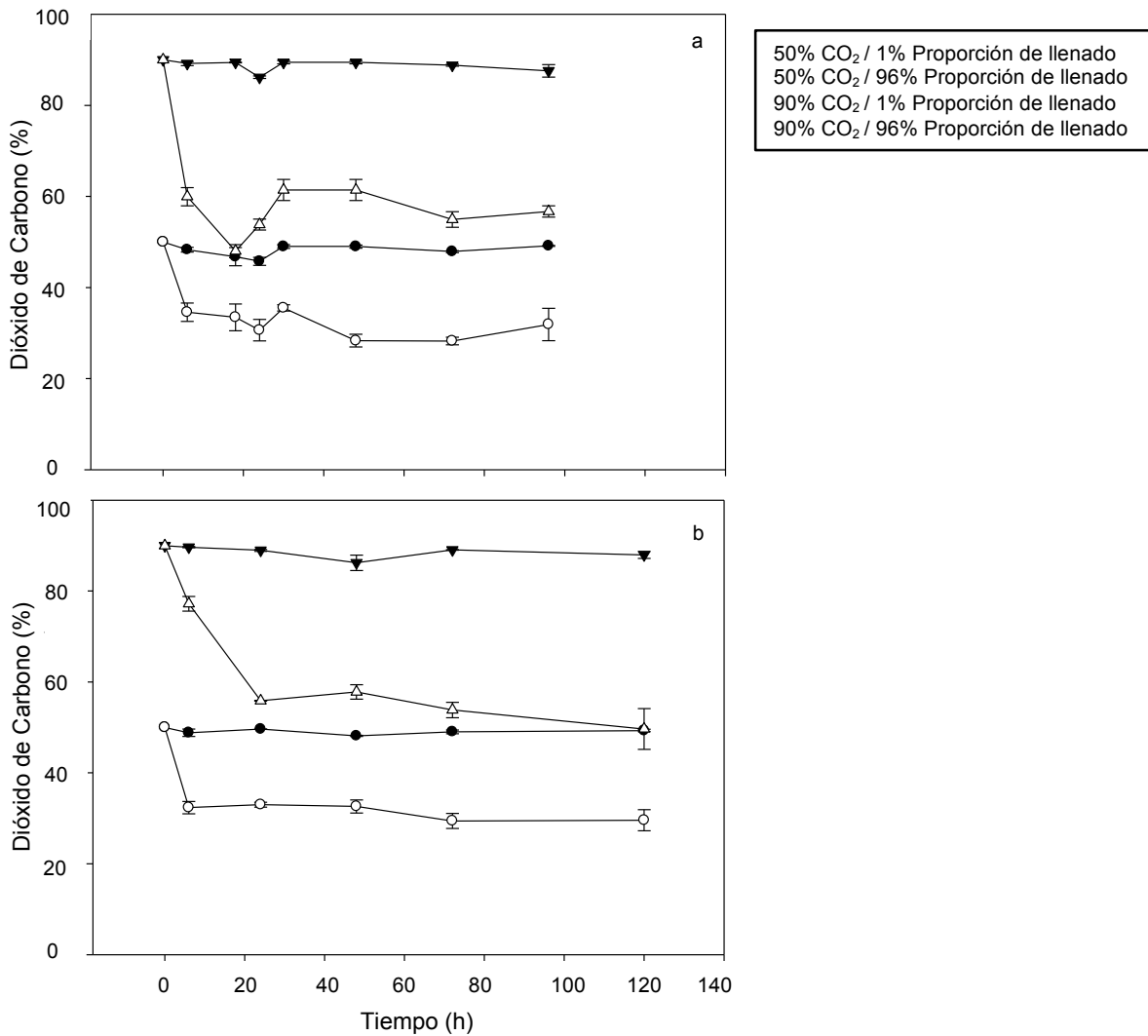


Figura 7. Cambios en el contenido de CO₂ (\pm error estándar) dentro de los envases de plástico sellados durante la exposición de huevecillo (a) y pupas (b) a dos atmósferas modificadas y diferentes proporciones de llenado de garbanzos y tiempo de exposición.

demonstraron la relación de la reducción de la AM con la sorción de gas a través de los poros de los granos por un proceso de difusión. El CO₂ se absorbe rápidamente por los átomos de carbono de la superficie del grano y forman una capa de moléculas de CO₂, a este proceso se le conoce como adsorción de Van der Waals. Las capas que se forman atraen más CO₂ al interior del grano generando la formación de varias capas (Brunauer, 1943; Yamamoto y Mitsuda, 1980). Finalmente, se da un proceso de quimisorción, el cual no requiere energía de activación y es similar a lo que sucede cuando se une un radical libre con una molécula de gas (Hartel y Polanyi, 1930; Eyring, 1931).

Presión Negativa

Los valores de la sorción de CO₂ por los garbanzos y la medición de la presión negativa que se produce en el interior de los envases después de 48 horas de exposición, se muestran en la Tabla 7. El tiempo de 48 h se determinó en un estudio previo, como el momento en el que los garbanzos lograron la estabilidad en los niveles de sorción (Iturralde-García et al., 2019). En los envases con una proporción de llenado del 1%, la sorción de CO₂ fue de 1.9 a 2.9 g por kg de garbanzo, sin embargo, esta sorción no fue suficiente para generar presión negativa en los envases. En la proporción de llenado del 96%, la sorción fue de 0.22 a 0.35 g por kg de garbanzos, lo que generó una alta presión negativa dentro de los envases de 73.9 a 58.6 KPa para 50% y 90% de CO₂ respectivamente, con diferencia significativa entre ellas. Estos resultados coinciden con los reportados por Iturralde-García et al. (2019), los cuales reportan que la presión negativa se incrementa con una mayor proporción de llenado y concentración de CO₂ elevada. Collins (2010) reporta la generación de presión negativa por efecto de la sorción del gas cuando se usan contenedores herméticos, por lo que se debe considerar este efecto para prevenir la reducción de la efectividad del gas por efecto de la sorción. De igual manera, Jian et al (2014) advierten de posibles fracturas en contenedores rígidos por la presión negativa que se crea por efecto de la sorción del CO₂ al interior de los granos almacenados.

Tabla 7. Sorción de CO₂ y presión negativa dentro de los envases con dos proporciones de llenado de garbanzos, después de aplicar dos atmósferas modificadas durante 48 h.

CO ₂ (%)	Proporción de llenado (%)	Pérdida de CO ₂ (%)	CO ₂ sorción (g/Kg garbanzo)	Presión negativa (kPa)
50	1	1.43 ^c	1.91 ^a	99.3 ^a
	96	19.53 ^b	0.22 ^b	73.9 ^b
90	1	2.15 ^c	2.86 ^a	98.3 ^a
	96	30.38 ^a	0.35 ^b	58.6 ^c

Valores con letras diferentes para en la misma columna son significativamente diferentes en la prueba Tukey ($p < 0.05$).

Evaluación de la Mortalidad de *C. chinensis*

Mortalidad de Huevos y Pupas

La susceptibilidad de *C. chinensis* a las AM fue diferente para las dos etapas de desarrollo probadas. Los huevos fueron más susceptibles a las AM, necesitando 48 h de exposición para alcanzar el 100% de mortalidad (Figura 8). Mientras que las pupas fueron más tolerantes, siendo necesarias 120 h para alcanzar el mismo nivel de mortalidad (Figura 9). En ambos casos, la mortalidad aumentó a medida que aumentaba el período de exposición al CO₂.

Estudios previos con el género *Callosobruchus*, mostraron que los huevos de la especie *C. maculatus*, fueron más susceptibles que las pupas a la exposición de las AM (Wong-Corral et al., 2013; Iturralde-García et al., 2016). En comparación con otras dos especies de brúquidos, *A. obtectus* y *Z. subfasciatus*, *C. chinensis* parece ser más susceptible a atmósferas modificadas de alta concentración de CO₂, ya que se necesitaron 9 días de exposición para lograr la mortalidad total de esas especies (Wong-Corral et al., 2013), en comparación a los 5 días (120 h) observados en el presente estudio para *C. chinensis*.

En los análisis de Probit, al calcular la LT₅₀ de huevos no se observaron diferencias significativas entre las concentraciones de CO₂ en el 96% de proporción de llenado. Sin embargo, en la proporción de llenado del 1%, al observar los intervalos de confianza, se encontraron diferencias significativas en la relación de llenado del 1%, con una LT₅₀ de 34.31 h para la AM del 90% y de 26.34 h para la de 50% (Tabla 8). No se observaron diferencias significativas de los valores de la LT₉₅ en la proporción de llenado del 1%, con 50% o con 90% de CO₂. Sin embargo, en la proporción de llenado del 96%, se obtuvo una LT₉₅ mayor al 50% de CO₂ con 68.03 h que al 90% con 38.44 h. En las pupas, los resultados de los análisis de Probit, no mostraron diferencias significativas en los valores de la LT₅₀ y LT₉₅ comparando los intervalos de confianza entre las AM y las proporciones de llenado probadas (Tabla 9). En los resultados de Wong et al (2013) con *C. maculatus* se calculó una LT₉₉ entre 2.5 y 4.1

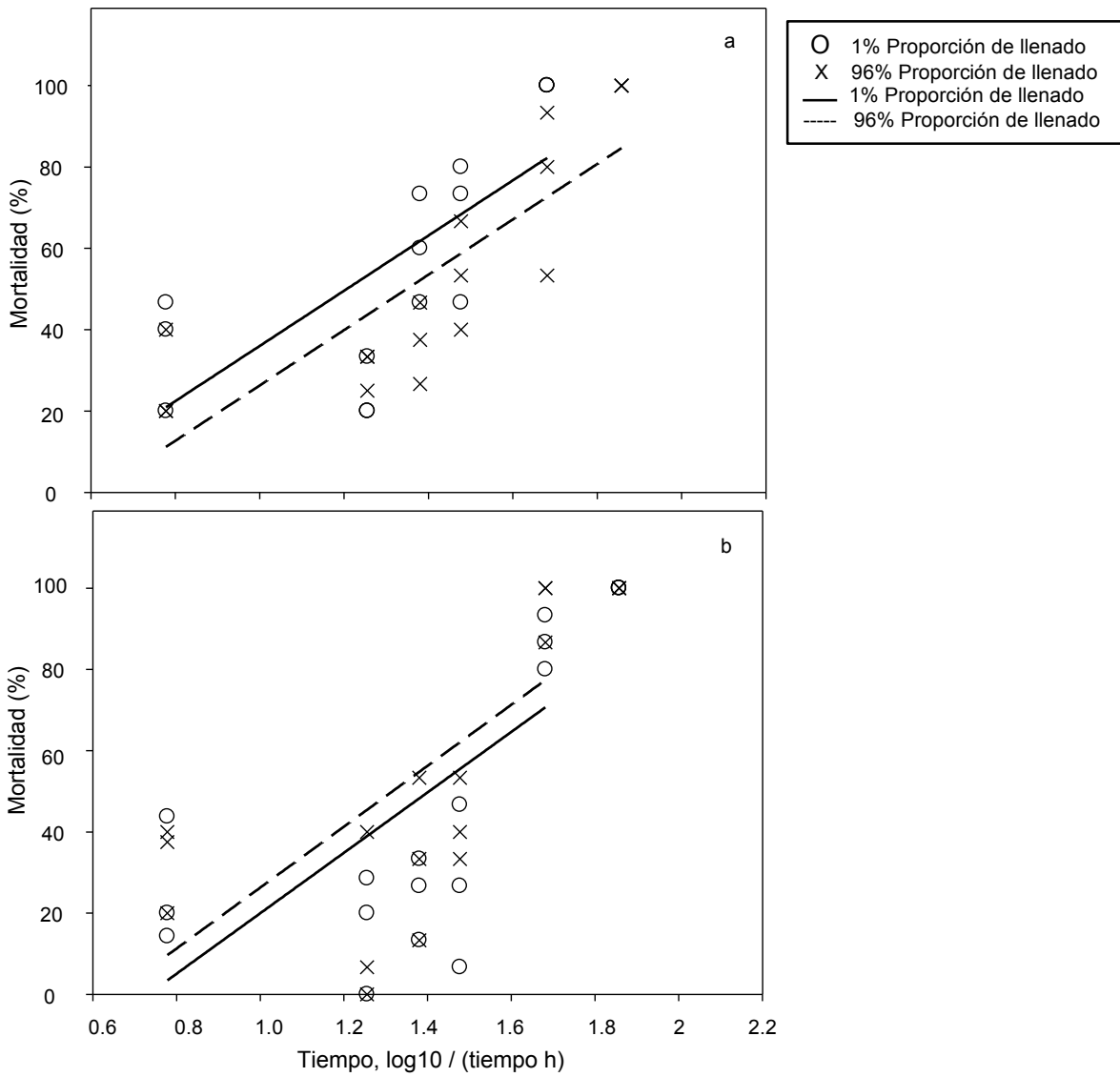


Figura 8. Respuesta de mortalidad para huevos expuestos a dos atmósferas modificadas diferentes (a: 50% CO₂; b: 90% CO₂) en paquetes de garbanzos con dos proporciones de llenado (1 y 96%) de 6 h a 120 h de exposición.

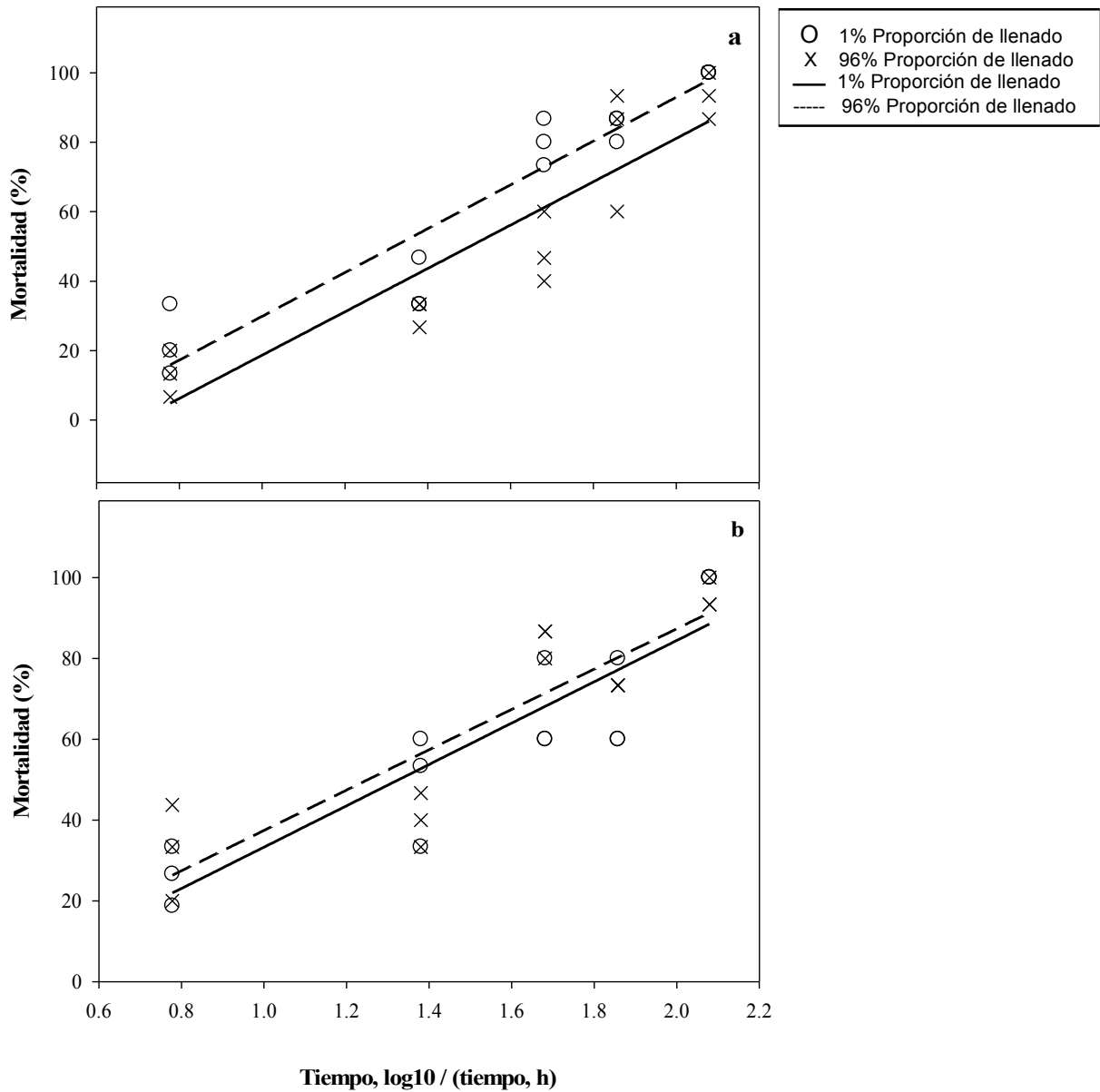


Figura 9. Respuesta de mortalidad para pupas expuestas a dos atmósferas modificadas diferentes (a: 50% CO₂; b: 90% CO₂) en paquetes de garbanzos con dos proporciones de llenado (1 y 96%) de 6 h a 120 h de exposición.

Tabla 8. Análisis de Probit para la toxicidad de dos atmósferas modificadas (50 y 90% CO₂) con dos proporciones de llenado (1 y 96%) en huevos de *C. chinensis*.

CO ₂ (%)	Llenado (%)	Slope (SE)	LT ₅₀ (h) ¹	95% limite fiducial	LT ₉₅ (h) ¹	95% limite fiducial	χ ² (df)
50	1	8.33 (1.58)	26.34 ^b	23.22-29.21	41.50 ^{ab}	35.77-57.72	21.90 (19)
	96	5.37 (0.82)	33.62 ^a _b	27.85-38.73	68.03 ^a	56.53-94.63	22.11 (19)
90	1	22.25 (5.20)	34.31 ^a	31.47-36.03	40.67 ^b	38.45-46.16	22.44 (22)
	96	20.18 (5.32)	31.86 ^a _b	27.19-34.00	38.44 ^b	35.63-52.71	34.57 (22)

¹ Los valores con diferentes letras en la misma columna son significativamente diferentes ($P < 0,05$, intervalo de confianza para la relación de LTs).

² La prueba de Chi-cuadrada de la linealidad de la mortalidad dependiente de la dosis indicó que la distribución normal proporcionó un ajuste adecuado para el modelo en todos los casos ($P < 0,05$).

Tabla 9. Análisis de Probit para la toxicidad de dos atmósferas modificadas (50 y 90% de CO₂) aplicados a dos proporciones de llenado del envase (1 y 96%) en pupas de *C. chinensis*.

CO ₂ (%)	P.Llenado (%)	Slope (SE)	LT ₅₀ (h) ¹	95% limite fiducial	LT ₉₅ (h) ¹	95% limite fiducial	χ ² (df)
50	1	3.81(0.69)	35.08 ^a	26.4-42.0	142.79 ^a	75.5-142.4	8.59 (13)
	96	3.51 (0.65)	48.52 ^a	37.3-58.0	222.90 ^a	109.2-239.7	11.73 (13)
	1	3.28(0.85)	48.15 ^a	22.0-63.9	246.04 ^a	103.1-733.7	17.40 (13)
90	96	3.00 (0.64)	41.82 ^a	28.4-52.8	248.26 ^a	105.7-302.7	12.30 (13)

¹ Valores con diferentes letras en la misma columna son significativamente diferentes ($P < 0.05$), intervalo de confianza para la relación de LTs).

² La prueba de Chi cuadrado de la linealidad de la mortalidad dependiente de la dosis indicó que la distribución normal proporcionó un ajuste adecuado para el modelo en

días para huevos con 70% y 50% de CO₂, respectivamente. Para las pupas fue de mínimo de 9 días para obtener un 100% de mortalidad en concentraciones de CO₂ superiores al 50%.

Al exponer pupas de *Callosobruchus subinnotatus* Pic (Coleoptera: Bruchidae) a atmósferas modificadas, se logró una mortalidad del 100% con atmósferas hiperbáricas (99% CO₂) después de 7 días de exposición. Respecto a atmósferas hipóxicas con 2% de oxígeno, se requirió un tiempo de 10 días, para lograr un grado similar de mortalidad (Mbata et al., 2000). Mientras que, al almacenar frijol verde (*Macrotyloma uniflorum* Lam.) y frijol chícharo (*Cajanus cajan* L.), cada uno infestado de *C. chinensis*, se registró el control del insecto con concentraciones de 40% y 50% de CO₂ después de 6 meses y 1 año respectivamente, y durante esos períodos de almacenamiento no se observó daño de grano o pérdida de peso (Divya et al., 2016; Padmasri et al., 2017). Los estudios de Spratt (1984) y Harrison et al (2006), mostraron que una baja concentración de O₂ induce una reducción en el período de cierre de los espiráculos, favoreciendo una mejor captación de oxígeno, mientras que atmósferas ricas en CO₂ aumentan el tiempo de apertura de los espiráculos, generando dificultad en la captación de oxígeno, aunado, además a una mayor pérdida de agua por la ventilación prolongada, lo que puede contribuir a una mayor mortalidad en un estado de hipercapnia que de hipoxia (Chen et al., 2013). Al estudiar la expresión de genes de *C. maculatus* en condiciones de hipoxia Chen et al. (2013), no observaron cambios importantes en los genes del ciclo de Krebs, mientras que los genes glicolíticos *CmPFKFB3*, *CmALD* y *CmGAPGH* se mostraron elevados, sin embargo, en condiciones de hipoxia-hipercapnia se indujo más rápidamente la presencia del gen *CmPFKFB3*, el cual es el que codifica el regulador de la vía glucolítica, esto sugiere que el CO₂ facilita el camino del metabolismo anaerobio como una medida para compensar la falta de oxígeno.

Las variaciones en la proporción de llenados tuvieron poco efecto sobre la mortalidad del huevo, y ningún efecto sobre las pupas de *C. chinensis*. En comparación, Iturralde-García et al (2020) observaron una disminución en la mortalidad de *huevos de R. dominica* cuando los garbanzos se empacaron con una relación de llenado del 96%, mientras que para las etapas de desarrollo interno, como son larvas y pupas, la

susceptibilidad se mantuvo igual, independientemente de si hubo una relación de llenado baja o alta.

La sensibilidad de los huevos a atmósferas modificadas se debe principalmente a que cuando son jóvenes, tienden a perder oxígeno y agua a través del corion y en los huevos más viejos se debe a que la larva que está a punto de emerger aumenta su actividad respiratoria (Mbata et al., 2004). Se ha demostrado que las pupas tienen una tasa metabólica más baja y por lo tanto, una menor demanda de oxígeno. Debido a esto, es posible que las pupas continúen su desarrollo mientras se encuentran en un ambiente con una alta concentración de CO₂, sobreviviendo así a períodos más largos de exposición (Mbata et al., 2000).

Fecundidad

Para evaluar si la fecundidad fue afectada o no por los tratamientos, se evaluó el número de hembras sobrevivientes de tiempos de exposición menores a 30 h para huevos y de 48 h para pupas. Las hembras que se desarrollaron a partir de los huevos (Figura 10) expuestos a las AM produjeron un promedio de 41 y 94 huevos en promedio por hembra, sin diferencias significativas debido a los tiempos de exposición, las concentraciones iniciales de CO₂ o las proporciones de llenado ($F = 1.3577$; $df = 19, 76$; $P = 0,1747$). En comparación, la fecundidad de las hembras que emergieron de pupas fue significativamente diferente para los tratamientos ($F = 4,4974$; $df = 15, 68$; $P < 0,0001$). Las hembras expuestas durante 48 horas a las AM con 90% de CO₂ colocaron un promedio de 21 huevos, significativamente menor que las hembras expuestas a tiempos de exposición más cortos con un promedio de 67 huevos ($F = 17.7280$; $df = 3$; $P < 0.0001$) (Figura 11). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre la concentración de CO₂ ($F = 0.9608$; $df = 1$; $P = 0.3305$), la relación de llenado del envase ($F = 0.1456$; $df = 1$; $P = 0.7040$), ni debido a las interacciones entre el tiempo de exposición y la concentración de CO₂ ($F = 0.9701$; $df = 3$; $P = 0.4120$), tiempo de exposición y relación de llenado ($F = 0.7704$; $df = 3$; $P = 0.5146$),

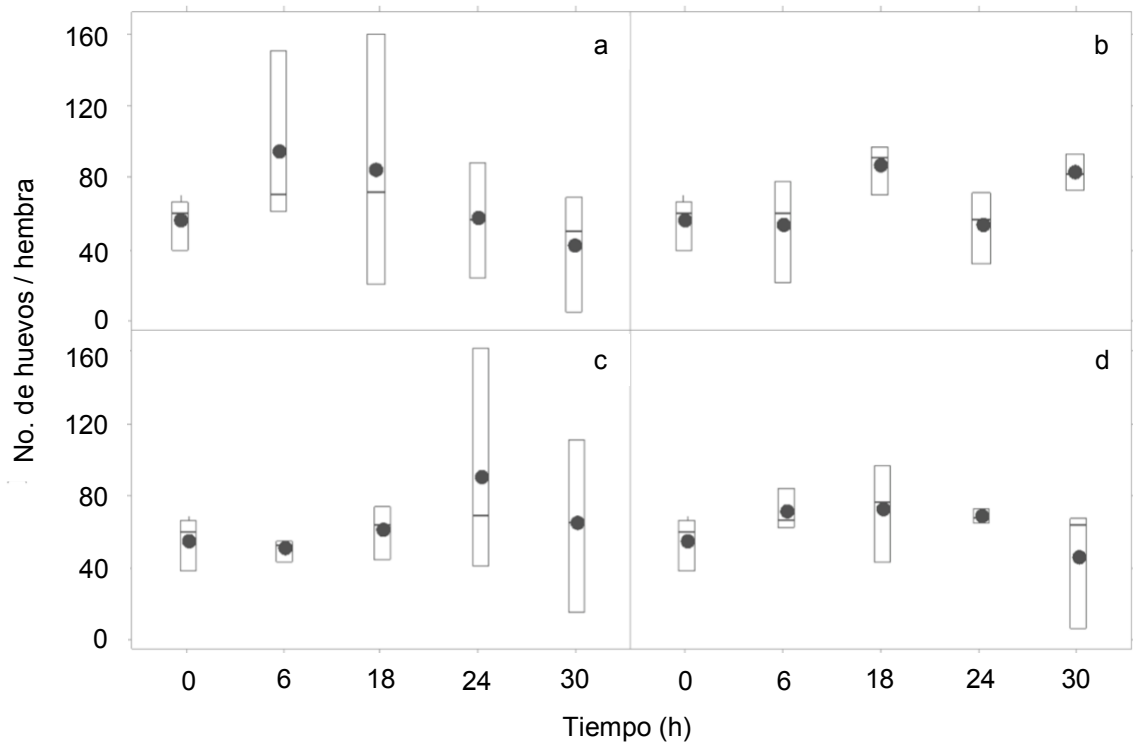


Figura 10. Número de huevos ovipositados por las hembras que emergieron de huevos tratados con 50% (a, b) o 90% de CO₂ (c, d) y con una proporción de llenado del 1% (a, c) o 96% (b, d). El Boxplot representa la media (círculo sólido), la mediana (línea sólida), el rango intercuartílico (longitud de la caja) y los valores mínimo y máximo (bigotes). Datos representados como media de 3 repeticiones. Sin diferencias significativas debido a los tiempos de exposición, las concentraciones iniciales de CO₂ o las proporciones de llenado ($F = 1.3577$; $df = 19.76$; $P = 0.1747$).

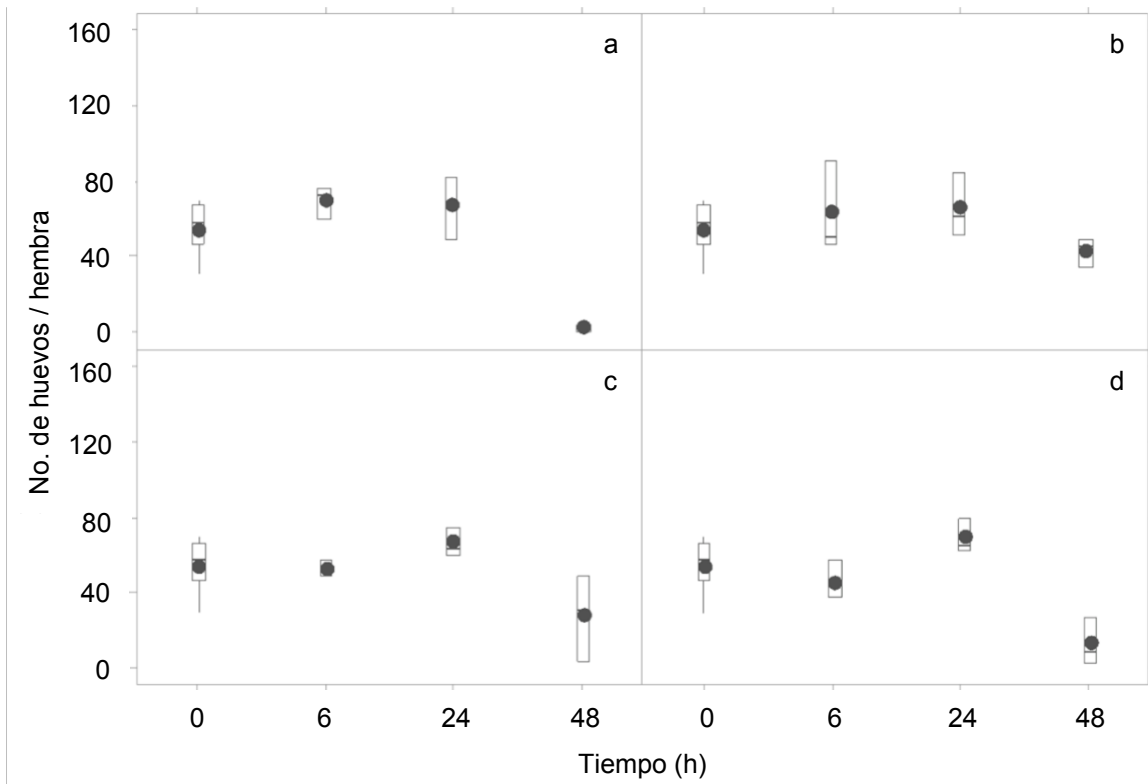


Figura 11. Número de huevos ovipositados por las hembras que emergieron de pupas tratadas con 50% (a, b) o 90% de CO₂ (c, d) y con una proporción de llenado del 1% (a, c) o 96% (b, d). El Boxplot representa la media (círculo sólido), la mediana (línea sólida), el rango intercuartílico (longitud de la caja) y los valores mínimo y máximo (bigotes). Datos representados como media de 3 repeticiones. Significativamente diferentes para los tratamientos ($F = 4.4974$; $df = 15.68$; $P < 0.0001$).

concentración de CO₂ y relación de llenado ($F = 2.4048$; $df = 1$; $P = 0.1256$), y entre los tres factores ($F = 2.4752$; $df = 3$; $P = 0.0688$).

La fecundidad de las hembras de *C. chinensis* que emergen de los huevos tratados no se vio afectada por los niveles de concentración de la AM, la proporción de llenado o el tiempo de exposición. Del mismo modo, la fecundidad de las hembras que emergen de las pupas tratadas no se vio afectada por la concentración de CO₂ o la relación de llenado. Sin embargo, la fecundidad de las hembras que emergen de las pupas tratadas se redujo cuando el tiempo de exposición alcanzó las 48 horas, en comparación con períodos de exposición más cortos. Según Pascua et al (2021), la exposición de huevos de *C. maculatus* condiciones altas de CO₂, interrumpe la estructura de los huevos y reduce la duración de la emergencia adulta, la longevidad y la mortalidad de los individuos sobrevivientes. Otros estudios sobre la fecundidad de *Tribolium castaneum* (Herbst) y *Tribolium confusum* Duval (Coleoptera: Tenebrionidae) en atmósferas modificadas con hipoxia e hipoxia/hipercarbia, reportaron que la fecundidad de estas especies puede aumentar cuando se exponen de 5 a 20% de oxígeno y 10% de CO₂ (Spratt, 1984). Cheng et al (2013) cuantificaron genes que codifican enzimas proteasas en *C. maculatus* en condiciones de hipoxia e hipoxia/hipercarbia y en este último, se detectó una proteólisis significativamente mayor después de que los insectos regresaron a normoxia, lo que sugiere que en estados de hipoxia/hipercarbia, el CO₂ puede de alguna manera estimular el camino para la recuperación metabólica y promover el desarrollo de insectos.

CONCLUSIONES

Los tratamientos con bolsas herméticas biogeneradoras y con aplicación de atmósferas con alta concentración de CO₂ probaron ser eficaces para el almacenamiento comercial de garbanzo orgánico. Se mantuvo constante la humedad relativa y libre de insectos en los seis meses del almacenamiento, manteniendo su certificación y valor en el mercado.

Con el método tradicional de costales de polipropileno, el grano de garbanzo tiende a variar su humedad influenciada por la humedad relativa del ambiente y al ser una barrera semipermeable y de fácil penetración de los insectos, se tiene que fumigar mensualmente con fosfina para evitar y prevenir daños provocados por las plagas de insectos y así preservar su calidad.

La calidad de germinación de las semillas se preservó en todos los tratamientos probados, sin embargo, las plántulas que emergieron de los tratamientos de bolsas y costales herméticos y con CO₂ mostraron aumento en el vigor, medido por el tamaño de plántula y radícula y número raicillas.

Los envases con AM con 90% de CO₂ y una proporción de llenado con garbanzos del 96%, presentan mayor riesgo de rompimiento de estructuras de almacenamiento debido a la generación de una mayor presión negativa dentro de los envases.

A mayor concentración de CO₂ y tiempo de exposición se incrementa la mortalidad de huevos y pupas de *C. chinensis*. Sin embargo, no hay diferencias en los tiempos de tratamiento necesarios para lograr la misma mortalidad con las dos AM, tanto para huevos como para pupas, independientemente de si el paquete esta en una proporción de llenado con garbanzo del 96% o 1%.

Las condiciones de AM y los tiempos de exposición no tiene un efecto sobre la fecundidad de las hembras que emergieron de los huevos tratados, sin embargo, si hay una disminución de fecundidad cuando las pupas se exponen por más de 48 h al CO₂. Esto sugiere que si se pierde la hermeticidad de los envases durante el almacenamiento y no se alcanza el tiempo suficiente de exposición a las AM para lograr el control de plagas, los insectos que sobrevivan podrían continuar su desarrollo y dañar el garbanzo almacenado.

RECOMENDACIONES

Se recomienda estudiar el uso de las bolsas hermeticas después de la cosecha del garbanzo, que correspondería a los meses donde la temperatura de la región es más elevada, para así, tener un panorama más amplio sobre el comportamiento y beneficios que su implementación daría a los productores y almacenadores de garbanzo, toda vez, que si el almacenamiento se prolonga por mucho tiempo, las bolsas herméticas reducirían el número de fumigaciones, mientras se garantice su herméticidad.

Con base a las dificultades que se presentaron con el manejo de las bolsas Super Grainpro de una tonelada, se recomienda en su lugar utilizar la Super Grainbag HC, que son más manejables con un diseño más práctico tanto para el almacenamiento como para el transporte.

Finalmente, con base a los resultados de sorción del garbanzo, presión negativa, mortalidad y fecundidad obtenidos en este estudio se recomienda llevar estas condiciones al almacenamiento comercial, como una alternativa al uso de los costales de polipropileno usado en el almacenamiento de garbanzo en el Estado de Sonora.

REFERENCIAS

- Aboagye, D., Darko, J.O., Banadda, N. (2017). Comparative study of hermetic and non-hermetic storage on quality of cowpea in Ghana. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 4:10.
- Aguiar, R.W.S., Brito, D.R., Lopes, M.M., Silva, R.R. Fidelis, R.R., de Sousa, C.M., Rodrigues, S.G. (2015). Effect of carbon dioxide on quality of rice seeds. *Journal of Biosciences*, 31 (5): 1413-1422.
- Akidobe, S., Maredia, M. (2011). *Global and Regional Trends in Production, Trade and Consumption of Food Legume Crops*. Department of agricultural, food and resource economics, Michigan State University, Report Submitted to SPIA.
- Al-Azzawi, M., Al-Hakkak , Z., Al-Adhami, B. (1990). *In vitro* effects of phosphine on human and mouse serum cholinesterase. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 29 (1): 53–56.
- Alemayehu, S., Abay, f., Meles, A.K., Assefa, D., Chala, A., Mahroof, R., Harvey, J., Subramnyam, B. (2020). Evaluating different hermetic storage technologies to arrest mold growth, prevent mycotoxin accumulation and preserve germination quality of stored chickpea in Ethiopia. *Journal of Stored Products Research*, 85: 101-526.
- Al-Hakkak, Z.S., Al-Azzawi, M.J., Al-Adhamy, B.W., Khalil, S.A. (1989). Inhibitory action of phosphine on acetylcholinesterase of *Epehstia cautella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Stored Products Research*, 25 (3): 171-174.
- Alagusundaram, K., Jayas, D.S., White, N.D.G. y Muir, W.E. (1990). Three-dimensional finite element, heat transfer model of temperature distribution in large storage containers. *Journal of Stored Products Research*, 3, 577-584.
- Anbessa, Y., Warkentin, T., Bueckert, R., Vandenberg, A. (2007). Short internode, double podding and early flowering effects on maturity and other agronomic characters in chickpea. *Field Crops Research*, 102, 43-50.
- Andrade, D.K., Vargas, O.J., Amaral, F.N., Silva, D.R. y Oliveira, S.J.P. (2016). Control de *Callosobruchus maculatus* (FABR.) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchidae) in *Vigna unguiculata* (L.) WALP. with essential oils from four *Citrus* spp. plants. *Journal of Stored Products Research*, 68, 25-32.
- Anduaga, C.R., Cota, V.M.R., Falcón, V.M.R., Yáñez, F.G.A., Barrón, H.J.M. Medición de dureza en frijol cocido con una celda de extrusión por alambres: Propuesta de una celda de menor tamaño. IV Congreso del Noroeste en Ciencias Alimentarias y Biotecnología. Noviembre 13-16 del 2002.

- AOAC (1999). Official methods of analysis. 16th ed., Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Arun, M. N., Hebbar, S. S., Bhanuprakas, K., Senthivel, T. (2017). Seed priming improves irrigation water use efficiency, yield and yield components of summer cowpea under limited water conditions. *Legume Research - An International Journal*, 40(5): 864-871.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 191-203.
- Banks, H. J., Annis, P.C. (1990). Comparative advantages of high CO₂ and low O₂ types of controlled atmospheres for grain storage. In: Calderon, M., Barkai-Golan, R (eds.), *Food Preservation by Modified Atmospheres*, CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA. pp. 93–122.
- Bergquist, E.R., Fischer, R.J., Sugden, K.D., Martin, B.D. (2009). Inhibition by methylated organoarsenicals of the respiratory 2-oxo-acid dehydrogenases. *Journal of Organometallic Chemistry*, 694 (6): 973–980.
- Boeke, S.J., Baumgart, I.R., van Loon, J.J.A., van Huis, A., Dicke, M., Kossou, D.K. (2004). Toxicity and repellence of African plants traditionally used for the protection of stored cowpea against *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Stored Products Research*, 40, 423-438.
- Borges, J.A., Urdaneta, J. 2010. Efecto de *Fusarium Sp.* en la germinación, fenología y supervivencia de plántulas de *Leucaena leucocephala* (lam.) de wit. *Agronomía Tropical*, 60 (2): 155-160.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56, 317–333.
- Brunauer, S. (1943). *The adsorption of gases and vapours-physical adsorption*. Princeton University Press, Princeton.
- Cofie-Agblor, R., Muir, W.E., Jayas, D.S., White, N.D.G., (1995). Carbon dioxide sorption by grains and canola at two CO₂ concentrations. *Journal of Stored Products Research*, 34, 159-170.
- Conyers, S.T., Bell, C.H. (2007). A novel use of modified atmospheres: storage insect population control. *Journal of Stored Products Research*, 43, 367-374.
- Collins, P.J. (2010). Research on stored product protection in Australia: a review of past, present and future directions. 10th International Working Conference on Stored Product Protection. *Julius-Kühn-Archiv*, 425.

- Chidananda, K.P., Chelladurai, V., Jayas, D.S., Alagusundaram, K., White, N.D.G., Fields, P.G. (2014). Respiration of pulses stored under different storage conditions. *Journal of Stored Products Research*, 59, 42-47.
- Chang, R.W. (2002). *College Química*. México, D.F. McGraw-Hill.
- Cheng, W., Lei, J., Ahn, J.E., Wang, Y., Lei, C., Zhu-Salzman, K. (2013). CO₂ enhances effects of hypoxia on mortality, development, and gene expression in cowpea bruchid, *Callosobruchus maculatus*. *Journal Insect Physiology*, 59, 1160-1168.
- Chigwedere, C.M., Njoroge, D.M., Van Loey, A.M., Hendrickx, M.E. (2019). Understanding the relations among the storage, soaking, and cooking behavior of pulses: A scientific basis for innovations in sustainable foods for the future. *Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(4): 1135-1165.
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). (2018). Servicio Meteorológico Nacional. <https://smn.conagua.gob.mx>.
- Conyers, S.T., Bell, C.H. (2007). A novel use of modified atmospheres: storage insect population control. *Journal of Stored Products Research*, 43, 367-374.
- Díaz Ortiz, Jaime Ernesto. (2005). Propuesta metodológica para determinar el potencial de humedad de un material granular a partir de la humedad relativa. *Ingeniería y Competitividad*, vol. 7(1): 73-79. Universidad del Valle Cali, Colombia.
- Divya, P., Durga, K.K., Sunil, N., Rajasri, M., Keshavulu, K., Udayababu, P. 2016. Modified atmosphere storage technique for the management of pulses beetle. *Callosobruchus chinensis* in Horse gram. *Journal Indian* 39 (3): 474-478.
- Donahaye, E.J., Navarro, S.M., Rindner, M., Azrieli, A. (1996). The combined influence of temperature and modified atmospheres on *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research*, 32 (3): 225-232.
- Doria, Jessica. (2010). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales*, 31, 74-85.
- Edmister, J.A., Breene, W.M., Serugendo, A. (1990). Influence of temperature, water activity and time on cookability and color of a stored Rwandan dry bean (*Phaseolus vulgaris*) mixture. *Journal of Stored Products Research*, 26 (3): 121-126.

- Eyring, Henry. (1931). The energy of activation for biomolecular reactions involving hydrogen and the halogens, according to the quantum mechanics. *Journal of the American Chemical Society*, 7, 2537-2549.
- FAO (2020). FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Flora, J.W., Byers, L.E., Plunkett, S.E., Faustini, D.L. (2006). Residue formations of phosphorus hydride polymers and phosphorus oxyacid during phosphine gas fumigations of stored products. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 54, 107-111.
- Fraenkel, G., Blewett, M., (1944). The utilization of metabolic water in insects. *Bull. Entomol. Res.* 35, 127-139.
- Freitas, R.S., Faroni, L.R.A., Sousa, A.H. (2016). Hermetic storage for control of common bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Journal of Stored Products Research*, 66, 1-5.
- Freitas, R.S., Faroni, L.R.D.A., Sousa, A.H., Cecon, P.R., Carvalho, M.S. (2011). Quality of beans stored under hermetic conditions. *Journal of Agricultural Engineering*, 31, 1136-1149.
- Geil, P.B., Anderson, W., (1994). Nutrition and health implications of dry beans: a review. *Journal of the American College of Nutrition*, 13 (6).
- Goni, I., Valentin-Gamazo, C., Chickpea flour ingredient slows glycemic response to pasta in healthy volunteers. 2003. *Food Chemistry*, 8(4): 511-515
- Hall. C., Hillen, C., Robinson, G.J. (2017). Composition, Nutritional Value, and Health Benefits of Pulses. *Cereal Chemistry*, 1, 11-31.
- Harrison, J., Frazier, M.R., Henry, J.R., Kaiser, A., Klok, C.J., Rascon, B. (2006). Responses of terrestrial insects to hipoxia or hiperoxia. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 154, 4 -17.
- Hoback, W.W., Stanley, D.W. (2001). Insects in hypoxia. *Journal of Insect Physiology*, 47, 533-542.
- Sagarpa-2004: INIFAP. (2004). *El cultivo de garbanzo blanco en Sonora*. Libro Técnico No. 6.
- Iturralde-García, R.D., Borboa-Flores, J., Cinco-Moroyoqui, F.J., Riudavets, J., Del Toro-Sánchez, C.L., Rueda-Puente, E.O., Martínez-Cruz, O., Wong-Corral, F.J. (2016). Effect of controlled atmospheres on the insect *Callosobruchus maculatus* Fab. in stored chickpea. *Journal Stored Products Research*, 69, 78-85.

- Iturralde-García, R.D., García-Regueiro, J.A., Castañé, C., Riudavets, J. (2019). Sorption of carbon dioxide by chickpeas packaged in modified atmospheres. *Journal Stored Products Research*, 83, 54-60.
- Iturralde-García, R.D., Wong-Corral, F.J., Castañé, C., Riudavets, J. (2020). Susceptibility of *Rhizopertha dominica* to high CO₂ modified atmospheres in packaged chickpeas. *Journal Stored Products Research*, 85, 101-537.
- Iturralde-García, R.D., García-Regueiro, J.A., Castañé, C., Riudavets, J. (2019). Sorption of carbon dioxide by chickpeas packaged in modified atmospheres. *Journal Stored Products Research*, 83, 54-60.
- International Seed Testing Association (ISTA). (2014). International Rules for Seed Testing. 65-80. Zurich, Switzerland.
- Jayas, D.S. (2012). Grain storage for food security and sustainability. *Agricultural Research*, 1: 21-24.
- Ježek, L. P., Plecítá-Hlavatá, K., Smolková, R. (2010). Distinctions and similarities of cell bioenergetics and the role of mitochondria in hypoxia, cancer, and embryonic development. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 42 (5): 604–622.
- Jian, F., Jayas, D.S., White, N.D.G. (2000). Toxic action of phosphine on the adults of copra mite *Tyrophagus putrescentiae* (Astigmata: Acaridae). *Journal Phytoprotection*, 81 (1): 23-28.
- Jian, F., Chelladuraim, V., Jayas, D.S., Demianyk, C.J., White, N.D.G. (2014). Interstitial concentrations of carbon dioxide and oxygen in stores canola, soybean and wheat seeds under various conditions. *Journal of Stored Products Research*, 57, 63-72.
- Jonfia, W.A., Navarro, S., Villers, P. (2010). Hermetic storage: a novel approach to the protection of cocoa beans. *African Crop Science Journal*, 18, 59-68.
- Joshi, M., Aldred, P., McKnight, S., Panozzo, J.F., Kasapis, S., Adhikari, R., Adhiraki, B. (2013). Physicochemical and functional characteristics of lentil starch. *Carbohydrate Polymers*, 92 (2): 1484-1496.
- Krishnan, N., Velramar, B., Velu, R. K. (2019). Investigation of antifungal activity of surfactin against mycotoxigenic phytopathogenic fungus *Fusarium moniliforme* and its impact in seed germination and mycotoxicosis. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 155, 101-107.

- Longstaff B. C. (1994). The management of stored product pests by non-chemical means: an Australian perspective. *Journal of Stored Products Research*, 30, 179-185.
- Lugwing, V., Pasquetti, B.M.R., Portella, R.F., Malmann, W.L., Eliseu, S.E., Both, V., Brackmann, A. (2021). Impact of controlled atmosphere storage on physiological quality of soybean seed. *Journal Stored Products Research*, 90:101749.
- Matilla, Angel Jesús. (2008). *Fundamentos de Fisiología Vegetal. Desarrollo y germinación de las semillas*. Santiago de Compostela. Ed. McGraw Hill.
- Mbata, G.N., Hetz, S.K., Reichmuth, C., Adler, C. (2000). Tolerance of pupae and pharate adults of *Callosobruchus subinnotatus* Pic (Coleoptera: Bruchidae) to modified atmospheres: a function of metabolic rate. *J. Insect Physiol.*, 46, 145-151.
- Mbata, G.N., Philips, T.W., Payton, W. (2004). Mortality of egg of stored-product insect held under vacuum: effects of pressure, temperature, and exposure time. *Journal of Economic Entomology*, 97, 695-702.
- Mitsuda, H., Kawai, F., Kuga, M., Yamamoto, A. (1973). Mechanisms of carbon dioxide gas adsorption by grains and its application to skin-packaging. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 19, 71-83.
- Mitsuda, H., Yamamoto, A. (1980). *Advances in grain storage in a CO₂ atmosphere in Japan*. In: *Proc. Int. Symp. on Controlled Atmosphere Storage of Grains*. Ed. Elsevier, Amsterdam. pp. 235-266.
- Morales-Gómez, J.A., Durón.Noriega, L.J., Martínez-Díaz, G., Nuñez-Moreno, J.H., Fu-Castillo, A. (2004). *El cultivo del garbanzo blanco en Sonora*. Libro Técnico INIFAP, Num. 6: 11-22.
- Moreno-Martinez, E., Jimenez, A.S., Vazquez, M.E. (2000). Effect of *Sitophilus zeamais* and *Aspergillus chevalieri* on the oxygen level in maize stored hermetically. *Journal of Stored Products Research*, 36, 25-36.
- Mutungu, C.M., Affognon, H., Njoroge, A.W., Baributsa, D., Murdock, L.L. (2014). Storage of mung bean (*Vigna radiata* [L.] Wilczek) and pigeonpea grains (*Cajanus cajan* [L.] Millsp) in hermetic triple-layer bags stops losses caused by *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 58, 39-47.
- Nakakita, H., Katsumata, Y., Ozawa, T. (1971). The effect of phosphine on respiration of rat liver mitochondria. *Journal of Biochemistry*, 69 (3): 589–593.

- Nasar-Abbas, S.M., Plummer, J.A., Siddique, H.M., White, P., Harris, D., Dods, K. (2007). Cooking quality of faba bean after storage at high temperature and the role of lignins and other phenolics in bean hardening. *Food Science and Technology* 47(7): 1260-1267.
- Nasar-Abbas, S.M., Plummer, J.A., Siddique, H.M., White, P., Harris, D., Dods, K. (2007). Cooking quality of faba bean after storage at high temperature and the role of lignins and other phenolics in bean hardening. *Food Science and Technology* 47(7): 1260-1267.
- Navarro S, Varnava A., Donahaye E. (1993). Preservation of grain in hermetically sealed plastic liners with particular reference to storage of barley in Cyprus. In: Navarro, S. 2012. The use of modified and controlled atmospheres for the disinfection of stored products. *Journal of Pest Science*, 85, 301–322.
- Navarro, S., Donahaye, E., Fishman, S. (1994). The future of hermetic storage of dry grains in tropical and subtropical climates. In: Navarro, S. 2012. The use of modified and controlled atmospheres for the disinfection of stored products. *Journal of Pest Science*, 85, 301–322.
- Navarro, S. (1997). Sorption of carbon dioxide by wheat. In: Donahaye, E.J., Navarro, S., Varnava, A. *Proceedings of the International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products*. 21-26 April 1996. Printco Ltd., Nicosia, Cyprus, pp. 193-202.
- Navarro, S. (2006). Modified atmospheres for the control of stored products insects and mites. In: The use of modified and controlled atmospheres for the disinfection of stored products. *Journal of Pest Science*, 85, 301–322.
- Navarro, S. (2012). The use of modified and controlled atmospheres for the disinfection of stored products. *Journal of Pest Science*, 85, 301–322.
- Neugschwandtner, R.W., Wichmann, S., Gimplinger, D.M., Wagentristl, H., Kaul, H.P. (2013). Chickpea performance compared to pea, barley and oat in central Europe: growth analysis and yield. *Turkish Journal of Field Crops*, 18(2): 179-184.
- New, J.H., Rees, D.P. (1988). Laboratory studies on vacuum and inert gas packing for the control of stored-product insects in foodstuffs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 43, 235–244.
- Nizakat, B., Khattak, A.B., Khattak, G.S.S., Mehmood, Z., Insanullah, I. (2017). Quality and consumers acceptability studies and their inter-relationship of newly evolved desi type chickpea genotypes (*Cicer arietinum* L.). Quality evolution of new chickpea genotypes. *Food Science Technology*

- Nozzolillo, C., De Bezada, J.M. (1984). Browning of lentil seeds, concomitant loss of viability and the possible role of soluble tannins in both phenomena. *Journal Plant Science*, 64, 815–819.
- Ofuya, T.I., Reichmuth, C. (1992). Mortality of the Cowpea Bruchid, *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) in a highly elevated carbon dioxide atmosphere. Proceedings of the First European Conference on Grain Legumes, Angers, France, pp. 365–366.
- Ospina, M.M., Cartagena, V.J.R. (2008). La atmósfera modificada: una alternativa para la conservación de los alimentos. *Revista Lasallista de Investigación*, 5 (2)
- Padmasri, A., Kumar, B.A., Kumari, J.A., Srinivas, C. (2017). Management of pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* L. in redgram by modified atmosphere. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 6, 414-417.
- Pascua, G.F.S., Bayogan, E.R.V., Salaipeh, L., Photchanachai, S. (2021). Pretreating *Callosobruchus maculatus* (F.) eggs in mung bean with modified atmosphere conditions influence its adult emergence and survival *Journal Stored Products Research*, 91, 101-1110.
- Pimentel, M.A.G., Faroni, L.R., D.A., Guedes, R.N.C., Sousa, A.H., T´otola, M.R. (2009). Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Journal Stored Products Research* 45,71–74.
- Potter, W.T., Garry, V.F., Kelly, J.T., Tarone, R., Griffith, J., Nelson, R.L. (1993). Radiometric assay of red cell and plasma cholinesterase in pesticide applicators from Minnesota. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 119 (1): 150-155.
- Rani, P.R., Chelladurai, V., Jayas, D.S., White, N.D.G., Kavitha, A. (2013). Storage studies on pinto beans under different moisture contents and temperature regimes. *Journal of Stored Products Research*, 52, 78-85.
- Renteria, G.T.R. (1987). Evaluación de la incidencia y control de *Callosobruchus maculatus* F (Coleoptera: Bostrichidae) en variedades y líneas de garbanzo (*Cicer arietinum* L.). (Tesis de maestría). Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. Universidad de Sonora. pp 83-85.
- Reyes-Moreno, C., Okamura-Esparza, J., Armienta-Rodelo, E., Gomez-Garza, R. M., Milan-Carrillo, J. (2000). Hard-to-cook phenomenon in chickpeas (*Cicer arietinum* L): Effect of accelerated storage on quality. *Plant Foods for Human Nutrition*, 55(3): 229–241.

- Rice-Evans, C., Miller, N.J., Bolwell, P.G., Bramley, P.M., Pridham, J.B. (1995). The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 22, 375-383.
- Riudavets, J., Castañé, C., Alomar, O., Pons, M.J., Gabarra, R. (2009). Modified atmosphere packaging (MAP) as an alternative measure for controlling ten pests that attack processed food products. *Journal of Stored Products Research*, 45, 91-96.
- Robertson, J.L., Jones, M.M., Olguin, B.A. (2017). *Bioassays with Arthropods*. (third, ed). Boca Raton, FL. CRC Press,
- Rodríguez, J. C., Bartosik, R.E., Malanarich, H.D., Exiilart, J.P., Nolasco, M.E. 2010. Almacenaje de granos en bolsas plásticas: Sistema silobag. <http://www.engormix.com>
- Romero-Baranzini, A.L., Barrón-Hoyos, J.M., Falcón-Villa, M.R., Anduagca-Cota, R. (2014). Evaluación de la calidad comercial y tecnológica de variedades y líneas avanzadas de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) cosechadas en el noroeste de México. *Revista Biotecnia*, 16 (1).
- SAGARPA. (2011). *Ficha Técnica sobre Actividades Agrícolas, Pecuarias y de Traspasamiento – Almacenamiento y Conservación de Granos y Semillas*. <http://www.sagarpa.gob.mx/>
- Sali, A., Kaul, H. P., Rusinovci, I., Shala, V. (2016). Genetic diversity for some nutritive traits of chickpea (*Cicer arietinum* L.) from different regions in Kosovo. *Turkish Journal of Field Crops*, 21, 155-160.
- Sarma, B.K., Singh, D.P., Metha, H.B., Singh, U.P. (2002). Plant growth promoting rhizobacteria-elicited alterations in phenolic profile of chickpea (*Cicer arietinum* L.) infected by *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Phytopathology*, 150, 277-282.
- SAS Institute Inc., Cary NC (2018). pp. 1998-2018.
- Scariot, M.A., Lourenco, R.L., Gomes, D.R., Ricardo, T.J., Mossi, A.J., Reichert, J.F.W. (2018). Quality of wheat grains harvested with different moisture contents and stored in hermetic and conventional system. *Journal Stored Products Research*, 75, 29-34.
- Shazali, M.E.H., Imamura, T., Miyanoshta, A. (2004). Mortality of eggs of the cowpea bruchid, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) in carbon dioxide under high pressure. *Applied Entomology and Zoology*, 39, 49-53.
- SIAP (2020). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, SAGARPA, México.

- Singh, U.P., Subrahmanyam N., Kumar J. (1991). Cooking quality and nutritional attributes of some newly developed cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 55, 37–46.
- Singh, U. P., Sarma, B. K., Singh, D.P. (2003). Effect of plant growth promoting rhizobacteria and culture filtrate of *Sclerotium rolfsii* on phenolic and salicylic acid contents in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Current Microbiology*, 46, 133-140.
- Sorour, H., Uchino, T. (2004). Effect of Changing Temperature on the Deterioration of Soy Beans. *Biosystems Engineering*, 87(4): 453-462.
- Spratt, E.C. 1984. The effect of atmospheres containing 5-20% oxygen with and without 10% carbon dioxide on the productivity of *Tribolium castaneum* (Herbst) and *T. confusum* Du Val (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal Stored Products Research*, 20, 199-203.
- Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (2000). *Alternatives to pesticides in stored-products*. Media. New York. Springer Science Business
- (USDA). United States Department of Agriculture. (2004). Handbook of the Bruchidae of the United States and Canada. Agriculture Research Service. Technical Bulletin Number (1): 1912: 83-85.
- Vanier, N.L., Rupollo, G., Paraginski, K., Tadeu, R., Oliveira, M.E. (2014). Effects of nitrogen-modified atmosphere storage on physical, chemical and technological properties of Carioca bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Current Agricultural Science and Technology*, 20, 10-20.
- Villers, P., De Bruin, T., Navarro, S. (2006). Development and applications of the hermetic storage technology. In: Garcia-Lara, S., Ortiz-Islas, S., Villers, P. 2013. Portable hermetic storage bag resistant to *Prostephanus truncatus*, *Rhyzopertha dominica*, and *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Stored Products Research*, 54, 23-25.
- Walker, S., Jaime, R., Kagot, V., Probst, C. (2018). Comparative effects of hermetic and traditional storage devices on maize grain: Mycotoxin development, insect infestation and grain quality. *Journal Stored Products Research*, 77, 34-44.
- Warner, S.A.R., Rocha, B.D., Akio, F.R., Nucci, P.J. (2012). Effect of carbon dioxide, temperature and storage on soybean seeds and associated mycoflora. *Revista Ciencia Agronomica*, 43(3): 554-560.
- Wong-Corral, F.J., Castañé, C., Riudavets, J. (2013). Lethal effects of CO₂-modified atmospheres for the control of three Bruchidae species. *Journal Stored Products Research*, 55: 62 67.

- White, N.D.G., Jayas, D.S., Muir, W.E. (1995). Toxicity of carbon dioxide at biologically producible levels to store-product beetles. *Environmental Entomology*, 24, 640-647.
- Yamamoto, A., Mitsuda, H. (1980). *Characteristics of carbon dioxide gas adsorption by grain and its components. Controlled atmosphere storage of grains*. Elsevier, Amsterdam. Vol 1 pp. 247-258.
- Yan Yan, S., Williams, C., Baributsa, D., Murdock, L.L. (2016). Hypoxia treatment of *Callosobruchus maculatus* females and its effects on reproductive output and development of progeny following exposure. *Insects*, 7, 26-30.
- Yixiang, X., Thomas, M., Harbans, L.B. (2014). Chemical composition, functional properties and microstructural characteristics of three Kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by different cooking methods. *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 1215-1223.