Biblioteca Digital
F C E N - U B A

BIBLIOTECA CENTRAL LUIS F LELOIR
BIBLIOTECA CENTRAL LELOIR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES UBA

Tesis de Posgrado

Prevención de la contaminación por hongos toxigénicos y sus micotoxinas en una leguminosa, Poroto (Phaseolus vulgaris L.): parámetros de almacenamiento, flora fúngica contaminante, probables micotoxinas

Castillo, Marcelo Daniel

2002

Tesis presentada para obtener el grado de Magister de la Universidad de Buenos Aires en el área de Bromatología y Tecnología de la Industrialización de Alimentos de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:
Castillo, Marcelo Daniel. (2002). Prevención de la contaminación por hongos toxigénicos y sus micotoxinas en una leguminosa, Poroto (Phaseolus vulgaris L.): parámetros de almacenamiento, flora fúngica contaminante, probables micotoxinas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3462_Castillo.pdf

Cita tipo Chicago:
Castillo, Marcelo Daniel. "Prevención de la contaminación por hongos toxigénicos y sus micotoxinas en una leguminosa, Poroto (Phaseolus vulgaris L.): parámetros de almacenamiento, flora fúngica contaminante, probables micotoxinas". Tesis de Magister. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2002.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3462_Castillo.pdf

EXACTAS UBA
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

UBA
Universidad de Buenos Aires

Dirección: Biblioteca Central Dr. Luis F. Leloir, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Intendente Güiraldes 2160 - C1428EGA - Tel. (++54 +11) 4789-9293

Contacto: digital@bl.fcen.uba.ar

"Prevención de la contaminación por hongos toxigénicos y sus micotoxinas en una leguminosa, Poroto (*Phaseolus vulgaris* L.): parámetros de almacenamiento, flora fúngica contaminante, probables micotoxinas"

MARCELO DANIEL CASTILLO

DIRECTOR: DRA. ANA M. PACIN
CODIRECTOR: DR. HÉCTOR H. L. GONZÁLEZ

Nº 34627

Tesis presentada para optar al título de Magister de la Universidad de Buenos Aires en el área de Bromatología y Tecnología de la Industrialización de Alimentos

2002

Universidad de Buenos Aires

A mis Padres

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Ana M. Pacin y al Dr. Héctor Horacio Lucas González por su guía científica, orientación y estímulo para la elaboración de esta tesis.
A la Dra. Silvia L. Resnik por su inapreciable aporte científico y dedicación en las diferentes etapas de este trabajo.
A la Dra. Elena Julia Martínez por su valioso y cálido aporte del análisis estadístico de los datos.
A la Lic. Josefina M. Fili y a todo el grupo de trabajo de la Estación Experimental Agrícola Salta del INTA por su colaboración y apoyo en la concreción de este trabajo.
A la Sra. María Elena Módena y a los MSc. Leticia L. Broggi, Gustavo A. Moltó y María M. Samar por su apoyo y amistad.
A los Departamentos de Industrias y Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos, donde realicé la mayor parte del trabajo experimental.
Por el apoyo económico recibido a la Universidad de Buenos Aires, a la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, al Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas, y a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica.

Marcelo Daniel Castillo

INDICE GENERAL

1.	**INTRODUCCION**	**4**
2.	**OBJETIVOS**	**53**
3.	**METODOLOGIA**	**54**
4.	**RESULTADOS Y DISCUSION**	**79**
5.	**CONCLUSIONES**	**116**
6.	**BIBLIOGRAFIA**	**118**
7.	**ANEXOS**	**126**

1. INTRODUCCION *4*

1.I. Producción y Comercio del poroto 4

1.I.1. Situación Mundial 4

1.I.2. Situación en la República Argentina 10

1.II.Descripción del material estudiado 14

1.II.1. Origen, domesticación, y evolución del poroto común 14

1.II.2. Taxonomía 14

1.II.3. Descripción botánica de *Phaseolus vulgaris* L. 16

1.II.4. Terminología Descriptiva 19

1.II.5. Tipos y clasificación de los porotos 21

1.II.6. Aspectos nutricionales del poroto común 26

1.II.6.a. Regiones más importantes de consumo 26

1.II.6.b. Composición nutricional 27

1.II.6.c. Aporte nutricional por consumo de porotos a nivel mundial 28

1.II.7. Aspectos agroecológicos del poroto común 33

1.II.7.a. Factores ambientales que influyen en el cultivo 33

1.II.7.b. Factores bióticos que afectan el rendimiento 35

1.III. Micoflora asociada al poroto común 37

1.IV. Almacenamiento. Isotermas de Sorción 44

2. OBJETIVOS *53*

3. METODOLOGIA *54*

3.I. Muestreo. Diseño experimental. Condiciones metereológicas 54

3.II.Micoflora 58

3.II.1. Aislamiento de la micoflora contaminante 58

3.II.1.a. Equipos y medios de cultivo para el aislamiento 58

3.II.1.b. Procedimiento para el aislamiento de la micoflora contaminante 58

3.II.2. Identificación de la micoflora contaminante 59

3.II.2.a. Equipos y medios para la identificación 59

3.II.2.b. Procedimiento para la identificación de la micoflora contaminante 61

3.II.2.b.1. Identificación de los aislados de *Fusarium* *62*

3.II.2.b.2. Identificación de los aislados de *Aspergillus* y *Penicillium* 63

3.II.2.b.3. Identificación de aislados de otros géneros 64

3.II.3. Expresión de los resultados y métodos estadísticos 65

3.II.3.a. Frecuencia de aislamiento y densidad relativa de géneros y especies 65

3.II.3.b. Test Asintótico para igualdad de proporciones 65

3.II.3.c. Test exacto de Fisher 68

3.II.3.d. Análisis de Varianza 69

3.III. Isotermas de Sorción 70

3.III.1. Determinación de humedad 71

3.III.2. Determinación de las isotermas 72

3.III.3. Modelos matemáticos de ajuste 73

3.III.4. Expresión de los resultados y métodos estadísticos empleados 76

4. RESULTADOS Y DISCUSION 79

4.I.Micoflora 79

4.I.1. Micoflora endógena del poroto negro cosechado en la provincia de Salta, en las localidades de Cerrillos, Metán y Pichanal en 1.999 79

4.I.2. Comparación de la flora fúngica entre localidades 90

4.I.3. Comparación de la flora fúngica entre las variedades y las localidades 95

4.I.3.a. Número de aislamientos 97

4.I.3.b. Densidades relativas 100

4.II. Isotermas de sorción 108

4.II.1. Determinación de humedad 108

4.II.2. Determinación de las Isotermas de Sorción 109

4.II.3. Evaluación de las ecuaciones matemáticas estudiadas 111

5. CONCLUSIONES 116

6. BIBLIOGRAFÍA 118

7. ANEXOS 126

1. INTRODUCCION

1.I. Producción y Comercio del poroto

1.I.1. Situación Mundial

El cultivo de porotos secos a nivel mundial es variado y se caracteriza por el cultivo de especies del género *Phaseolus* y de otros géneros tales como *Vigna*, que aparecen en países de los continentes europeo y asiático, especialmente en el segundo. La superficie mundial varía año a año y tal como puede observarse en el figura **1.I.1.a** existe una cierta tendencia positiva de tal manera que para el año 2.005 se estima una superficie total mundial cercana a los 29 millones de hectáreas.

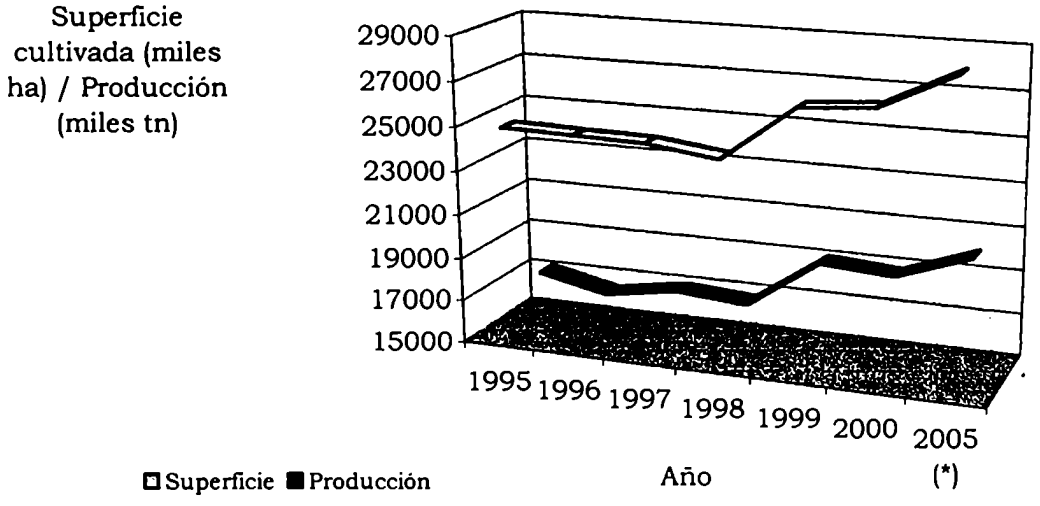


Figura 1.I.1.a: **Producción mundial de porotos secos. Evolución histórica 1.995-2.005(*). Fuente FAOSTAT (1.998), INTA EEA Salta (2.001). (*) estimativo.**

La misma tendencia se observa cuando hablamos de la producción mundial total de porotos, que para el año 2.005 se estima en 20 millones de toneladas. Las tablas **1.I.1.a** y **1.I.1.b** contienen los datos de producción mundial en diferentes continentes para los años 1.990-1.997 y 1.998-2.005, respectivamente. La necesidad de separar los datos entre los años 1.997 y 1.998 en adelante surge debido a que hasta 1.997 se disponía de los datos

de Europa occidental y sólo estimativos para los países de Europa oriental. Esto fue necesario ya que es muy importante destacar la participación de Bielorrusia como uno de los principales productores de porotos secos de Europa.

Tabla 1.I.1.a. **Producción mundial de porotos secos (miles de toneladas). Evolución histórica del período 1.990-97.**

Países	1.990	1.991	1.992	1.993	1.994	1.995	1.996	1.997
América	**6.190**	**6.928**	**5.717**	**5.852**	**7.236**	**6.869**	**6.628**	**6.546**
Argentina	226	274	213	165	193	238	224	288
Brasil	2.233	2.749	2.799	2.480	3.368	2.946	2.822	2.990
Colombia	132	108	120	122	135	160	160	139
Guatemala	118	112	115	100	91	90	80	82
México	1.287	1.379	719	1.288	1.364	1.271	1.349	984
Nicaragua	71	72	64	77	74	88	75	90
Venezuela	52	51	38	30	27	34	31	32
El Salvador	53	67	62	62	61	51	58	67
Estados Unidos	1.469	1.532	1.026	994	1.317	1.398	1.268	1.323
Canadá	105	125	123	131	171	200	123	150
Otros Países	444	459	438	403	435	393	438	401
Europa	**430**	**505**	**303**	**290**	**249**	**299**	**265**	**266**
Grecia	24	27	27	23	24	24	24	24
Italia	36	35	34	37	28	24	23	22
Portugal	41	38	22	17	15	15	15	14
Holanda	46	52	39	43	13	44	30	43
Yugoslavia	0	0	125	94	112	124	106	106
Irlanda	5	5	9	18	17	17	17	17
Otros Países	278	348	47	58	40	51	50	40
Asia	**8.413**	**6.784**	**7.262**	**7.275**	**7.680**	**7.815**	**8.287**	**8.075**
China	1.817	692	591	1.260	1.511	1.411	1.543	1.313
India	4.086	3.529	3.871	3.275	3.327	3.400	3.500	3.600
Indonesia	700	638	849	796	850	810	860	870
Japón	150	133	102	72	109	138	130	130
Corea	325	330	310	290	300	250	270	270
Myanmar	264	352	485	578	591	745	935	844
Tailandia	303	304	291	231	256	234	217	212
Vietnam	94	94	93	106	122	115	110	110
Paquistán	93	88	90	98	107	119	118	115
Otros Paises	581	624	580	569	507	593	604	611
Africa	**2.653**	**2.767**	**2.665**	**2.852**	**2.943**	**3.148**	**3.151**	**3.148**
Oceanía	**17**	**22**	**19**	**32**	**21**	**24**	**50**	**37**
.	**17.703**	**17.006**	**15.966**	**16.301**	**18.129**	**18.155**	**18.381**	**18.072**

Fuente: FAOSTAT (1.998), Tubello y Piccolo (1.998)

Tabla 1.I.1.b. **Producción mundial de porotos secos (miles de toneladas). Período 1.998-2.000 y estimativo 2.005.**

Países	**1.998**	**1.999**	**2.000**	**Estimativo 2.005**
Asia	**8.096**	**9.724**	**9.395**	**10.655**
China	1.577	1.510	1.380	2.070
India	3.000	4.620	4.340	4.263
Mianmar	1.078	1.150	1.229	1.750
Indonesia	900	900	900	1.029
Resto	1.541	1.544	1.546	1.543
América	**6.135**	**6.850**	**6.849**	**6.824**
Argentina	293	354	306	379
Brasil	2.191	2.817	3.037	2.723
México	1.261	1.080	1.158	962
E.E.U.U.	1.380	1.501	1.199	1.419
Resto	1.010	1.098	1.149	1.341
Europa	**604**	**577**	**628**	**703**
Bielorusia	144	101	180	241
España	22	22	23	15
Polonia	48	44	44	44
Ucrania	48	70	50	67
Rumania	47	48	40	46
Italia	20	21	22	15
Resto	275	271	269	275
Africa	**1.852**	**1.872**	**1.916**	**1.818**
Burundi	275	227	187	143
Uganda	270	300	330	183
Tanzania	250	255	255	275
Ruanda	154	140	215	159
Congo	141	133	125	177
Camerún	95	98	100	120
Resto	667	719	704	761
	16.687	**19.023**	**18.788**	**20.000**

Fuente: FAOSTAT (1.998), INTA EEA Salta (2.001)

El continente asiático es el de mayor producción mundial, con un promedio (1.996-2.000) de alrededor de 6,5 millones de toneladas, representando cerca del 50 % de la producción mundial total. Los principales países en orden de importancia son: India, China y Mianmar; la participación de dichos países dentro del continente asiático puede

observarse en la figura **1.I.1.b** y tabla **1.I.1.b**. Es destacable mencionar el crecimiento de Mianmar como país productor ya que la tasa de crecimiento es del 3,7 % anual a ritmo sostenido durante toda la década del ´90, llegando para el año 2.000, con una producción de 1,23 millones de toneladas constituyéndose como el tercer país productor en importancia. Resumiendo la participación de los tres países alcanza al 74 % del total, que sumado a la tasa anual registrada para los últimos diez años, hace prever un aumento considerable para las siguientes campañas, como se refleja en las proyecciones consideradas hacia el año 2.005 (total continental: aprox. 10,7 millones de toneladas). Debe aclararse que en los datos de producción de los principales países del continente asiático, se cultiva además del género *Phaseolus* (poroto), el género *Vigna* (comercialmente mungo-adzuki, entre otros), que también se les denominan porotos, y que la estadística de la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAOSTAT, 1.998), no los desglosa, agrupándolos conjuntamente (tabla **1.I.1.a**).

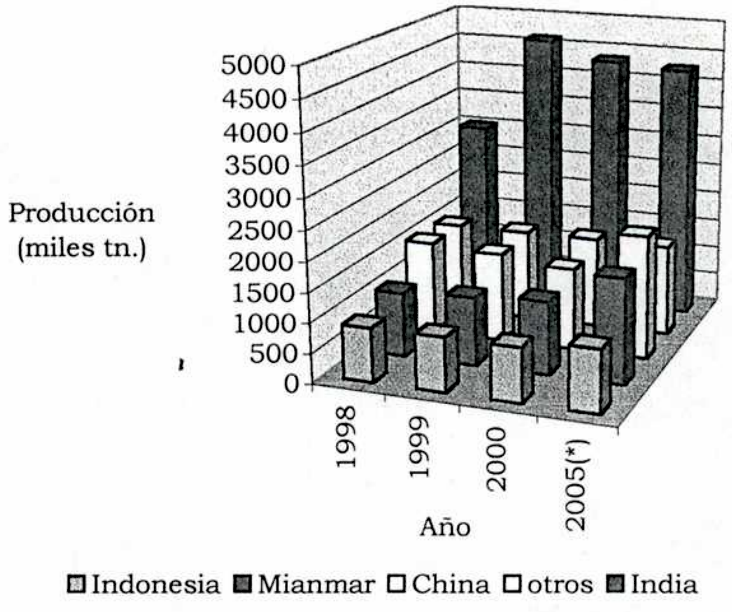


Figura 1.I.1.b. **Principales productores en el período 1.998/2.000 y proyección 2.005 en el continente asiático. (*) estimativo**

El continente americano es el segundo gran productor mundial siendo Brasil el país más importante, tal como lo representa las tablas **1.I.1.a** y

1.I.1.b. Como puede observarse en la figura **1.I.1.c** en las últimas diez campañas agrícolas la producción se mantuvo constante. Como excepción puede mencionarse que en el año 1.994 hubo record de producción con 7,2 millones de toneladas, con una participación del 40 % del total mundial.

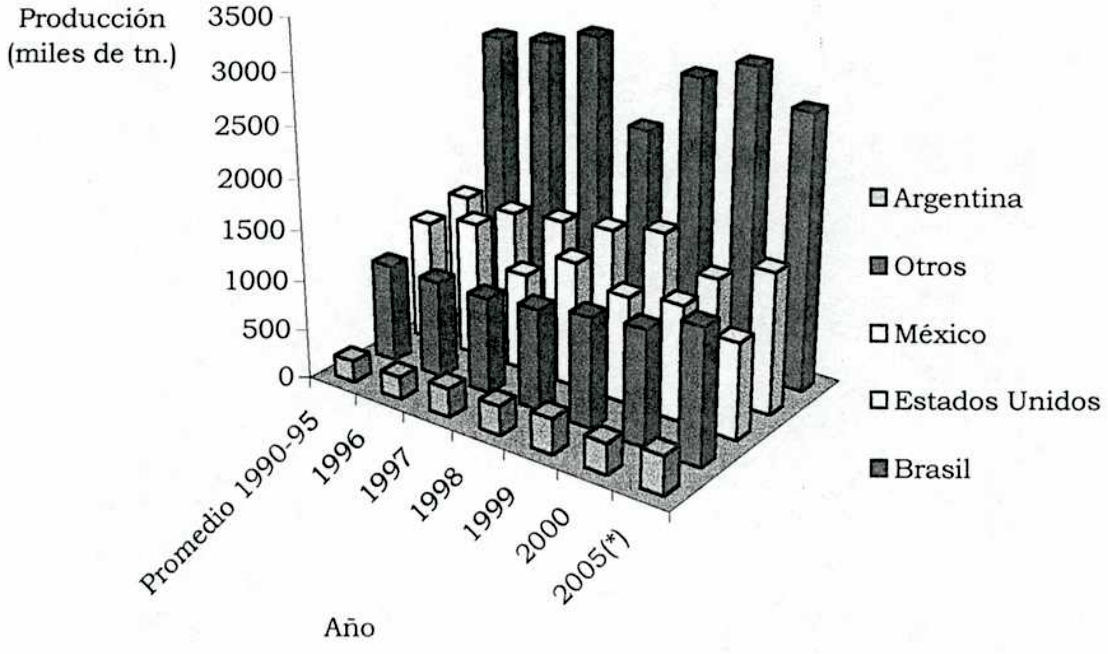


Figura 1.I.1.c. **Evolución histórica de la producción de porotos secos en el continente americano. Período 1.990-2.000 con proyección 2.005. (*) estimativo**

Prácticamente todos los países de América cultivan el poroto (específicamente el género *Phaseolus*), y gran parte de los mismos, especialmente los centroamericanos, tienen incorporado el producto a su dieta. La evolución en la última década y para los principales países productores puede observarse en la figura **1.I.1.b**. Para la cosecha 1.999, Brasil fue el más importante con una participación del 41 %, luego Estados Unidos con el 22 % de la producción continental, seguido de México y Argentina con 16 y 5%, respectivamente. Pero es de destacar que nuestro país es el principal productor de porotos tipo alubia (*Phaseolus coccineus*) con el 98 % de la producción del continente americano. A diferencia del

continente asiático las proyecciones hacia el 2.005 nos indican una disminución de la producción brasileña de porotos secos con un leve aumento para los países menos productores, generando un balance global sin grandes diferencias con respecto a la década del 90.

El continente africano, se encuentra en tercer orden, con una producción promedio anual de 2,9 millones de toneladas (período 1.990-97, tabla **1.I.1.a**), significando un 16,8 % del total mundial. La evolución observada en los últimos cinco años (1.990-1.997) muestra una leve tendencia positiva en la producción, y al igual que los países asiáticos se cultivan tanto el género *Phaseolus* como *Vigna*. Al igual que el continente americano no se vislumbra un aumento sustancial hacia el año 2.005 de la producción total continental.

En cuanto al continente europeo, la producción promedio años 1.990-97 está en el orden de las 0,32 millones de toneladas con una participación promedio mundial de 1,8 %. Con dicha producción no se satisface la demanda local de este tipo de producto, por lo que se constituye como el principal comprador de porotos secos del mundo.

En líneas generales en la década de los noventa la producción de porotos secos en el mundo no ha mostrado variaciones significativas, pero el crecimiento de grandes países productores asiáticos tales como China y Mianmar permiten predecir aumentos en la producción total mundial (proyección 2.005, figura **1.I.1.a**).

1.I.2. Situación en la República Argentina

En la tabla **1.I.2.a** se resume la producción nacional de porotos secos en los últimos años. El Noroeste Argentino (NOA), es el área productora tradicional de poroto en nuestro país, siendo la provincia de Salta, la que lidera la participación, se observa que según los años, se ubica entre un 64,4 a 83,0 % del volumen total de la producción. Otras provincias productoras dentro de la región NOA son Santiago del Estero, Jujuy y Tucumán. Además

de lo mencionado, en la región NEA encontramos otras zonas productoras de porotos en las provincias de Chaco y Formosa, así como en la región Centro del país, en la provincia de Córdoba. La evolución histórica de la producción nacional de porotos secos se observa en la figura **1.I.2.a**, con claro predominio de la provincia de Salta. La década de los noventa se caracterizó por el cultivo de porotos negros, con un menor desarrollo de los tipos alubia y otros, este cambio fue provocado fundamentalmente por la apertura de los mercados internacionales. El predominio del cultivo de porotos negros fue desapareciendo en los últimos tres años con aumento en la producción de porotos tipo alubia por una disminución del comercio con Brasil y un mayor intercambio comercial con los mercados europeos.

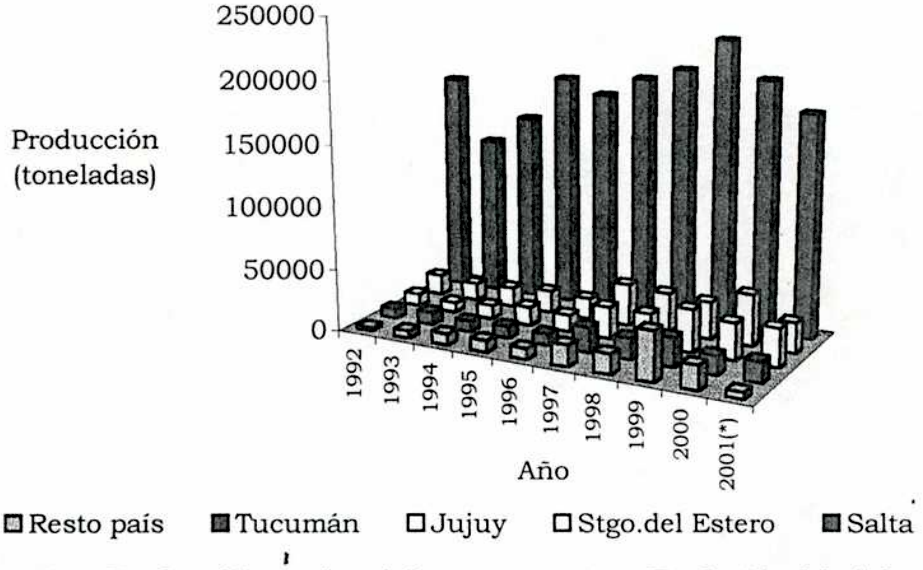


Figura 1.I.2.a. **Producción nacional de porotos secos. Evolución histórica del período 1.992-2.001.**

Respecto a los volúmenes totales producidos, y tomando datos de los últimos años tenemos en el año 1.990 una producción de 226.000 toneladas (se incluyen todo tipo de porotos), luego cae significativamente en los años 92, 93 y 94, producto de situaciones de clima y precios, pero a partir del '95 comienza una tendencia ascendente, para llegar al año 1.999 con 355.795 toneladas que significan un aumento de casi un 60 % respecto al año inicial tomado en consideración (año 1.990). Debemos tener en cuenta también la

caída producida en los últimos años por las mismas razones mencionadas para los años 1.992-94, con menor demanda por parte del Brasil y de otros paises compradores de porotos negros, influyendo sobre los volúmenes totales producidos. Lo mencionado anteriormente puede ser observado tanto en la tabla **1.I.2.b** como en la figura **1.I.2.b**.

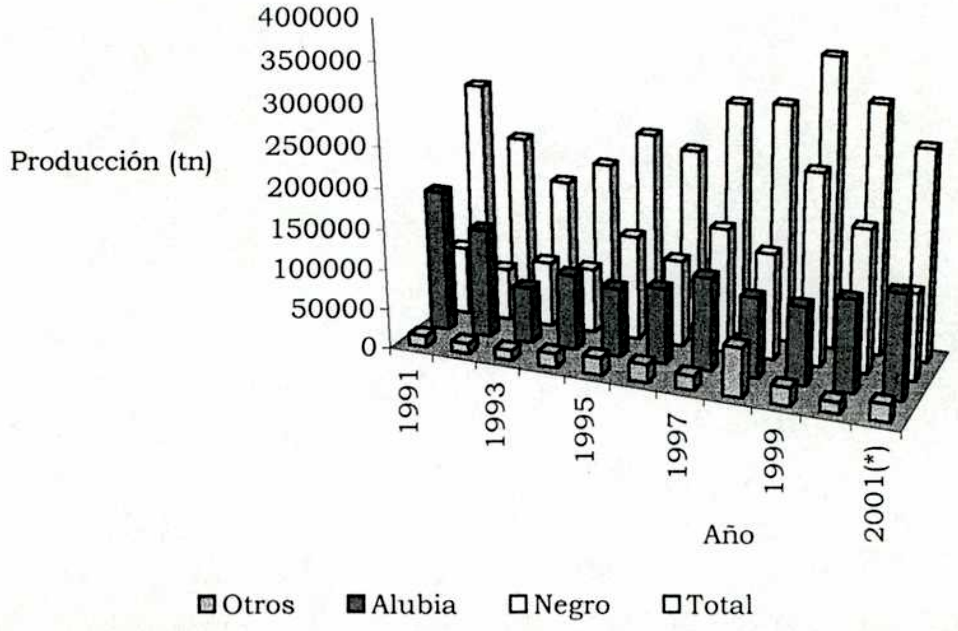


Figura 1.I.2.b. **Producción argentina de porotos secos. Evolución histórica del período 1991/2.001.**

Tabla 1.I.2.a. **Producción argentina de poroto secos (en toneladas). Evolución histórica del período 1.990-2.001.**

Provincias	**1.990**	**1.991**	**1.992**	**1.993**	**1.994**	**1.995**	**1.996**	**1.997**	**1.998**	**1.999**	**2.000**	**2.001(*)**
Salta	147.578	193.170	176.790	127.223	150.137	186.575	176.201	192.530	202.918	229.240	200.852	178.120
Stgo.Estero	38.872	36.442	15.975	14.008	15.285	17.826	16.835	33.370	31.529	29.590	41.343	24.380
Jujuy	17.402	17.536	9.798	7.910	10.641	14.498	13.692	25.362	25.223	34.210	29.328	30.720
Tucumán	16.950	21.098	7.668	10.053	8.513	9.507	8.978	19.584	17.116	23.100	15.166	16.544
Córdoba	0	0	0	1.318	3.289	3.565	3.367	6.678	6.305	990	784	392
Resto del País	5.198	5.754	2.769	4.285	5.611	5.704	5.387	10.676	9.909	38.665	18.662	4.982
Total	**226.000**	**274.000**	**213.000**	**164.797**	**193.476**	**237.675**	**224.460**	**288.200**	**293.000**	**355.795**	**306.135**	**255.138**

(*)Estimaciones sobre superficie sembrada al 16/03/01
Fuente: CLERA(1.999), INTA EEA Salta (2.001)

Tabla 1.I.2.b. **Producción argentina de porotos secos (en toneladas). Tipos de porotos. Evolución histórica del período 1.990-2.001**

Tipos de porotos	**1.990**	**1.991**	**1.992**	**1.993**	**1.994**	**1.995**	**1.996**	**1.997**	**1.998**	**1.999**	**2.000**	**2.001(*)**
Alubia	90.000	175.000	135.000	70.406	94.238	86.281	93.970	116.000	99.620	96.910	114.374	130.200
Negro	130.000	85.000	65.000	81.618	81.375	129.630	107.880	154.200	131.850	236.555	177.425	104.834
Otros	6.000	14.000	13.000	12.773	17.863	21.764	22.610	18.000	61.530	22.330	14.336	20.104
Total	**226.000**	**274.000**	**213.000**	**164.797**	**193.476**	**237.675**	**224.460**	**288.200**	**293.000**	**355.795**	**306.135**	**255.138**

(*)Estimaciones sobre superficie sembrada al 16/03/01
Fuente: CLERA (1.999) y la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación de la Nación (2.002).

1.II. Descripción del material estudiado

1.II.1. Origen, domesticación, y evolución del poroto común

El término "Poroto" deriva del quechua "purutu" y es el nombre auténtico de la especie, por corresponder al lenguaje del pueblo que probablemente domesticó la especie y vive en su área natural desde Perú hasta el noroeste de la República Argentina (Dimitri, 1.978).

En un período de por lo menos 7.000 u 8.000 años, el poroto común ha evolucionado de su forma salvaje, original de América Central y los Andes, a una leguminosa distribuída ampliamente y de gran desarrollo, ya que representa en la actualidad una de los principales cultivos y fuente alimenticia en todo el mundo, y capaz de crecer en diferentes condiciones ambientales y bajo diferentes sistemas de cultivo. Las dos principales domesticaciones se produjeron en México y en los Andes originando dos grupos de cultivares con características agronómicas diferentes.

Durante este período las formas salvajes de este cultivo atravesaron por diferentes etapas que incluyeron una fase inicial de domesticación seguida de evolución como consecuencia de diversas fuerzas adaptativas, de mutación, selección y migración. Como resultado se produjeron cambios morfológicos, fisiológicos y genéticos notables en *Phaseolus vulgaris* L. Estos fueron estudiados en el transcurso de los años y permitieron clasificar las formas de *Phaseolus vulgaris* L. en diversos sistemas que incluyen banco de genes, cultivares, razas, etc.

1.II.2. Taxonomía

Los porotos del género *Phaseolus*, de origen americano están entre los cultivos comestibles más importantes del mundo, y sólo inferior al cultivo de la soja en los países de América. Este género de casi 55 especies pertenece a la subtribu *Phaseolinae*, la cuál es incluida en la tribu *Phaseoleae* dentro de la subfamilia de *Papilionoideae* y la familia *Leguminosae* (Debouck, 1.991;

USDA, 2.002). En la tabla **1.II.2.a.** se nombran algunas especies comestibles por su nombre común y clasificación taxonómica.

Tabla 1.II.2.a. **Especies relacionadas al poroto común (*Phaseolus vulgaris* L.) y su clasificación taxonómica**

Nombre común	**Nombre latino**	**Subtribu**
Poroto común	*Phaseolus vulgaris* L.	*Phaseolinae*
Poroto Lima	*Phaseolus lunatus* L.	*Phaseolinae*
Poroto pallar	*Phaseolus coccineus* L.	*Phaseolinae*
Year-bean	*Phaseoluspolyanthus* Greenman	*Phaseolinae*
Poroto Tepari	*Phaseolus acutifolius* A. Gray	*Phaseolinae*
Caupí	*Vigna unguiculata* (L.) Walp.	*Phaseolinae*
Poroto Mung	*Vigna radiata* (L.) Wilczek	*Phaseolinae*
Poroto Adzuki	*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi	*Phaseolinae*
Poroto arroz	*Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi & Ohashi	*Phaseolinae*
Poroto japonés	*Lablab purpureus* (L.) Sweet	*Phaseolinae*
Poroto sable o gigante	*Canavalia ensiformis* (L.) DC	*Diocleinae*
Soja	*Glycine max* (L.) Merrill	*Glycininae*

La subtribu *Phaseolinae* tiene por lo menos cinco géneros importantes desde el punto de vista económico, mientras que en otras subtribus de la tribu *Phaseoleae* sólo un género tiene alguna importancia económica. Varios son los autores que a través de muchos años trataron de caracterizar la subtribu *Phaseolinae*, pero actualmente el número exacto de especies dentro de cada uno de los géneros integrantes se encuentran muy distantes de ser establecidos definitivamente, en especial las especies dentro del género *Phaseolus*. Es posible reproducir una lista tentativa de 52 especies pertenecientes a este género (tabla **1.II.2.b.**, Debouck, 1.991). Dentro de esta clasificación se postulan cinco especies cultivadas, cada uno con su propio antepasado, y cerca de cincuenta especies salvajes. Las especies cultivadas son *P. vulgaris*, *P. lunatus*, *P. coccineus*, *P. polyanthus*, y *P. acutifolius*..

Tabla 1.II.2.b. **Especies pertenecientes al género *Phaseolus*.**

P. acutifolius A. Gray	*P. leptostachyus* Bentham	*P. polyanthus* Greenman
P. amabilis Standley	*P. lunatus* L.	*P. polymorphus* S. Wats.
P. amblyosepalus (Piper) Morton	*P. macrolepis* Piper	*P. polystachyus* (L.) B. S. P.
P. angustissimus Asa Gray	*P. maculatus* Scheele	*P. ritensis* Jones
P. augusti Harms	*P. micranthus* Hook. & Arn.	*P. salicifolius* Piper
P. brevicalyx Micheli	*P. microcarpus* Mart.	*P. scabrellus* Bentham
P. chiapasanus Piper	*P. minimiflorus* Norvell	*P. schaffneri* Piper
P. coccineus L.	*P. neglectus* Hermann	*P. sempervirens* Piper
P. esperanzae Seaton	*P. nelsonii* M.M.S.	*P. sinuatus* Nutt
P. filiformis Bentham	*P. oaxacanus* Rose	*P. smilacifolius* Pollard
P. floribundus Piper	*P. oligospermus* Piper	*P. sonorensis* Standley
P. foliaceus Piper	*P. ovatifolius* Piper	*P. striatus* Brandegee
P. glabellus Piper	*P. pachyrrhizoides* Harms	*P. tuerckheimii* Donn. Smith
P. glaucocarpus Norvell	*P. palmeri* Piper	*P. venosus* Piper
P. grayanus Woot. & Standl.	*P. parvulus* Greene	*P. vulgaris* L.
P. griseus Piper	*P. pauciflorus* Sess, Mociño	*P. xanthotrichus* Piper
P. hintonii Delgado	*P. pedicellatus* Bentham	
P. jaliscanus Piper	*P. pluriflorus* M.M.S.	

1.II.3. Descripción botánica de *Phaseolus vulgaris* L. (Dimitri, 1.978)

Herbácea, anual, voluble, subvoluble o enana erecta (según las variedades) raíz delgada, tallos y follaje finamente uncinado-pubescentes y en consecuencia, adherentes; hojas amplias, trifolioladas, membranosas, folíolos ovado-acuminados, los laterales asimétricos, el terminal distante, midiendo aproximadamente 7-12 cm. de longitud por 4-8 cm. de latitud; racimos axilares (en algunas variedades enanas también terminales), generalmente de 2-12 cm. de longitud, con pocas flores sobre pedicelos delgados de 6-15 mm. de longitud, bractéolas calicinales opuestas, algo apartadas del cáliz, ovales, estriadas, persistentes y tan grandes como el cáliz, que alcanzan a ocultar; corola violácea, lila o blanca, con estandarte redondeado, reflejo, alas extendidas y quilla pequeña, formando pocas espiras cerradas; vaina péndula, recta o subfalcada, acuminada, cilíndrico-

subcomprimida, un poco ensanchada antes del rostro apical, delgada en la base, de 6-20 cm. de longitud por 1,4-2,5 cm. de ancho, variable según las variedades en forma o color, el cual puede ser, antes de la madurez completa, verde, amarillo ceroso, o manchado con violeta o rojizo, pericarpio de consistencia carnosa. con o sin pergamino y con más o menos "hilos" (hacecillos vasculares fibrosos) en las suturas; semillas reniformes, cilindroides, ovoides o subglobosas, de muy diferentes colores, rojo, amarillo, castaño, verdoso, negro, blanco, manchado, etc., según las variedades y formas agrícolas, generalmente de 10-16 (20) mm. de longitud y 7-10 mm. de ancho. En la figura **1.II.3.a** pueden observarse los aspectos morfológicos de la planta de *Phaseolus vulgaris* L.

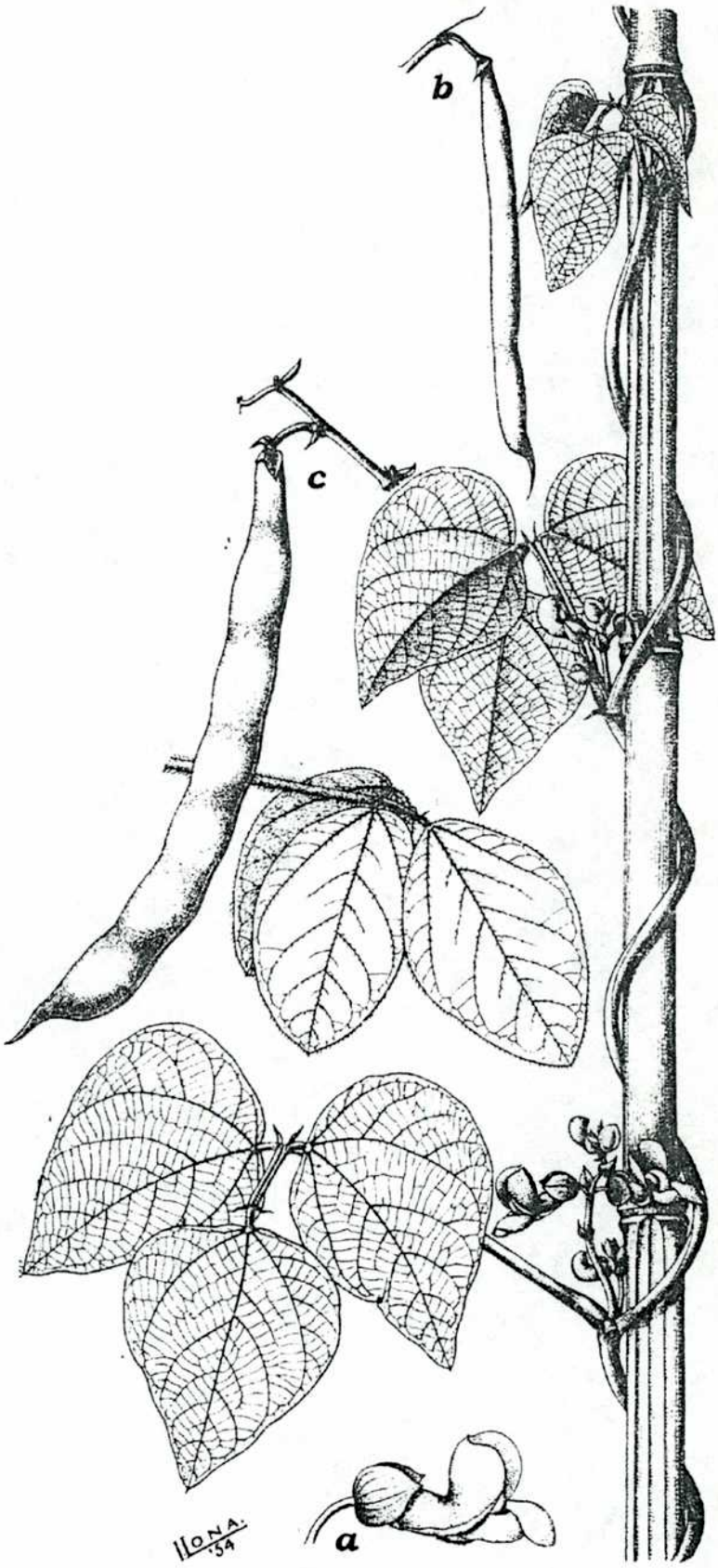


Figura 1.II.3.a **Aspectos morfológicos de la planta de porotos común (*Phaseolus vulgaris* L.), como fuera descripto en el punto 1.II.3. a) flor, b) vaina tierna o "chaucha", y c) vaina submadura (Dimitri, 1.978).**

1.II.4. Terminología Descriptiva

Existe una gran diversidad de porotos en cuanto a morfología, pero no solo en este aspecto sino también en los nombres comunes usados para describirlos en los diferentes países productores y/o consumidores del mundo. Los nombres comunes permiten distinguir entre *P. vulgaris* y otras especies de legumbres comestibles y además permiten clasificarlos en clases y tipos de semillas, hábitos de crecimiento y en variedades específicas. En el idioma Inglés, el término genérico "beans" es a menudo usado no sólo para *P. vulgaris* sino también para otras especies semejantes tales como *P. coccineus*, e incluso hasta puede referirse a otro género, como *Vigna*. Por esta razón, los adjetivos descriptivos son a menudo usados para distinguir a *P . vulgaris* de otras legumbres en el idioma inglés: French beans, dry beans, food beans, field beans, beans, common beans, kidney beans, haricot beans, *Phaseolus* beans, y dry edible beans. El término "common bean" o "haricot beans" son quizá los descriptores de especies más utilizados en el idioma inglés, pero no son de uso universal. El término "field beans" puede referirse específicamente a *P. vulgaris* o en general para las legumbres, dependiendo del país en donde se utilice este término; pero en muchos casos este término también se refieren a menudo a: *Vicia faba*, por ejemplo.

En el idioma español, *P. vulgaris* es conocido por muchos nombres, y en algunos casos se refieren a esta especie en un país mientras que en otro se lo utiliza para identificar especies diferentes. Los diversos nombres utilizados en el idioma español que identifican a esta legumbre comestible pueden verse en la tabla **1.II.4.a.** Los nombres descriptivos de esta especie en otros idiomas se representan en la tabla **1.II.4.b.**. En África incluso es más complicado ya que existen más de cincuenta nombres diferentes para el término (Voysest y Dessert, 1.991).

Tabla 1.II.4.a. **Nombres comunes en español para *Phaseolus vulgaris L.* en América Latina y España.**

Nombre común	**Región**
Porotos secos	
Alubia	España
Caraota	Venezuela
Frisol	Colombia (Antioquía)
Poroto	México, América Central, Cuba, Panamá, Perú, Colombia, Ecuador, Bolivia, Chile
Habichuela	República Dominicana , Puerto Rico
Habilla	Paraguay
Judía	España
Poroto	Argentina, Bolivia, Chile, Panamá, Perú, Uruguay
Porotos verdes	
Ejote	México
Chaucha	Argentina, Uruguay
Habichuela	Colombia
Habichuela tierna	Puerto Rico
Tabla	Chile
Vainita	Perú, Ecuador
Vainas Verdes	Varios

Tabla 1.II.4.b. **Nombres comunes de *P. vulgaris L.* en varios lenguajes.**

Lenguaje (país)	**Nombre**
Arabe (Sudán)	Fasulia
Arabe	Loubia
Catalán (España)	Mongeta
Chichewa (Malawi)	Nyemba
Holandés	Boon
Francés	Haricot
Alemán	Bohne
Griego	Fassolia
Italiano	Fagiolini
Kinyarwanda (Rwanda)	Ibishimbo
Kirundi(Burundi)	Ibiharage
Kiswahili (Kenya and Tanzania)	Maharagwe
Lingala (Zaire)	Madesu
Luganda (Uganda)	Ebijanjalo
Nande (Zaire)	Buhoti
Persa	Lubiya
Portugués	Feijão
Quechua	Purutu
Runyankonle (Uganda)	Ebihimba
Shona (Zimbabwe)	Bhimzi
Swahili	Mahalagi
Tshilusa (Zaire)	Nkunde

1.II.5. Tipos y clasificación de los porotos

Existe una gran variedad de semillas de *Phaseolus* con distintas características en cuanto a apariencia y de gran diversidad en cuanto a los países que las producen. En países de Sudamérica influidos por el Océano Pacífico y los Andes, tales como Colombia, Ecuador, Perú, y Chile, los tipos predominantes de porotos son aquellos de tamaño mediano a grande, al igual que los cultivados en las islas caribeñas y Belice. Mientras que en los países bajo influencia del Océano Atlántico y los dos grandes ríos (Amazonas

y Orinoco), como Brasil y Venezuela, los porotos son predominantemente de tamaño pequeño (Voysest y Dessert, 1.991).

En cuanto al color existe una gran variedad, las variedades de porotos cosechadas en la región andina del norte (Colombia y Ecuador) son en su mayor parte rojas o rojas con moteado blanco, crema, o amarillo. Hacia el sur (Sur de Ecuador, Perú, y Chile), el cuadro es distinto ya que existe un *predominio* de semillas de color blanco, crema, y amarillo, llegando a ser, además, de colores crema o blanco con moteado rojo. En la costa sur de Sudamérica bañada por el océano Pacífico, el tipo de semillas plantada ampliamente en la región son las del tipo pequeño de color blanco o "navy" (llamados Panamito y Arroz). A lo largo de la costa de Ecuador se cultiva un poroto de color rojo de semilla pequeña llamado Pata de Paloma, el cual es cultivado en escala muy limitada, mientras en la selva amazónica de Perú se cultiva uno de color amarillo de semilla pequeña conocido como Huascaporoto.

En los países de Sudamérica bordeando el Océano Atlántico (Brasil y Venezuela) existen porotos de semillas pequeñas de color negro, mientras aquellos de colores crema, marrones, rosados, y rojos están presentes únicamente en Brasil. Pero además en algunas partes del mismo, existen también diversas clases de porotos de tamaños medianos y grandes, de color amarillo (llamados Enxofre y Jalo), y de color crema con moteado rojo (llamados Rajado, Bagajo, Chita Fina, y Cavalho).

En México, las semillas que crecen mayormente son aquellas del tipo mediano a grande. Generalmente, estas son de color amarillo claro, crema, y blanco con rayas café o moteado rojo. Mientras que porotos de tamaño pequeño y de color negro son cultivados en ciertos estados del sur de México bañados por el Océano Atlántico y zona tropical del Océano Pacífico. En países centroamericanos se cultivan porotos de semillas pequeñas, de color negro y rojo en mayor proporción los siguientes países: Costa Rica, El Salvador, Nicaragua, y Honduras; y sólo negros en Guatemala. Belice y Panamá, prefieren porotos de tamaño mediano a grande, de colores que varían desde rosado a rojos. En el Caribe en su mayor parte son de semillas pequeñas y medianas de color rojo, y grandes de colores rosados y rosados

con moteado rojo. En Cuba, República Dominicana y Puerto Rico crecen plantas de porotos del tipo pequeño de colores negros y blancos (Voysest y Dessert, 1.991).

Para evitar confusiones, especialmente en lo relacionado al comercio de este producto y a las características agronómicas del mismo surge la necesidad de un sistema que los clasifique adecuadamente. Existen varios sistemas de clasificación y en la tabla **1.II.5.a.** puede verse un intento por clasificarlos en base a varios criterios: etapa de madurez de la planta en el momento del consumo de las partes comestibles de la misma, características de las vainas que contienen las semillas en la planta, y características de las semillas.

Los porotos verdes son una clase particularmente importante en países desarrollados de Europa y América del Norte. Otros nombres dados para esta clase incluyen los términos "string beans" y "French beans". En español, son llamados principalmente "vainas verdes", pero algunos países usan otros términos más específicos (tabla **1.II.4.a.**).

La clasificación en base al tipo de vaina se debe a los requisitos de procesamiento de la industria de alimentos donde las características específicas requeridas van a depender de la utilización de la misma: para procesado, vainas enteras o en rodajas; para enlatado o congelación; para exportación o venta en el mercado local o para la siembra de semilla. El color de la semilla de los llamados porotos verdes puede ser negro u otro, y solo recientemente se desarrollaron variedades de semillas de color blanco de mejor calidad para el procesado.

Los denominados porotos frescos cultivados específicamente para su consumo como "frescos" son de poca importancia en el mundo ya que en muchos casos los denominados "porotos secos" son algunas veces cosechados tempranamente y consumidos en su estadio de vaina verde, cuando estos están próximos a la madurez fisiológica pero todavía blandos o suculentos. Los porotos frescos son ciertamente una parte importante de la dieta en muchas áreas de África y Sudamérica, pero su uso está limitado debido a la corta vida útil de las semillas. Las semillas de esta clase son usualmente grandes y de dos colores, a menudo teniendo vainas grandes de

rayas rojas. Otros nombres en inglés para este grupo son "Horticultural beans" y "Borlotto beans".

Tabla 1.II.5.a. **Sistema de clasificación en base a aspectos morfológicos de la planta y de las semillas de *Phaseolus vulgaris* L.**

Criterios de clasificación		**Clases**	**Características de consumo**
Etapa de madurez de la planta en el momento del consumo (Purseglove, 1968)		Porotos verdes	Como vainas frescas o procesadas
		Porotos frescos	Como semillas frescas, de tamaño natural
		Porotos secos	Como semillas entera luego de un proceso de secado
Características de las vainas	Color	Vainas verdes	Como vainas frescas o procesadas
		Vainas amarillas	
	Textura	Carnoso	
		Esbelta	
		Otras	
	Forma	Planas	
		Ovales	
		Otras	
Características de las semillas	Textura	Existen varios tipos (ver texto)	Como semillas enteras
	Color		
	Brillantez		
	Tamaño		
	Forma		

Los porotos secos son la forma de presentación más importante de porotos en el mundo, y son numerosas las áreas de producción e incluyen a México, América Central, la mayor parte de Sudamérica, y la región montañosa de África oriental, donde se constituyen como el alimento preferido por su alto contenido en proteínas sumada a la capacidad de almacenamiento de las mismas. Estan principalmente caracterizados por una gran diversidad de tipos de la semilla dentro de la especie: una amplia

variedad de colores, varios grados de brillantez, y varios tipos de semillas en cuanto al tamaño y forma. Esto es en parte por la enorme diversidad de tipos de semilla dentro de la especie, lo cual determina fuertemente la aceptabilidad de las mismas. El tamaño de la semilla de las variedades comerciales puede variar de 17 gramos (porotos blancos comunes o "navy beans") a 100 gramos cada 100 semillas (Fabada). La forma de la semilla también varía desde formas arriñonadas a oblongas con varias combinaciones de colores. La textura de la superficie puede ser brillante, opaca, o intermedia. Cada una de estas características puede tener una influencia determinante en la aceptabilidad de una variedad específica. Aún las diferencias muy sutiles en el tono de color entre un rojo claro y uno oscuro pueden determinar la aceptabilidad de la variedad. Esto es especialmente cierto en Latinoamérica, dónde las preferencias del consumidor de porotos son muy específicas. Otros factores, como el hábito de crecimiento, factores de resistencia al estrés, organolépticos, etc., pueden interactuar con las características del tipo de semilla para determinar la aceptabilidad global en una determinada región de producción o consumo.

En definitiva los porotos son clasificados por razones comerciales y para facilitar la comunicación doméstica y científica. Hendrick y col. (1.931), clasificó los porotos blancos comercializados en los Estados Unidos en cuatro grupos basados en el tamaño y forma de la semilla: pea, medium, marrow, y kidney. En la actualidad los porotos son clasificados en los Estados Unidos en 13 clases (USDA, 1.982), incluyendo Red Mexican, Pinto, Navy, Small White, Yellow Eye, Great Northern, White Marrow, White Kidney, Cranberry, Dark and Light Red Kidney, Pink, y Black. Estas clases fueron incluídas en gran medida en la terminología internacional. Pero no existe ningún sistema de clasificación aceptado universalmente y deben ser prefijados entre las partes interesadas de tratar con este tipo de producto (Voysest y Dessert, 1.991).

1.II.6. Aspectos nutricionales del poroto común

1.II.6.a. Regiones más importantes de consumo

Como se mencionó anteriormente *Phaseolus vulgaris* L. es un alimento muy importante en los países de América Central, América del Sur y África Central y Oriental, lugares en donde la disponibilidad de consumo de alimentos proteícos de origen animal es limitada y los porotos son consumidos en grandes cantidades. Mientras que en Asia el poroto común es menos importante que otras legumbres.

Como puede observarse en la tabla **1.II.6.a.1** las estimaciones del consumo por cápita entre 1.976 y 1.978 en Latinoamérica están comprendidas entre 2,3 kg/año en Uruguay y 24,3 kg/año en Paraguay. Las estimaciones promedio para el consumo per capita en Latinoamérica para este lapso de tiempo fue 13,3 kg/año o 25 g/día. Mientras que en África la media de consumo per capita es más alta (31,4 kg/año). Debido a la gran demanda de este cultivo en estas regiones existe una gran necesidad de aumentar la productividad o rendimiento por hectárea en las áreas importantes de producción ya que la tierra disponible para el cultivo es muy limitada y existe una mayor competencia por esta tierra por cultivos más provechosos. En los comienzos de 1.964, se produjeron grandes incrementos en la producción de cereales en varios países, principalmente por la introducción de variedades con altos rendimientos y mejoradas prácticas agronómicas. Este incremento en la producción de cereales fue conocido como la revolución verde. La introducción de nuevas variedades de alto rendimiento para los cereales no fue en simultaneo con el desarrollo de tecnología aplicable a la producción de porotos, lo que indujo efectos negativos en la producción de esta legumbre, haciendo económicamente más atractivos a los cereales que la producción de legumbres. Por lo que los porotos han sido desplazados por cultivos más provechosos en ciertas regiones de producción en Latinoamérica, como en regiones del sur de Brasil y el Valle Cauca de Colombia, disminuyendo la disponibilidad de los mismos. En Rwanda y Burundi, parte de la Región de Grandes Lagos en África

Central, el 95 % de la población es rural y la disponibilidad de porotos está muy limitada debido a las altas densidades de población con escasa disponibilidad de campos de cultivo (Shellie-Dessert y Bliss, 1.991).

Tabla 1.II.6.a.1. **Importancia relativa de la producción y consumo de porotos en el período 1.980-1.989 en América Latina y Africa.**

País o región	**Consumo per capita aparente (kg)**
América Latina	
Brasil	20,1
México	12,6
Argentina	2,9
Paraguay	24,3
Nicaragua	23,8
Africa	
Uganda	29,3
Kenya	21,0
Rwanda	50,6
Tanzania	12,0
Burundi	44,3

Fuente : CIAT, 2.002

1.II.6.b. Composición nutricional

La composición de nutriente de porotos debe incluir todas las partes comestibles de la planta de poroto a lo largo de todas las etapas de crecimiento. Las hojas jóvenes son consumidas en muchas partes de África y son una importante fuente de proteínas durante los períodos en que los cereales escasean, en especial posteriormente a las estaciones secas de gran duración. Las vainas asi como las semillas inmaduras son consumidas extensamente, especialmente en Latinoamérica, pero son menos importantes en África debido a un menor almacenamiento. Las semillas secas son apreciadas en países poco desarrollados por su larga vida de almacenamiento, buenas propiedades nutricionales, y relativa facilidad de almacenamiento y preparación para el consumo.

El contenido de humedad promedio de las hojas, vainas enteras, y semillas inmaduras es de aproximadamente 88 % (tabla **1.II.6.b.1**). A primera vista, parecería que las semillas secas son una fuente más importante de calorías, proteína, tiamina, y niacina que las hojas, vainas y semillas inmaduras. Si estos valores de humedad son corregidos y expresados en base seca, las vainas verdes son equivalentes a las semillas en calorías y contenido en proteínas, y son superiores en calcio, hierro, tiamina, y niacina. En la práctica, las semillas secas son consumidas cocidas con un contenido de humedad de 70 % y por consiguiente tiene sólo una ventaja leve de nutrientes con respecto al consumo de hojas, vainas, y semillas inmaduras. Pero es la vida de almacenamiento de las semillas secas, mas que sus ventajas nutricionales, lo que hace a las semillas la parte del poroto más consumida en países en vías de desarrollo(Shellie-Dessert y Bliss, 1.991)..

1.II.6.c. Aporte nutricional por consumo de porotos a nivel mundial

Para evaluar la importancia nutricional relativa de los porotos en la dieta, se debe evaluar como primera medida el consumo del mismo, y dicho consumo puede ser clasificado como bajo (13 kg/año o 36 g/dia), mediano (25 kg/año o 68 g/dia), y alto (50 kg/año o 137 g/año). El consumo en Rwanda y Burundi en África Central es considerablemente más alto (cerca de 50 kg/año o 137 g/día) que en la mayoría de otras regiones (tabla **1.II.6.a.1**). En Uganda, Kenia, Brasil, Paraguay, y Nicaragua, consumo de poroto es moderado (25 kg/año o 68 g/dia), mientras en otros países latinoamericanos y africanos, el consumo es bajo (13 kg/año o 36 g/día).

La importancia nutricional de los porotos en la dieta esta determinada por el porcentaje de la ingesta o ración dietaria recomendada (RDA, recommended dietary allowance) para nutrientes que es cubierto por el consumo de porotos como puede ser observada en la tabla **1.II.6.c.1.**.

Tabla 1.II.6.b.1. **Composición nutricional de varias partes de la planta de porotos cada 100 g.**

Componente y/o fracción	**Aporte energético (calorías)**	**Humedad (%)**	**Proteínas (g)**	**Lípidos (g)**	**Carbohidratos (g)**	**Calcio (mg)**	**Hierro (mg)**	**Tiamina (mg)**	**Niacina (mg)**
Peso fresco									
Hojas (crudas)	36	87	3.6	0.4	6.6	274	9.2	0.18	1.3
Semilla verde (cruda)	36	89	2.5	0.2	7.9	43	1.4	0.08	0.5
Semillas inmaduras (cocidas)	50	88	1.7	3.2	5,5	42	0.8		-
Semilla seca (cruda)	336	12	21.7	1.5	60.9	120	8.2	0.37	2.4
Peso seco									
Hojas (crudas)	272	27.3	0.3	50	2075	69.7	1.36	9.8	
Semilla verde (cruda)	318	22.1	1.8	69.9	380	12.4	0.70	4.4	
Semillas inmaduras (cocidas)	417	14.2	26.7	45.8	350	6.6	-		
Semilla seca (cruda)	383	24.7	1.7	69.4	136	9.4	0.42	2.7	

Fuente: FAOSTAT (1.998).

Tabla 1.II.6.c.1. **Proporción de ingesta diaria recomendada (RDA) para hojas de poroto, porotos verdes y secos, expresado en peso seco a varios niveles de ingesta.**

Niveles de ingesta sobre alimento consumido	**RDA* para un hombre adulto moderadamente activo**					
	Proteina	**Calcio**	**Hierro**	**Tiamina**	**Niacina**	**Energía**
	56g	**800 mg**	**10 mg**	**1,4 mg**	**18 mg**	**2200 Kcal**
	%	%	%	%	%	%
Bajo (30 g/día)						
Hojas de poroto	15	78	209	29	16	4
Porotos verdes	12	14	37	14	7	4
Porotos secos	13	5	28	7	4	5
Medio (60 g/día)						
Hojas de poroto	39	155	420	57	33	8
Poroto verdes	23	29	70	29	14	8
Porotos secos	27	10	60	14	8	10
Alto (130 g/day)						
Hojas de poroto	63	337	906	126	71	16
Poroto verdes	51	62	161	65	32	19
Porotos secos	57	22	122	39	20	23

* RDA: Recommended Dietary Allowances. Fuente: FAOSTAT (1.998)

En países donde el consumo de porotos per cápita es alto, como Rwanda y Burundi, los porotos secos proveen más del 50 % de los requerimientos en proteínas y más de un cuarta parte de los requisitos de energía. Son también una fuente importante de hierro ya que proveen más del 100 % de la RDA para este mineral. Por lo menos 20 % de la RDA para calcio, tiamina, y niacina son cubiertos por la ingesta de los porotos secos, y cuando son consumidas las otras partes integrantes de la planta, como vainas u hojas, la cantidad de nutrientes provistos es mayor.

En países de consumo moderado, como Brasil, Uganda, Kenya y algunos países de América Central, los porotos secos proveen más del 100 % de la RDA para los requerimientos en proteínas y aproximadamente 60 % de la RDA de hierro y solo el 10 % de los requerimientos en energía.

En aquellos paises de bajo consumo, los porotos ocupan solo un papel suplementario ya que sólo proveen un 13 % de los requerimientos de proteínas y 5 % de calorías totales. Pero todavía son una fuente importante de hierro.

La calidad proteica del poroto está limitada por la presencia de aminoácidos que contienen azufre como cisteína y metionina, pero son proteínas ricas en lisina. Mientras que comparativamente los cereales están limitados en lisina. Por esta razón cuando se consume conjuntamente porotos y cereales estas deficiencias se complementan, y proveen las cantidades adecuadas de todos los aminoácidos esenciales. Pero, en muchas partes del mundo, solo una pequeña proporción de los requerimientos protéicos y calóricos totales son cubiertos por el consumo de porotos. Es importante destacar que los porotos han sido consumidos históricamente en combinación con un cereal o un tubérculo mucho antes de que la complementación de proteínas haya sido reconocida como tal. En México, países de América Central y países andinos de Sudamérica, el cereal complementario tradicional es el maíz *(Zea mays* L.). El maíz es también un cultivo tradicional en Kenya (CIAT, 2.002). En Uganda, Rwanda, Burundi, y partes de Brasil, los porotos son consumidos con alimentos de altos niveles de almidón y bajos en proteína como batata *(Ipomoea batatas)*, banana verde *(Musa paradisiaca)*, o yuca *(Manihot esculenta)*. En los países caribeños,

Colombia, y partes de Brasil, los porotos son consumidos a menudo con arroz *(Oryza sativa).*

Bressani y Elfas (1.979) sugirieron que un valor nutritivo óptimo de una dieta basada en la combinación de maíz y porotos se obtiene con cantidades iguales de proteína de cada uno de los componentes. Debido a que la concentración de proteínas de legumbres es mayor que en los granos de cereales, la proporción del consumo de maíz y porotos debe ser de aproximadamente del 60:40 en base del peso del alimento cocido (asumiendo que los contenidos de humedad de cada uno de los componentes son iguales). Las encuestas alimentarias realizadas en América Central señalan que el consumo diario de maíz es mayor que la recomendada para mantener una relación de 60:40 con respecto a la del consumo del poroto. Debido a una mejor calidad proteica del arroz, la relación del consumo de este cereal con respecto al poroto debe ser 80:20 para un valor nutritivo óptimo (Shellie-Dessert y Bliss, 1.991).

Los porotos no suplementan adecuadamente en dietas que los incluyen en combinación con alimentos de bajo contenido en proteínas como yuca y banana a menos que los porotos sean consumidos en exceso. Similar comportamiento se observa cuando son consumidos en combinación con papas blancas *(Solanum tuberosum)* o batatas, las cuales son deficientes principalmente en metionina (Tobin y Carpenter, 1.978). Las papas, sin embargo, son una mejor fuente de proteínas que los bananos y la yuca.

El poroto común solo requiere un remojado simple y cocción posterior antes del consumo. En la mayoría de los paises latinoamericanos, los porotos secos son remojados antes de la cocción para disminución del tiempo de cocción. Los porotos son hervidos en recipientes adecuados como ollas y otros, y consumidos como sopa, puré, o simplemente como semillas enteras. Es de destacar que la forma óptima de cocción es por medio de *olla a* presión, ya que de esta manera se mantiene la mayoría de los nutrientes en el alimento. En algunas partes de África Central los porotos no son remojados antes de su cocción pero son hervidos por aproximadamente tres horas en una cazuela de arcilla sobre leña. En África Central son

consumidas además las hojas del *Phaseolus* luego de su cocción y son servidas como ensaladas o complementos de otras comidas (CIAT, 2.002).

1.II.7. Aspectos agroecológicos del poroto común

1.II.7.a. Factores ambientales que influyen en el cultivo (Failde de Calvo y col., 1.999)

Climáticos: El poroto es una especie termófila, es decir que no soporta las heladas. Se cultiva tanto en los trópicos como en zonas templadas. Un desarrollo vegetativo normal se logra cuando se presentan temperaturas medias mensuales de 16 a 25°C, siendo la mínima media mensual óptima de 10°C y la máxima media mensual óptima de 28°C. Las altas temperaturas, por encima de 35°C y las muy bajas, menores a 10°C. son uno de los factores más importantes que influyen negativamente en la maduración del fruto.

El umbral mínimo de temperatura que posibilita una rápida germinación está alrededor de 1 °C, mientras que el máximo es de 35°C. Se puede agregar que las variedades de semilla mediana a grande, rinden muy pobremente en lugares con temperaturas intermedias y logran muy buenos rendimientos en los sitios más fríos. Por el contrario, el germoplasma de semillas pequeñas, se comporta en forma antagónica.

Lumínicos: Obviamente el papel principal de la luz está relacionado con la fotosíntesis, pero también afecta a la fenología y morfología de la planta, por medio de reacciones de fotoperíodo y elongación.

Se puede decir que es un cultivo indiferente al fotoperíodo, aunque responde a días cortos y por lo cual los días largos causan demoras en la floración y la madurez.

Hídricos: En un cultivo de secano, como lo es el poroto en el NOA, la disponibilidad hídrica es uno de los factores que más condicionan el

rendimiento. Se estima que más del 60 % de los cultivos que se realizan en países en desarrollo sufren estrés por sequía.

El requerimiento óptimo de agua durante el cultivo oscila entre 350 a 400 mm. distribuidos uniformemente. Como la mayoría de los cultivos, el poroto posee períodos críticos durante los cuales una deficiencia de agua causa un serio decrecimiento de la producción. La deficiencia hídrica más perjudicial es la ocurrida en las fases de floración y llenado de grano. El estrés provoca bajo número de retención de flores y aborto de óvulos. De todos modos hay diferencias muy marcadas entre variedades en cuanto a resistencia a sequía.

El exceso de agua también es perjudicial, ya que ocasiona graves daños en la producción. Debido a la reducción de la difusión de gas en los suelos inundados la presencia de O_2 es casi nula, se acumula CO_2, y etileno en la zona radical. Dentro de los dos días de producido el anegamiento se detiene el crecimiento de las hojas y la raíz lo cual está asociado directamente con una caída de la tasa respiratoria.

Edáficos: El poroto es un cultivo exigente que requiere suelos aptos para la agricultura y de éstos, aquellos correspondientes a las clases superiores de clasificación de suelos por capacidad de uso, es decir sin limitaciones o con limitaciones muy leves.

Los suelos que responden a esta categoría tienen las siguientes características:

- Son bien drenados, se encuentran en planos suavemente inclinados, con permeabilidad moderada,
- Las texturas son del tipo medio (franco limoso grueso. franco o franco arenosos).
- De estructura migajosa o granular, con buen contenido de materia orgánica, mayor porosidad, buena infiltración y resistencia al "planchado" y compactación.
- De reacción moderadamente ácida a neutra (pH 5,5 a 7,2), preferentemente de moderadamente ácida a débilmente ácida (pH 5,5

a 6,6). Este tipo de reacción responde a un alto contenido de bases en el suelo (calcio, magnesio, sodio y potasio).

- Debe ser de salinidad muy baja (conductividad menor a 0,9 mmhos/cm).
- Debe ser de sodicidad muy baja (saturación de Na inferior a 4 %).

1.II.7.b. Factores bióticos que afectan el rendimiento

Durante el cultivo del poroto (*Phaseolus vulgaris* L.) se producen importantes pérdidas por diversos factores que inciden directamente o indirectamente sobre el rendimiento global del mismo. Estos factores pueden ser agrupados en tres categorías: factores biológicos (enfermedades, plagas, malezas, etc.), edáficos (fertilidad baja, altos niveles de aluminio, etc.) y climáticos (sequías, altas temperaturas, etc.).

Un gran número de hongos, bacterias y virus pueden ser transmitidos interna o externamente en la semilla usada por el agricultor para su producción. En general, la semilla usada por el pequeño agricultor latinoamericano no es de buena calidad y muchas veces contienen agentes fitopatógenos que inciden sobre su germinación. Muchos de estos patógenos pueden sobrevivir internamente en la semilla por largos períodos y después atacar las plántulas germinadas. También pueden sobrevivir como epífitos en la planta en desarrollo, hasta que las condiciones ambientales favorezcan su establecimiento como patógenos.

La semilla es un medio muy eficiente de diseminación de organismos fitopatógenos de una localidad a otra. Muchos son los agentes causantes de enfermedades que pueden ser transportados internamente en la semilla, y gran parte de ellos se encuentran dentro de la testa.

Como se mencionó anteriormente existen factores biológicos responsables de bajos rendimientos en las zonas productoras. En regiones templadas de Latinoamérica y África existe una mayor incidencia de estos en comparación con sus equivalentes en América del Norte y Europa. A pesar del gran número de patógenos responsables de las pérdidas, solo una

docena de estos son de importancia desde el punto de vista de las pérdidas económicas que producen. Algunas enfermedades del poroto tales como Antracnosis (anthracnose), Mancha angular (angular leaf spot), Roya (rust), Bacteriosis común (common bacterial blight), Virus del mosaico del poroto dorado (bean golden mosaic virus, BGMV), y Virus del mosaico del poroto común (bean common mosaic virus, BCMV) están ampliamente distribuidas y pueden reducir el rendimiento del cultivo considerablemente. Otras enfermedades que producen pérdidas pero solo circunscriptas a regiones específicamente determinadas, son Mustia o telaraña (web blight), Ascochyta o Mancha de ascochyta (Ascochyta blight), Mancha aureolar (Halo blight), Pudrición carbonosa o Pudrición gris (charcoal rot), Marchitamiento por *Fusarium* (*Fusarium* wilt), y el Moho blanco (white mold). Existe además un tercer grupo ampliamente distribuido pero de menor importancia en cuanto a pérdidas económicas producidas, están integrados por los siguientes: Pudrición radical por *Rhizoctonia* (*Rhizoctonia* root rot), Pudrición radical por *Fusarium* (*Fusarium* root rot), y Añublo sureño o Murcha de *Sclerotiorum* (southern blight) (Cardona y col., 1.995).

En los últimos cincuenta años la producción de porotos ha sufrido epifitias debido a Roya (Cuba y México), BGMV (América Central, Caribe, Brasil, y Argentina), Mancha angular (Brasil, México, y la Región de Grandes Lagos en África), Antracnosis (Brasil), Bacteriosis común (Argentina y Brasil), Virus del mosaico común (Argentina), y Marchitamiento por *Fusarium* (Brasil).

Además de los muchos organismos fitopatógenos transmitidos en la semilla, existe un grupo de hongos que puede producir pérdidas considerables en las semillas en almacenamiento. La mayoría de estos hongos contaminantes afectan el embrión, causan su muerte y, por consiguiente, reducen el porcentaje de germinación de la semilla. Se han reportado alrededor de 150 especies de hongos que afectan, además de la germinación, la calidad industrial y las propiedades alimenticias del poroto almacenado. Algunos géneros de hongos asociados con problemas de almacenamiento como *Aspergillus* y *Penicillium* son conocidos por su

capacidad de producir toxinas. La temperatura del almacenamiento, la humedad ambiental, el contenido de humedad del grano, el estado de la semilla y la duración del período de almacenamiento son algunos de los factores que influyen en la invasión de hongos en granos almacenados.

1.III. Micoflora asociada al poroto común.

Como se describió en los puntos **1.II.7.a** y **1.II.7.b** existen múltiples factores que inciden directa o indirectamente sobre el rendimiento total del cultivo del poroto. Entre ellos como ya fuera mencionado, están los factores bióticos y en especial los microbiológicos, que comprenden entre otros, a los hongos, los cuales son capaces de afectar la producción a distintos niveles ya que producen enfermedades bien definidas en la planta tales como Antracnosis, Mancha angular y Roya, pero se deben tener en cuenta también aquellos capaces de proliferar en condiciones de almacenamiento de las semillas. Desde este punto de vista ciertos hongos son conocidos productores de micotoxinas como especies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, sin dejar de lado también las especies de los géneros *Alternaria* y *Fusarium* que además de producir micotoxinas también son fitopatógenos. De este último género ya se nombraron enfermedades conocidas del poroto tales como Marchitamiento por *Fusarium* (*Fusarium* wilt) y Pudrición radical por *Fusarium* (*Fusarium* root rot), siendo responsables de estas enfermedades *Fusarium oxysporum* f. sp. *Phaseoli* y *Fusarium solani* f. sp. *Phaseoli*, respectivamente. En el caso de *Alternaria* spp., *A. alternata* es responsable de una enfermedad conocida como Mancha foliar por *Alternaria* (*Alternaria* leaf spot).

A diferencia de lo observado para otros cultivos como maíz, trigo, sorgo e incluso soja; esta última relacionada taxonómicamente con los porotos, para los cuales existe una gran cantidad de publicaciones que describen la contaminación fúngica en el momento de la cosecha, en la actualidad son llamativamente escasos los trabajos científicos existentes sobre la flora fúngica de las semillas, ya que las investigaciones se centraron en las

diversas patologías ocasionadas en la planta de *Phaseolus*, y todas desde un punto de vista agronómico. En este sentido en la tabla **1.III.1.** pueden observarse algunas condiciones experimentales in vitro y de ensayo a campo en el desarrollo de algunas enfermedades comunes en el poroto. Mientras que en las tablas **1.III.2.** y **1.III.3.** se describen algunos resultados de trabajos encontrados en la literatura, en donde se estudiaron la micoflora asociada a diferentes tipos de porotos. Además de los incluídos en las dos últimas tablas pueden mencionarse otros trabajos en porotos de diversos orígenes; entre estos están los realizados por Boland y Hall (1.987), Costa y Scussel (1.998), López y Christensen (1.962), Marasas y col. (1.987), Scussel y col. (1.998), Trucksess y col. (1.986) y Waller y Brayford (1.990).

Tabla 1.III.1. **Condiciones experimentales in vitro y de ensayo a campo en el desarrollo de algunas enfermedades comunes en el poroto. Influencia de factores climáticos y prácticas de cultivo que las favorecen. (Beebe y Pastor Corrales, 1.991)**

Enfermedad	Patógeno	Laboratorio		Invernáculos		Campo	Enfermedada favorecida por	
		Medio	Crecimiento	Inóculo (propágulos/ml)	Tiempo de incubación / °C	Cantidad / ha	Factores climáticos	Prácticas culturales
Antracnosis	*Colletotrichum lindemuthianum*	Agar papa glucosa	18-22/7 días	$1.2x10^6$	5-7 días en cámara de alta humedad relativa/18-22		13 °C-26 °C Humedad relativa alta (>95 %) Lluvia y viento	Semillas infectadas Sin rotación de cultivos. Alta densidad de siembra
		Vainas en erlenmeyers	~18-22/7 días			100 erlenmeyer (250 ml)		Residuos del hospedante infectados "Spreaders" susceptibles
Mancha angular de la hoja	*Phaeoisariopsis griseola*	Agar V8	22-26/2 semanas cubirto con foil de aluminio	$2.0x10^4$	4 días en cámara de humedad relativa alta, luego en surco en el invernáculo/20-22	100 cajas de petri	20 °C-28 °C Humedad relativa alta(>95 %) Alternancia de periodos de humedad - sequía y soleado - nublado	"Spreaders" susceptibles Sin rotación de cultivos
						Hojas infectadas por pulverización en campo o invernáculo y spray o colocar hojas en el suelo		
Roya	*Uromyces appendiculatus*	Infectado del campo ó invernáculo		$3.0x10^3$	1 día en cámara de humedad relativa alta (>95 %), 10 días en surco en el invernáculo/22	4 g uredosporas/18 L spray; 200 hojas infectadas/18 L H_2O	17 - 27 °C. Alta humedad relativa (>90 %). Baja intensidad de luz.	"Spreaders" susceptibles Irrigación leve
Tizón bacteriano común	*Xanthomonas campestris pv. Phaseoli*	YCDA	28-30/2 días	$5.0x10^7$	10-12 días/20-22	4 placas/L 50 placas/ha	28 - 32 °C. Alta humedad relativa Frecuente lluvia y viento.	Semillas infectadas Sin rotación de cultivos Residuos infectados del hospedante. Alta densidad de siembra

Tabla 1.III.1. **Condiciones experimentales in vitro y de ensayo a campo en el desarrollo de algunas enfermedades comunes en el poroto. Influencia de factores climáticos y prácticas de cultivo que las favorecen (continuación).**

Tizón en Halo	*Pseudomonas syringae pv. Phaseolicola*	King´s B	28-30/2 días	$5.0x10^7$	5-7 días/18-22	4 placas / L 50 placas / ha	16 - 20 °C. Alta humedad relativa. Lluvia y viento.	Semillas infectadas. Sin rotación de cultivos. Residuos infectados del hospedante.
Tizón por Ascochyta	*Phoma exigua var. diversispora*	Agar papa glucosa	18-22/7	$1.2x10^6$	7 días			
		Vainas de poroto en erlenmeyer de 250 ml	18-22/7			18-22 80 erlenmeyer	13 °C-24 °C (250 ml) Humedad relativa alta	Semillas infectadas Sin rotación Densidad de siembra alta
Podredumbre de la raíz por Rhizoctonia	*Rhizoctonia solani*	Papa suelo	25-27/7	1 %-2 % V:V papa suelo: suelo estéril		1 %-2 % V:V papa suelo: suelo estéril	Lluvia abundante 23 °C	Semillas infectadas. Sin rotación
Amarillamiento por Fusarium	*Fusarium oxysporum f.sp.phaseoli*	Agar papa glucosa	25/14	$1.0x10^6$ (raíz dip)	14 días		28 °C Sequedad	Residuos del hospedante infectadas. Densidad de siembra alta
Podredumbre de la raíz por Fusarium	*F. solani f.sp.phaseoli*	Papa suelo	25-27/7	1 %-2 % V:V papa suelo: suelo estéril		1 %-2 % V:V papa suelo: suelo estéril	22 °C	
Podredumbre carbonosa	*Macrophomina phaseolina*	Medio líquido sintético	30/15	2 g esclerocios/kg suelo	14-21 días	2 g esclerocio/kg suelo	Sequedad 30 °C-35 °C	Semillas infectadas
		Granos de arroz	30/15	3 granos de arroz/semillas de poroto		3 granos de arroz/ semillas de poroto		
Tizón sureño	*Sclerotium rolfsii*	Cáscara de arroz	Temp. ambiente/15			400-500 scl/1 m fila	Humedad alta 30 °C-25 °C	Rotación con maní

Tabla 1.III.2. **Micoflora asociada a diversos tipos de porotos.**

Poroto Mung (a)		Poroto negro (a)			Poroto rojo (12 muestras) (a)	Poroto riñón (1 muestra) (a)	Poroto blanco (1 muestra) (a)
Especies	**muestras contam.**	**Especies**	**muestras contam.**	**Especies**	**muestras contam.**	**muestras contam.**	**muestras Contam.**
Fusarium semitectum	31	*Aspergillus flavus*	14	*Aspergillus flavus*	9	1	1
Aspergillus flavus	25	*Fusarium semitectum*	12	*Aspergillus niger*	8		
Lasiodiplodia theobromae	17	*Cladosporium cladosporioides*	9	*Eurotium rubrum*	8	1	1
Macrophomina phaseolina	13	*Aspergillus niger*	8	*Eurotium chevalieri*	7		
Eurotium chevalieri	10	*Chaetomium globosum*	6	*Fusarium semitectum*	6		
Aspergillus niger	8	*Eurotium chevalieri*	6	*Penicillium citrinum*	6		
Chaetomium globosum	8	*Eurotium rubrum*	5	*Phoma* spp.	6	1	
Phoma spp.	8	*Lasiodiplodia theobromae*	5	*Aspergillus wentii*	4		
Cladosporium cladosporioides	7	*Aspergillus tamarii*	4	*Chaetomium* spp.	4	1	1
Fusarium moniliforme	7	*Chaetomium* spp.	4	*Chaetomium globosum*	3	1	1
Penicilliuni citrinum	7	*Penicillium citrinum*	4	*Eurotium repens*	3		
Chaetomium spp.	6	*Aspergillus wentii*	3	*Fusarium equiseti*	3		
Eurotium rubrum	6	*C. brasiliense*	3	*Lasiodiplodia theobromae*	3		
Nigrospora oryzae	6	*Eurotium amstelodami*	3	*Rhizopus oryzae*	3		
Syncephalastrum racemosum	6	*Nigrospora oryzae*	3	*Altemaria longissima*	2		
Bipolaris maydis	5	*Alternaria alternata*	2	*Aspergillus tamaiii*	2		
C. ftinicola	5	*Arthrinium phaeospermun*	2	*Aspergillus restrictus*	2		
C. brasiliense	4	*Aspergillus terreus*	2	*Cladosporium cladosporioides*	2	1	
C. sphaeospermum	3	*Epicoccum nigrum*	2	*Eurotium amstelodami*	2		1

Tabla 1.III.2. **Micoflora asociada a diversos tipos de porotos. (continuación)**

Curvularia lunata	3	*Eurotium repens*	2	*Nigrospora oryzae*	2		
Rhizopus oryzae	3	*Phoma* spp.	2	*Penicillium olsonii*	2		
Alternaria alternata	2			*Rhizoctonia solani*	2		
Penicillium olsonii	2			*Syncephalastrum racemosum*	2		
Absidia corymbifera	1			*Arthrinium phaeospermum*	1		
Aspergillus terreus	1			*Aspergillus ochraceus*	1		
Talaromyces flavus	1			*Botrytis cinerea*	1		
		-		*Colletotrichum dematium*	1		
				C. funicola	1	1	
				Dicyma spp.	1		
				Epicoccum nigrum	1	1	
				Gliocladium spp.	1		
				Penicillium chrysogenum			1

a) Pitt y col. (1.994)

Tabla 1.III.3. **Micoflora asociada a diversos tipos de porotos.**

Porotos recién cosechados		**Porotos almacenados**		**Dr de poroto seco. Canadá. (c)**		**Rd de poroto seco. Taiwan. (c)**	
Número de muestras: 270. (b)		**Número de muestras: 1.300. (b)**					
Géneros	**Muestras Contam.**	**Género**	**muestras contam.**	**Especies**	**Dr**	**Especies**	**Dr**
Fusarium	260	*Penicillium*	1240	*Alternaria alternata*	55,8	*Aspergillus flavus*	11,8
Cladosporium	260	*Aspergillus*	1200	*Rhizoctonia solani*	6,1	*Rhizopus stolonifer*	1,7
Alternaria	180	*Fusarium*	470	*Fusarium graminearum*	3,8	*Rhizopus microporus*	3,6
Absidia	70	*Alternaria*	430	*Fusarium culmorum*	3,2	*Penicillium viridicatum*	5,1
Rhizopus	50	*Rhizopus*	400	*Fusarium solani*	3,2	*Penicillium puberlum*	2,2
Helminthosporium	20	*Trichoderma*	140	*Penicillium chrysogenum*	3,2	*Penicillium commune*	4,3
Aspergillus	20	*Saccharomyces*	120	*Rhizopus stolonifer*	3,2	*Penicillium chrysogenum*	16
Penicillium	10	*Absidia*	80	*Alternaria solani*	3,1	*Eurotium crustatum*	6,7
Papularia	10	*Cladosporium*	70	*Sclerotinia sclerotiorum*	3	*Curvularia lunata*	2,4
Epicoccum	10	*Scopulariopsis*	60	*Fusarium oxysporum*	2,6	*Aspergillus tamari*	1,7
		Trichothecium	50	*Alternaria* spp.	2,2	*Aspergillus ostianus*	6,2
		Mucor	30	*Gliocladium virens*	2,2	*Aspergillus niger*	20,6
		Mycelia Sterilia	30	*Fusarium moniliforme*	2,1	*Aspergillus Japonicus var. aculeatum*	3,1
		Botrytis	10	*Mucor* spp.	1,7	*Aspergillus flavo-furcatus*	5,1
		Periconia	10	*Penicillium viridicatum*	1,1		
		Verticilium	10	*Fusarium* spp.	1		
		Stachylidium	10	*Penicillium* spp.	0,9		

Dr: Densidad relativa

b) Pepeljnjak (1.984), c) Tseng y col. (1.995).

1.IV. Almacenamiento. Isotermas de Sorción.

En la Argentina las infraestructuras existentes de cosecha, almacenamiento, procesamiento y transporte determinan las formas de comercialización; y el poroto es comercializado con baja o nula transformación. Las restricciones del tipo tecnológico que incluyen las prácticas culturales del poroto, generan importantes pérdidas relacionadas con las características físicas de las semillas con mayor incidencia de semillas partidas, manchadas o brotadas. Las semillas al momento de la cosecha tienen una humedad elevada (aproximadamente 18 %) y debido a que se carece de tecnologías de secado adecuadas para este tipo de cultivos la humedad de las semillas disminuye sólo cuando las vainas son secadas al sol para posteriormente ser colocadas en bolsas para su comercialización directa. Esta práctica genera una mayor aparición de enfermedades de origen bacteriano y fúngico, no solamente en la semilla destinada al consumo sino también en aquellas destinadas a la siembra. Las pérdidas económicas que se producen son grandes y es muy importante conocer cuales son los factores susceptibles de ser controlados, y de acuerdo a las posibilidades, tomar las decisiones apropiadas en la generación de un producto seguro, de buen rendimiento y calidad. La comercialización del poroto esta supeditada a la apertura de nuevos mercados y al fortalecimiento de los actuales; asociado a la fluctuación del precio internacional está la necesidad de disponer de tecnología para el almacenamiento adecuado de las semillas.

Uno de los factores directamente relacionados con las posiblidades de almacenamiento es la actividad de agua (a_w). En los estudios de estabilidad microbiana de alimentos han sido usados criterios relacionados con el agua que incluyen: contenido de agua, concentración de solutos, humedad relativa de equilibrio, presión osmótica y actividad de agua (a_w). De todos estos parámetros quien mejor explica los requerimientos de agua para el desarrollo microbiano es la a_w (Scott, 1.957). Los microorganismos, y entre

ellos los hongos, son sensibles el estado del agua en el medio y existen valores de actividad de agua (a_w) límites por debajo de los cuales no pueden permanecer metabolicamente activos, es decir, no pueden multiplicarse o esporular. La a_w se define como el cociente de fugacidades del agua en el alimento referida a la del agua pura a la misma temperatura. En condiciones normales de presión y temperatura la fugacidad se aproxima a la presión parcial de vapor:

$$a_w = \frac{P_w}{P_w^0}$$

donde:

P_w= presión de vapor de agua en el alimento

P^0_w = presión de vapor de agua pura a la misma temperatura

La a_w está relacionada con la humedad relativa de equilibrio (HRE) a través de la siguiente ecuación:

$$a_w = \frac{HRE}{100}$$

donde la HRE se refiere a la atmósfera en equilibrio con el alimento.

A veces, el agua presente en el alimento no está en equilibrio con el vapor de agua de la atmósfera circundante, así el agua libre puede cambiar en el alimento con el tiempo, afectando de diversa manera la estabilidad microbiana de los mismos.

La a_w influye en todas las etapas del crecimiento y desarrollo microbiano, desde la germinación de esporas hasta la multiplicación y actividad metabólica (incluyendo la eventual producción de toxinas). En granos y/o semillas almacenados, los microorganismos deben adecuarse a distintos factores, por ejemplo, pH, temperatura, humedad relativa, presencia o ausencia de oxígeno, tratamientos antifúngicos y otros que interactuando con la a_w, determinan la mayor o menor proliferación de microorganismos. La mayoría de los hongos presentan una a_w limitante

entre 0,800 y 0,950, Pitt (1.975) estudió más de cuarenta especies de hongos xerofílicos, aquellos capaces de crecer por debajo de 0,850 y encontró varios que son capaces de crecer a valores menores de a_w. En la tabla **1.V.1** se pueden observar valores mínimos de a_w para el crecimiento de los hongos encontrados en alimentos y la producción de micotoxinas (Alzamora, 1.998).

La relación entre el contenido de humedad en el equilibrio con la humedad relativa del ambiente es importante en el campo de la tecnología de alimentos ya que tiene participación en procesos tales como el secado, envasado y almacenamiento (Basunia y Abe, 1.999; Belarbi y col., 2.000). A las temperaturas a las que normalmente se almacenan los granos y semillas en Argentina es necesario establecer los límites de a_w de los mismos, para que, durante el período en el cual los materiales estén almacenados, no se produzca desarrollo fúngico ni producción de toxinas. Se dispone actualmente de tecnología adecuada para la medición de a_w de alimentos, que permite registrar datos durante las etapas que atraviesa el producto desde la cosecha hasta el consumo final, pero no está suficientemente difundida en el país. Tradicionalmente el parámetro utilizado es el contenido de humedad del producto, por lo que, el conocimiento de las isotermas de sorción permite estimar el valor de a_w mediante la medición del mismo a una dada temperatura.

Tabla 1.V.1. **Valores de a_w mínima para el crecimiento y producción de toxinas de hongos filamentosos de interés en alimentos. (adaptado de Alzamora, 1.998)**

Especie	a_w **mínima**	
	crecimiento	**producción toxina**
Aspergillus clavatus	0,850	0,990
Aspergillus flavus	0,780	
Aspergillus flavus	0,840	
Aspergillus flavus	0,800	0,830-0,870
Aspergillus ochraceus	0,850	
Aspergillus ochraceus	0,830	0,830 - 0,870
Aspergillus ochraceus	0,770	
Aspergillus ochraceus	0,810	0,880
Aspergillus ochraceus	0,800	
Aspergillus ochraceus	0,760	0,810
Aspergillus parasiticus	0,820	0,870
Aspergillus restrictus	0,710	
Aspergillus versicolor	0,740	
Byssoclamys nivea	0,840	
Eurotium spp.	0,730	
Eurotium spp.	0,660	
Paecilomyces varioti	0,840	
Penicillium citrinum	0,800	
Penicillium cyclopium	0,810	0,870-0,900
Penicillium cyclopium	0,820	
Penicillium cyclopium	0,830	
Penicillium cyclopium	0,850	
Penicillium cyclopium	0,870	0,970
Penicillium cyclopium		0,820
Penicillium expansum	0,830 - 0,850	0,990
Penicillium expansum	0,830	
Penicillium expansum	0,830	
Penicillium islandicum	0,830	
Penicillium martensii	0,830	0,990
Penicillium martensii	0,790	
Penicillium patulum	0,830-0,850	0,950
Penicillium patulum	0,810	
Penicillium patulum	0,830	
Penicillium patulum	0,850	
Penicillium viridicatum	0,830	0,830- 0,860
Penicillium viridicatum	0,810	
Trichothecium roseum	0,900	
Trichothecium roseum	0,900	

La sorción de agua en alimentos es un fenómeno complejo que posee características propias intrínsecas a la naturaleza de los mismos. Los materiales biológicos difieren en su comportamiento frente a la adsorción respecto a los sistemas teóricos clásicos en tres aspectos fundamentales: a) el proceso de sorción no está necesariamente restringido a la formación de una capa de sorbato (agua); b) el proceso de sorción frecuentemente involucra adsorción superficial y adsorción interna y c) el sorbente (material) es heterogéneo en cuanto a la variabilidad que existe entre los sitios activos para la adsorción. Los principales constituyentes de los cereales y leguminosas son biopolímeros tales como almidón, proteína y celulosa, los cuales sufren cambios en su constitución, dimensión y otras propiedades como consecuencia de la sorción de agua; estos cambios dificultan enormemente la interpretación teórica de fenómeno.

La isoterma de sorción de agua de un alimento representa las propiedades higroscópicas integradas de numerosos constituyentes, cuyas propiedades de sorción pueden cambiar como consecuencia de interacciones físicas y/o químicas inducidas por calentamiento u otros pretratamientos (Iglesias y Chirife, 1.976a; Chirife e Iglesias, 1.978). Es de gran importancia contar con ecuaciones que permitan la descripción matemática de las isotermas de sorción de agua de los alimentos ya que las mismas permiten predecir tiempos de secado, vida útil de productos deshidratados y envasados, condiciones de estabilidad, etc. Por este motivo se han utilizado numerosas ecuaciones para describir el fenómeno de sorción. Sobre la base de modelos de sorción física de gases en sólidos inorgánicos, Langmuir (1.918) postuló una ecuación para describir la adsorción polimolecular sobre la base de que la adsorción está confinada a sitios definidos en la superficie adsorbente y que la misma está limitada a una sola capa. La ecuación de Langmuir se puede escribir como:

$$\frac{M}{M_m} = \frac{c_L a_w}{1 + c_L}$$

donde: M = contenido de agua en base seca

M_m = contenido de agua cuando todos los sitios activos tienen una molécula de agua adsorbida (valor de monocapa)

a_w = actividad de agua

c_L = constante de Langmuir que depende de la naturaleza de la interacción entre el adsorbato y el sorbente y de la temperatura.

En alimentos en general, la cantidad de agua que se puede adsorber es mayor que la que corresponde a la monocapa, por lo que esta ecuación no tiene aplicación práctica.

Brunauer, Emmett y Teller (1.938), postularon un modelo para explicar el fenómeno de sorción de agua en el que se asume que las superficies internas del material biológico pueden considerarse como formadas por un arreglo de sitios de sorción específicos cada uno de los cuales son capaces de adsorber más de una molécula de agua en forma concatenada. La ecuación de estos autores, conocida como ecuación BET es la siguiente:

$$\frac{M}{M_m} = \frac{c_B a_w}{(1-a_w)(1-a_w+c_B a_w)}$$

La constante c_B está relacionada con la entalpía de sorción de las moléculas adsorbidas en la primera capa ($H1$) y es igual a:

$$c_B = \frac{j_I}{j_L}\exp\left(\frac{H_I H_L}{RT}\right)$$

donde: H_L es la entalpía de condensación del agua y el cociente j_I / j_L es usualmente considerado igual a 1.

La ecuación BET se puede reescribir como:

$$\frac{M}{M_m} = \frac{c_L a_w}{1+c_L a_w} + \frac{a_w}{1-a_w} \qquad \textbf{Ecuación 1.V.1}$$

donde: $c_L = c_B - 1$

Escrita de esta forma la ecuación BET describe la adsorción como la suma de dos términos: el primero tiene la misma forma que la ecuación de Langmuir (1.918) más un término adicional que corresponde a la formación de multicapas.

Básicamente el modelo de sorción de BET es simple: "pilas" perpendiculares de moléculas adsorbidas en sitios idénticos que son independientes unos de otros, en equilibrio dinámico con un gas ideal. La teoría BET ha sido severamente criticada, pero, en general, se puede considerar como un compromiso útil entre la teoría y la práctica. La ecuación BET ha sido extensamente utilizada para interpretar la sorción de agua en biopolímeros (Van der Berg y Bruin, 1.981) y describe razonablemente bien la parte inferior de la isoterma (hasta a_w = 0,400) de numerosos biopolímeros puros, cereales y oleaginosas. Sin embargo, en casi todos los casos, la humedad de equilibrio experimental a a_w mayores que 0,400 es menor que la predicha por esta teoría. No obstante esta desventaja, el modelo de estos autores provee información acerca del fenómeno de sorción localizada siendo difícil de mejorar sin perder simplicidad, lo cual constituye uno de sus mayores atractivos.

Anderson (1.946), observó que la ecuación BET se podía usar hasta a_w= 0,700 si se multiplicaba la a_w por otra constante, menor que la unidad, obteniendo la siguiente ecuación:

$$\frac{M}{M_m} = \frac{c_B K a_w}{(1 - K a_w)(1 - K a_w + c_B K a_w)}$$

donde: $K = exp\ (H_d / RT)$, siendo $H_d = H_2 - H_L$, donde H_2 es la entalpía molar de sorción de la segunda y siguientes moléculas y H_L la entalpía de condensación del agua pura.

De Boer (1.953) y Guggenheim (1.966) interpretaron teóricamente la ecuación propuesta por Anderson (1.946) con lo cual la ecuación resultante, conocida como ecuación GAB, se puede reescribir como:

$$\frac{M}{M_m} = \frac{(c_G - 1)Ka_w}{1 + (c_G - 1)Ka_w} + \frac{Ka_w}{1 - Ka_w}$$ **Ecuación 1.V.2**

Si se compara esta expresión con la ecuación **1.V.1** se infiere que ahora la constante de Langmuir (c_L) es igual a $(c_G\text{-}1)K$. El segundo término de la ecuación **1.V.2** representa tal como en la ecuación **1.V.1** la formación de multicapas.

Las constantes c_G y K tienen las siguientes expresiones:

$$c_G(T) = c'_G \exp(H_l - H_m)/(RT)$$

siendo c'_G = constante; H_l = calor total de sorción de la primera capa y H_m = calor total de sorción en multicapa, el cual difiere del calor de condensación del agua pura.

$$K(T) = K' \exp(H_L - H_m)/(RT),$$

siendo H_L el calor de condensación del agua pura y K' = constante.

Esta ecuación se puede considerar como una extensión de la ecuación de BET, en la cual las tres constantes dependen de las características del producto y de la temperatura y deben ser determinadas a partir de los datos experimentales de sorción de agua, es decir que es necesario contar con la isoterma de sorción de agua del material en todo el rango de a_w.

En el transcurso de los años se han reportado en literatura muchas ecuaciones matemáticas que describen las isotermas de sorción de agua de diferentes materiales, siguiendo estas diferentes teorías y modelos. Cada uno de ellos, teóricos, semiempíricos o empíricos han sido utilizados con diferente éxito para reproducir datos de contenido de humedad de equilibrio para un dado material y en un dado rango de a_w (Chirife e Iglesias, 1.978). Sin embargo, hay que tener en cuenta que las isotermas de sorción de agua de muchos alimentos se pueden describir matemáticamente por más de una ecuación, por lo que es necesario, entonces, evaluar comparativamente la capacidad de ajuste de varias ecuaciones cuando se trata de elegir una que describa el comportamiento frente a la adsorción de un dado producto. Van

der Berg y Bruin (1.981) recopilaron setenta y siete ecuaciones encontradas en bibliografía, y en un intento por clasificarlas las agruparon en cuatro grupos de acuerdo al origen de las mismas como sigue:

1. modelos de sorción en monocapa, solo que describe la primera porción de la curva sigmoidea de la isoterma (bajos valores de a_w)

2. modelos de sorción en multicapas y films condensados sobre el material sorbente

3. modelos de sorción originadas en la ciencia de polímeros

4. modelos de sorción y ecuaciones extraídas desde la ingeniería agrícola y de los alimentos.

Boquet y col. (1.978) utilizaron distintas ecuaciones matemáticas aplicadas a las isotermas de sorción en diversos tipos de alimentos y encontraron que la ecuación más versátil era la de Halsey (Iglesias y Chirife, 1.976b), seguida de la de Oswin (1.946). Dichos autores demostraron que para maíz, trigo, arroz cocido, etc., la que mejor ajustaba los datos experimentales era la ecuación de Oswin (1.946) y para porotos, arvejas, lentejas, etc. se comportaba mejor la de Halsey (Iglesias y Chirife, 1.976b).

Boente y col. (1.996) estudiaron isotermas de sorción en maiz aplicando ecuaciones matemáticas con dos o tres parámetros en su estructura, y descartando aquellos modelos que no fueron utilizados anteriormente en alimentos. Muchas de estas ecuaciones fueron incluídas en la clasificación de Van der Berg (Van der Berg y Bruin, 1.981) y son las que se usaron para la realización de este trabajo.

2. OBJETIVOS

El poroto negro representa uno de los cultivos más importantes en la macro región Noroeste Argentina, siendo la provincia de Salta la principal productora. Esta producción es casi en su totalidad destinada a la exportación, y la apertura de los mercados internacionales está asociada a una buena calidad del producto.

El presente trabajo estudia dos aspectos relacionados con el mantenimiento de la calidad higiénico-sanitaria del poroto negro.

La información sobre contaminación fúngica asociada a poroto, tanto en el ámbito nacional como internacional, es escasa, por esta razón los objetivos son:

Aislar e identificar la micoflora endógena contaminante de las variedades de porotos comerciales y precomerciales, recién cosechados en 1.999, así como aportar información sobre la influencia de las condiciones meteorológicas durante el cultivo, sobre la prevalencia de la contaminación fúngica.

Estimar la posibilidad de la contaminación por micotoxinas, considerando la capacidad potencial de la micoflora presente de producir metabolitos tóxicos.

Establecer el nivel de seguridad de humedad para un adecuado almacenamiento del poroto negro producido en la Argentina, a fin de evitar la proliferación de hongos y la contaminación por micotoxinas analizando la posibilidad de almacenar diferentes variedades en el mismo silo. Para ello, se determinan las isotermas de adsorción de cinco variedades comerciales, se evalúan diferentes ecuaciones matemáticas de ajuste para la representación de las isotermas y por último se las compara.

3. METODOLOGIA

3.I. Muestreo. Diseño experimental. Condiciones metereológicas

Todas las muestras fueron suministradas por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación experimental Cerrillos cultivadas en tres localidades de la provincia de Salta, Cerrillos, Metán y Pichanal. La ubicación geográfica de las mismas puede apreciarse en la figura **3.I.1.**.

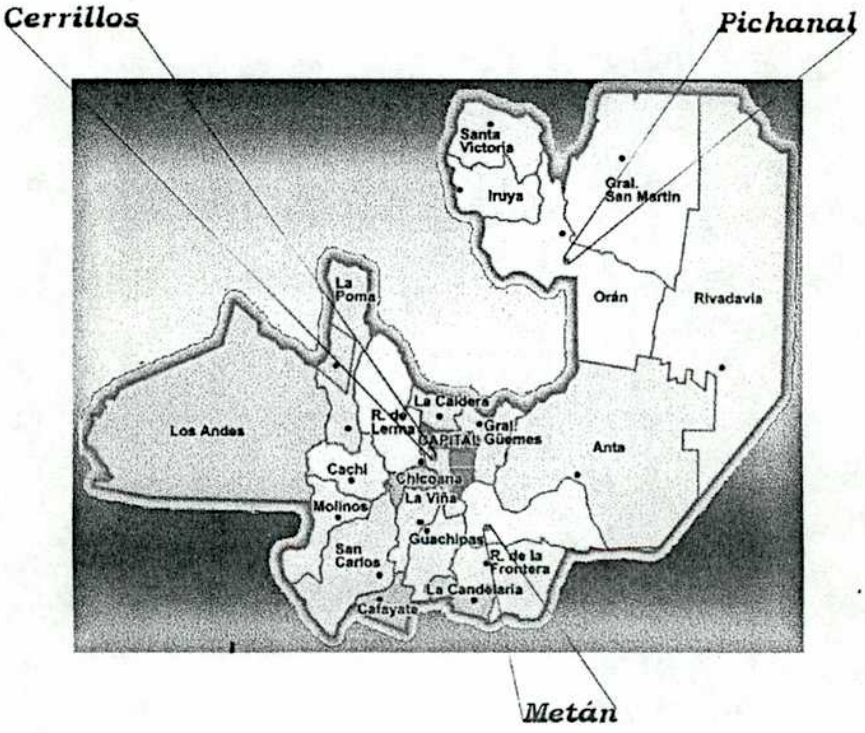
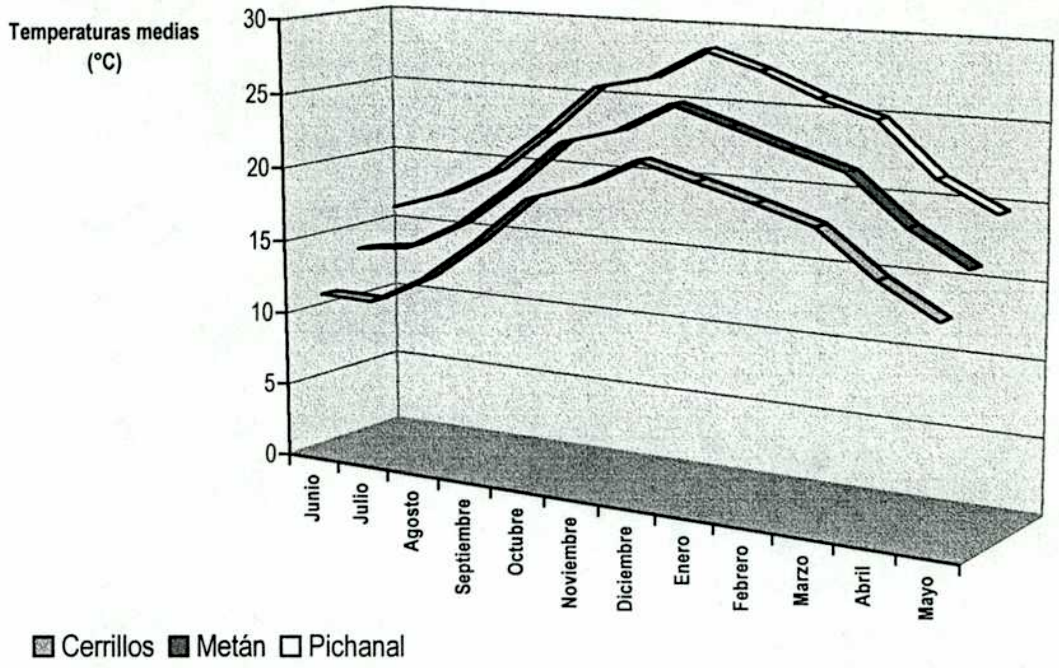


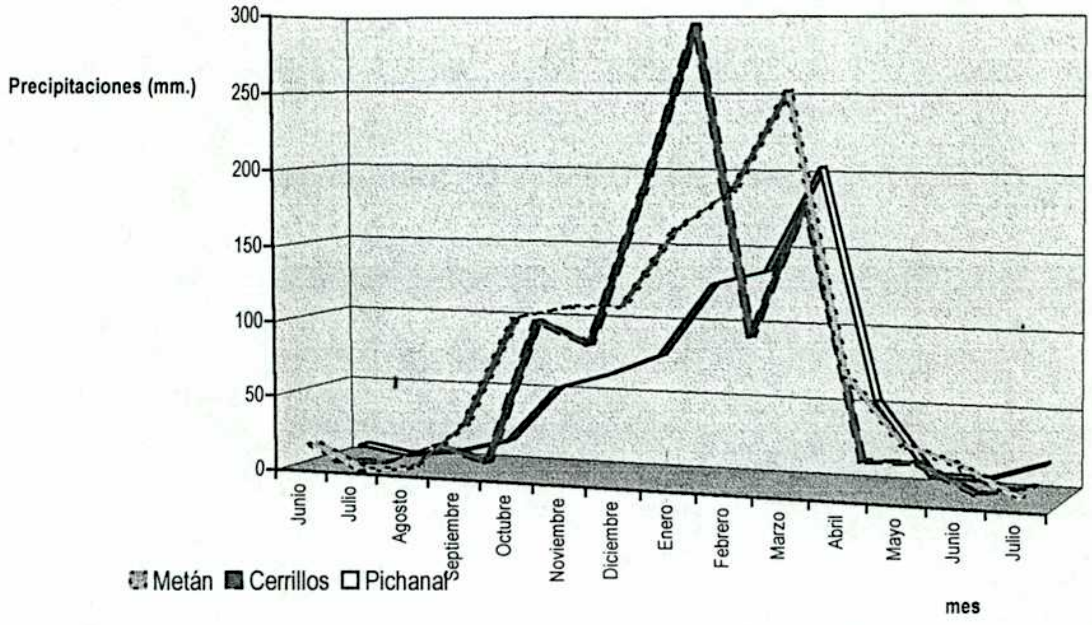
***Figura* 3.I.1. Ubicación geográfica de las localidades de Cerrillos, Metán y Pichanal en la provincia de Salta, República Argentina (Cámara de Diputados de la Provincia de Salta, 2002).**

Las muestras fueron recolectadas durante la cosecha 1.999 a partir de ensayos de rendimiento a campo. Se evaluaron diez variedades de porotos

negros, cinco comerciales y cinco experimentales, siendo las comerciales denominadas Camilo, NAG 12, TUC 500, JEO 1 y JEO 2 y las experimentales fueron Cegro 96/4, Cegro 96/6, DOR 604, FT88/519 y NAB 80. Todas las variedades comerciales se encuentran inscriptas por el ex-Instituto Nacional de Semillas (INASE). Con el objeto de ejemplificar el diseño experimental se describe el ensayo de rendimiento a campo para la localidad de Metán durante la campaña 1.999 (figura **3.I.2.**). La siembra de las semillas de las 10 variedades se realizó por cuadriplicado y al azar, generando un total de 40 muestras por localidad, por lo que 120 fueron las muestras evaluadas. La siembra se realizó durante el mes de febrero de 1.999 en las tres localidades. Considerando que el ciclo del cultivo del poroto es de aproximadamente 90 a 100 días, la fecha de cosecha fue durante los meses de mayo y junio, dependiendo esto de las condiciones metereológicas en cada una de las zonas. Para los años 1.998 y 1.999 las condiciones metereológicas, tales como lluvias totales promedio y temperaturas promedios, para las localidades estudiadas se representan en las figuras **3.I.3.** y **3.I.4.** (SAGPyA, 2.002 y Servicio Metereológico Nacional, 1.999). Durante el mes de marzo las lluvias fueron mayores en la localidad de Metán. Las temperaturas medias registradas fueron siempre mayores para la localidad de Pichanal; factores que pueden incidir tanto en el rendimiento y calidad del poroto como sobre la fecha de cosecha. De acuerdo a las prácticas de cultivo la cosecha se realiza manual o mecánicamente. Las plantas enteras recolectadas, adecuadamente identificadas, se colocaron a los costados de cada una de las parcelas para su secado al sol. Una vez secas se retiraron las semillas y se colocaron en bolsas rotuladas con la descripción del material y las condiciones del ensayo. Se cuartearon las muestras y aproximadamente 500 g del material de cada una de las muestras se remitieron al laboratorio en envases de papel adecuadamente identificados para realizar el presente trabajo. Se separó una fracción de cada una de las muestras para la determinación de humedad inicial y de las isotermas de sorción. El resto se almacenó a 4 °C en heladera. A partir de este material se procedió al estudio de la micoflora contaminante.



Figuras 3.I.3. **Temperaturas medias registradas durante la campaña agrícola 1.998/99 en las localidades de Cerrillos, Metán y Pichanal, provincia de Salta.**



Figuras 3.I.4. **Precipitaciones registradas durante la campaña agrícola 1.998/99 en las localidades de Cerrillos, Metán y Pichanal, provincia de Salta.**

Figura 3.I.2. **Descripción del ensayo de rendimiento a campo de 10 variedades de porotos negros en la localidad de Metán durante la campaña 1.999.**

Fecha de siembra: 13 de febrero de 1999

Longitud de surco: 4 m 4 surcos por material

Superficie total: 20.5 m x (40.0 x 0.7 m)= 574 m²

1 calle 2 m= 56 m²

Variedad	6	10	3	1	7	5	9	4	2	8
Parcela	**603**	**602**	**601**	**600**	**599**	**598**	**597**	**596**	**595**	**594**
Variedad	5	4	7	9	2	10	6	3	8	1
Parcela	**584**	**585**	**586**	**587**	**588**	**589**	**590**	**591**	**592**	**593**
Variedad	2	8	7	1	3	5	4	6	10	9
Parcela	**583**	**582**	**581**	**580**	**579**	**578**	**577**	**576**	**575**	**574**
Variedad	3	1	8	2	5	4	7	6	9	10
Parcela	**564**	**565**	**566**	**567**	**568**	**569**	**570**	**571**	**572**	**573**

Materiales:

1- Cegro 96/4
2- Cegro 96/6
3- DOR 604
4- NAB 80
5- FT 88/519
6- Camilo (T)
7- TUC 500 (T)
8- JEO 1 (T)
9- JEO 1 (T)
10- JEO 2 (T)

3.II. Micoflora

3.II.1. Aislamiento de la micoflora contaminante

3.II.1.a. Equipos y medios de cultivo para el aislamiento

- Agar extracto de levadura-glucosa-cloranfenicol (YGCA): Merck art. 1.600

  Composición (g/l de agua destilada)

Extracto de levadura	5,0
D (+) - glucosa	20,0
Cloranfenicol	0,1
Agar-agar	14,9

  pH: 6,6 ± 0,1

- Agar papa glucosa (PDA): Merck art.10.130

  Composición (g/l de agua destilada)

Infusión de papa (a partir de 200 g de papa)	4,0
D (+) - glucosa	20,0
Agar-agar	15,0

  pH: 5,6 ± 0,1

- Estufas Modelo FS900 a 25 °C

3.II.1.b. Procedimiento para el aislamiento de la micoflora contaminante

Micoflora interna: De cada muestra se tomaron al azar 100 semillas, las cuales fueron desinfectadas superficialmente sumergiéndolas en una solución acuosa al 5 % de hipoclorito de sodio comercial por un minuto, se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril. Las semillas escurridas se dispusieron en 5 cajas de Petri con YGCA estériles, en cada una de las cuales se colocaron 20 semillas. Las placas fueron incubadas en oscuridad a

25 °C durante 7 días. Las colonias de los hongos que desarrollaron se pasaron a tubos con PDA inclinados, para su posterior identificación (aislamientos primarios). Se incubaron a 25 °C durante 7 días.

3.II.2. Identificación de la micoflora contaminante

3.II.2.a. Equipos y medios para la identificación

- Agar Czapek-Dox (CDA): Merck art. 5.460

  Composición (g/l de agua destilada):

Sacarosa	30,0
$NaNO_3$	3,0
KCl	0,5
$FeSO_4.7H_2O$	0,01
K_2HPO_4	1,0
Agar-agar	13,0

  pH: 7,3 ± 0,1

- Agar hoja de clavel (CLA)

  Composición (g/l de agua destilada):

Agar-agar (Merck art.1613)	15,0

  Hojas jóvenes de clavel, sanas y libres de pesticidas (*Dianthus caryophyllus*) en fragmentos de 5 x 5 mm.

- Agar hoja de clavel con cloruro de potasio (CLA-KCl)

  Composición (g/l de agua destilada):

Agar-agar (Merck art.1.613)	15,0
KCl (Merck art. 4.936)	8,0

- Agar Czapek-extracto de levadura (CYA)

  Composición (g/l de agua destilada):

KH_2PO_4 (Merck art. 4.873)	1,0
Concentrado de Czapek	1,0 ml

Extracto de levadura en polvo (Merck art. 3.753)	5,0
Sacarosa (Merck art. 7.651)	30,0
Agar-agar (Merck art. 1.613)	20,0

- Concentrado de Czapek

  Composición (g/100 ml de agua destilada):

$NaNO_3$ (Merck art. 6.537)	30,0
KCl (Merck art. 4.936)	5,0
$MgSO_4.7H_2O$ (Merck art. 5.886)	5,0
$FeSO_4.7H_2O$ (Merck art. 3.965)	0,1

- Agar extracto de malta (MEA): Merck art. 5.398

  Composición (g/l de agua destilada):

Extracto de malta	30,0
Peptona de harina de soja	3,0
Agar-Agar	15,0

  pH: 5,6 ± 0,1

- Agar 25% glicerol-nitrato (G25N)

  Composición (g/l de agua destilada):

K_2HPO_4 (Merck art. 5.104)	0,75
Concentrado de Czapek	7,5 ml
Extracto de levadura (Merck art. 3.753)	3,7
Glicerol p.a. (Merck art. 4.094)	250,0
Agar-agar (Merck art. 1.613)	12,0

- Medio semisólido (SM)

  Composición (g/l de agua destilada):

Agar-agar	2,0
Tween 80 (Merck art. 822.187)	0,5

- Estufas Modelo FS900 a 25 °C

Todos los medios de cultivo fueron esterilizados en autoclave a 121 °C por 15 minutos. (González y col., 1.995).

3.II.2.b.Procedimiento para la identificación de la micoflora contaminante

La identificación de los aislamientos primarios se realizó observando las características microscópicas mediante la técnica de microcultivo en cámara húmeda. La descripción de la técnica es la siguiente:

1. En una caja de Petri se colocó un disco de papel de filtro, una varilla de vidrio en forma de "U" o triángulo y un portaobjeto, todos estos elementos se esterilizaron en forma conjunta en estufa durante 2 horas a 180 °C.
2. En otra caja de Petri se plaqueó agar Czapek Dox formando una capa de 2 mm de espesor. Una vez solidificado se cortó con bisturí estéril secciones de 1 cm^2 de área. Uno de estos cuadrados se colocó en el centro del portaobjeto apoyado en la varilla de vidrio dentro de la caja descripta en 1.
3. Con el ansa recta se inoculó los cuatro lados del cuadrado descripto en 2. con el hongo proveniente del aislamiento primario y se cubrió con un cubreobjeto que se flameó en forma rápida para asegurar su esterilidad. El cubreobjeto se colocó en el interior de la caja descripta en 1., donde previamente se humedeció con 2 ml de agua destilada estéril el papel de filtro, para obtener una atmósfera húmeda adecuada. Todo el conjunto se incubó a 25 °C.
4. Las observaciones microscópicas se realizaron cada 12 horas (aumento 640 X ó 400 X).

El procedimiento es el mismo para todos los géneros pero con una única excepción. En el caso de las especies de *Fusarium* se utilizó Agar Clavel y Agar Clavel con KCl en lugar de agar Czapek Dox, como se describe además en **3.II.2.b.1**.

3.II.2.b.1. Identificación de los aislados de *Fusarium*

Para la identificación de los aislados del género *Fusarium* se siguió la metodología propuesta por Nelson y col. (1.983). Para ello a partir de aislamientos primarios en PDA, incubados a 25 °C durante 7 días, se realizaron cultivos monospóricos. Para esto se utilizaron placas de Agar agua al 1,5% con el agregado de sulfato de estreptomicina (0,5 g/l). Sobre el medio se colocaron, con pipetas Pasteur, 6 gotas de agua destilada estéril, se disgregó el micelio en una de ellas y posteriormente se homogeneizó la muestra. Luego de un período de incubación de 24 hs. a 25 °C se procedió a la obtención de conidios germinados mediante el uso de aguja histológica bajo lupa (40X). Un conidio fue transferido a un tubo con PDA inclinado, para observar características macroscópicas (coloración del micelio y del envés del cultivo) y otro conidio fue inoculado en CLA para observar características microscópicas de los conidios y conidióforos.

En el caso de aislados pertenecientes a la sección Liseola, un conidio se inoculó en agar hoja de clavel con cloruro de potasio, para confirmar las características microscópicas de los conidióforos.

Desarrollo de los aislados en medio Agar hoja de clavel (CLA)

Las hojas de clavel se obtuvieron de plantas jóvenes libres de residuos de pesticidas, las cuales se cortaron en trozos de aproximadamente 5 mm^2. Luego se procedió a la desinfección superficial de las hojas colocándolas en un recipiente estéril con etanol al 70% durante un minuto, pasado ese tiempo se transfirieron a una solución de hipoclorito de sodio al 5% por 1 minuto y finalmente se realizaron 3 lavados con agua destilada estéril. Los trozos ya desinfectados se introdujeron en el agar agua y se plaqueron las cajas de Petri para la posterior inoculación. Las mismas se dejaron durante 3 días a temperatura ambiente como control de esterilidad.

Como fuera descripto en **3.II.2.b.** se cortaron secciones del agar de 1 cm^2 de área conteniendo los trozos de hojas de clavel, se inocularon

monospóricamente y se incubaron durante 7 días a 25 °C con ciclos de luz blanca y luz U.V. de 12 hs. cada uno. Transcurrido el periodo de incubación, una vez colonizadas las hojas con el micelio, se inspeccionaron las cámaras de microcultivos bajo microscopio diariamente para la observación de las cadenas de microconidios, tipo de fiálides y presencia o ausencia de clamidosporas (González y col., 1.995).

Desarrollo de los aislados en Agar hoja de clavel con cloruro de potasio (CLA-KCl)

El procedimiento de preparación e inoculación del medio fue el mismo al detallado en el punto anterior, pero utilizando como medio de cultivo agar KCl, cuya composición se detalla en **3.II.2.a.**

3.II.2.b.2. Identificación de los aislados de *Aspergillus* y *Penicillium*

A partir de los aislamientos primarios en PDA incubados a 25 °C durante 7 días, se realizó la identificación de las especies siguiendo los esquemas propuestos por Ramírez (1.982) para el género *Penicillium*, y por Pitt y Hocking (1.997) y Samson y col. (1.985) para el género *Aspergillus*.

De cada uno de las estrías desarrolladas se cosecharon los conidios, suspendiéndolos en 5 ml de medio semisólido. Estas suspensiones fueron utilizadas para inocular cajas de Petri que contenían los siguientes medios: MEA, G25N y CYA. Se usaron un total de 7 cajas de Petri por cada 2 cepas, sobre la base del siguiente esquema:

MEDIOS	TEMPERATURA DE INCUBACIÓN
CYA	25 °C
	5 °C y 37 °C
	25 °C
MEA	25 °C
	25 °C
G25N	25 °C

Las placas se incubaron durante 7 días a las temperaturas indicadas en el esquema. La identificación se realizó teniendo en cuenta las siguientes características:

- Crecimiento: Se midió el diámetro de las colonias en el reverso de las placas desarrolladas en los medios a 25 °C y 37 °C. A 5 °C se determinó la germinación de las esporas a una magnificación de 200X.
- Caracteres de las colonias: Se observó el color y textura de las colonias, por observación directa o en lupa.
- Observación microscópica: Se midió y determinó la forma de las fiálides y conidios (González y col., 1.995).

3.II.2.b.3. Identificación de aislados de otros géneros

A partir de los aislamientos primarios en PDA, se realizó la identificación usando distintas metodologías de acuerdo al género en estudio.

a) Los géneros *Dematiáceos* como: *Alternaria, Arthrinium, Cladosporium, Curvularia y Epicoccum*, fueron identificados según la metodología descripta por Pitt y Hocking (1.997), resumida en **3.II.2.b.2**, y se confirmaron las observaciones morfológicas de acuerdo con Ellis (1.971).
b) Para el género *Phoma* se utilizó la metodología propuesta por Samson y col. (1.995), y se confirmaron las observaciones microscópicas de acuerdo con Von Arx (1.981).
c) Para los aislamientos de los géneros Mucorales (*Rhizopus, Mucor*) se realizó la metodología propuesta por Samson y col. (1.995).

3.II.3. Expresión de los resultados y métodos estadísticos

3.II.3.a. Frecuencia de aislamiento y densidad relativa de géneros y especies

Las frecuencias de aislamiento (Fr) y las densidades relativas (Dr) de géneros y especies fueron calculadas de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

$$Fr(\%) = (\frac{ns}{N}) \times 100$$

$$Dr(\%) = (\frac{ni}{Ni}) \times 100$$

Donde

ns = número de muestras contaminadas con hongos pertenecientes a un género o especie

N = número total de muestras

ni = número de aislados pertenecientes a un género o especie

Ni = número total de aislados fúngicos o de aislados pertenecientes a un género o especie

Se define además un valor Dr_t como el valor de densidad relativa aplicable a los datos obtenidos en las tres localidades. Esta diferencia surge debido a que el término Dr se aplica a los datos obtenidos en cada localidad que se quiere evaluar.

3.II.3.b. Test Asintótico para igualdad de proporciones

Para la comparación de las densidades relativas de aislamiento entre localidades se empleó un test asintótico para igualdad de proporciones (Devore, 1.987), el cual se define a continuación.

Sean p_1 y p_2 la proporción de individuos en las poblaciones 1 y 2, respectivamente, que poseen una característica particular. Alternativamente, si

marcamos con S un individuo que posee la característica de interés, p_1 y p_2 representan las probabilidades de hallar una marca S al elegir aleatoriamente un individuo de las poblaciones 1 y 2, respectivamente.

Se supone la disponibilidad de una muestra de m individuos a partir de la primera población y n de la segunda. Las variables X e Y representarán el número de individuos en cada muestra poseyendo la característica de interés. Dado que el tamaño de las poblaciones es mucho mayor que el tamaño de las muestras, la distribución de X puede ser considerada como binomial, con parámetros m y p_1, y similarmente Y es considerada como variable binomial con parámetros n y p_2. Suponiendo que las muestras sean independientes una de otra, X e Y son variables aleatorias independientes.

El estimador natural para p_1 - p_2, la diferencia de proporciones en la población, es la correspondiente diferencia entre las proporciones muestrales: X/m - Y/n.

Con $\hat{p}_1 = X/m$ y $\hat{p}_2 = Y/n$, el estimador de p_1 - p_2 puede ser expresado como $\hat{p}_1$ - $\hat{p}_2$.

Si $X \sim Bin\ (m,p_1)$ e $Y \sim Bin\ (n,p_2)$ con X e Y variables independientes, tenemos:

$$E(\hat{p}_1 - \hat{p}_2) = p_1 - p_2$$

Entonces $\hat{p}_1$ - $\hat{p}_2$. es un estimador insesgado de p_1 - p_2 y

$$V(\hat{p}_1 - \hat{p}_2) = \frac{p_1 q_1}{m} + \frac{p_2 q_2}{m} \quad (\text{donde } q_i = 1 - p_i)$$

Si m y n son grandes, $\hat{p}_1$ y $\hat{p}_2$ individualmente tienen distribución aproximadamente normal, el estimador $\hat{p}_1$ $\hat{p}_2$ tiene una distribución aproximadamente normal y entonces:

$$z = \frac{\hat{p}_1 - \hat{p}_2 - (p_1 - p_2)}{\sqrt{\frac{p_1 q_1}{m} + \frac{p_2 q_2}{m}}} \qquad \textbf{(Ec. 3.II.3.b.1.)}$$

tiene distribución aproximadamente normal estándar. Si la hipótesis $H_0 : p_1 - p_2 = 0$ es cierta, entonces

$$z = \frac{\hat{p}_1 - \hat{p}_2 - 0}{\sqrt{pq(\frac{1}{m} + \frac{1}{n})}} \qquad \textbf{(Ec. 3.II.3.b.2.)}$$

Bajo $H_0 : p_1 = p_2 = p$, entonces si H_0 es cierta, en vez de muestras separadas de tamaño m y n de dos poblaciones diferentes (dos distribuciones binomiales diferentes), podemos considerar que tenemos realmente una muestra de tamaño $m + n$ de una población con proporción p. Dado que el número total de individuos, en esta muestra combinada con la característica de interés, es $X + Y$, el estimador de p es:

$$\hat{p} = \frac{X+Y}{m+n} = \frac{m}{m+n}\hat{p}_1 + \frac{n}{n+m}\hat{p}_2 \qquad \textbf{(Ec. 3.II.3.b.3.)},$$

El término del extremo derecho de la ecuación anterior muestra que p es realmente un promedio ponderado de los estimadores $\hat{p}_1$ y $\hat{p}_2$

Si tomamos la ecuación (**Ec. 3.II.3.b.3**), con $\hat{q} = 1 - \hat{p}$, y sustituímos en (**Ec. 3.II.3.b.2**) el estadístico resultante tiene aproximadamente una distribución normal estándar. Por lo tanto el estadístico del test es:

$$z = \frac{\hat{p}_1 - \hat{p}_2}{\sqrt{\hat{p}\hat{q}(\frac{1}{m} + \frac{1}{n})}}$$

Si la hipótesis alternativa es $H_a : p_1 - p_2 \neq 0$, la región de rechazo para un test de nivel aproximado α es:

$$z \geq z_{\frac{\alpha}{2}} \text{ o } z \leq -z_{\frac{\alpha}{2}}$$

Si la hipótesis alternativa es unilateral, $H_a : p_1 - p_2 > 0$ o $H_a : p_1 - p_2 < 0$, las regiones de rechazo son: $z > z_\alpha$ y $z < -z_\alpha$, respectivamente, siendo z_α el valor tal que $1 - \Phi(z_\alpha) = \alpha$ (Φ: función de distribución normal estándar).

Definición de valor *p*

El valor p es el menor nivel de significación al cual la hipótesis nula es rechazada, cuando se usa un procedimiento de testeo específico sobre un determinado conjunto de datos. Una vez que el valor p ha sido determinado, la conclusión a cualquier nivel particular de α resulta de comparar el valor p con α, de la siguiente forma:

a. valor $p \leq \alpha \Rightarrow$ rechazamos H_0 a nivel α.
b. valor $p > \alpha \Rightarrow$ no rechazamos H_0 a nivel α.

Es costumbre llamar a los datos "significativos" cuando H_0 es rechazado y "no significativos" en caso contrario. El valor p es entonces el menor valor al cual los datos son significativos (Devore, 1.986).

Para los casos en que se comparó la frecuencia relativa de aislamiento,. Este Test se aplicó mediante el paquete estadístico Statistix versión 7.0 (2.000)

3.II.3.c. Test exacto de Fisher

El análisis de las posibles diferencias en el comportamiento de las frecuencias de aislamiento entre localidades se realizó empleando el Test Exacto de Fischer (Bradley; 1.968; Conover, 1.980). El mismo se define como un test para diferencias entre proporciones de dos muestras independientes. Es similar al test Chi-cuadrado, pero está diseñado específicamente para

tablas de contingencia de 2x2 y calcula valores p exactos cuando las muestras son pequeñas.

Dada dos variables X e Y, con m y n observaciones, respectivamente, se define la matriz de n * m, donde las entradas a_{ij} representan el número de observaciones con $x = i$ e $y = j$. Se calculan las sumas de columnas C_j y filas R_i de la matriz.

$$N = \sum_i R_i = \sum_j C_j \qquad (1)$$

La probabilidad condicional de obtener la matriz que se calculó en (1) está dada por

$$P_{cutoff} = \frac{(R_1!R_2!...R_m!)(C_1!C_2!...C_n!)}{N!\prod_{i,j} a_{ij}!} \qquad (2)$$

La ecuación es una generalización multivariada de la función de probabilidad hypergeométrica. Para calcular el ***valor P*** del test, las tablas deben estar ordenadas con un criterio que mida las dependencias. Existe una variedad de criterios que pueden ser usadas para determinar dicha dependencia. En el caso de matrices de contingencia de **2 x 2**, como las utilizadas en este trabajo, el test de Fisher permite el cálculo por la sumatoria de los valores p que se comparan con el nivel de significancia definido. El **P-value** del test puede ser simplemente calculado por la suma de todos los valores **P-values** ≤ P_{cutoff}, donde el último es igual a 0,05 para diferencias significativas y 0,01 para diferencias altamente significativas.

Este Test se aplicó mediante el paquete estadístico Statistix versión 7.0 (2.000)

3.II.3.d. Análisis de Varianza

Para estudiar las posibles diferencias entre variedades comerciales y entre localidades se realizó un análisis de varianza. El estudio contempló los

datos correspondientes al número de aislamientos y densidad relativa de los géneros y especies identificadas. El modelo planteado fue un modelo de análisis de la varianza de dos factores con interacciones y es descripto a continuación:

$$X_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

$1 \leq k \leq K$ (N° de réplicas: 4)

$1 \leq i \leq I$ (N° de variedades: 10)

$1 \leq j \leq J$ (N° de localidades: 3)

Donde X_{ijk} es el Número de aislamientos observados, ε_{ijk} es el error de medición, K es el número de replicaciones, I es el número de variedades y J es el número de localidades. μ es la media general, α_i es el efecto de la variedad i, β_j es el efecto de la localidad j y γ_{ij} es el efecto de interacción entre la variedad i y la localidad j.

Las hipótesis del modelo (simetría, homocedasticidad, normalidad) deben ser verificadas antes del ajuste (Boente y col., 1.996), y si fuera necesario los valores observados pueden ser transformados para obtener un mejor comportamiento de los valores residuales $\hat{e}_{ijk}$ predichos. Si la hipótesis de normalidad no puede ser sostenida a pesar de transformarse los datos, existe la posibilidad de aplicar un test no paramétrico.

3.III. Isotermas de Sorción

Las muestras de poroto negro utilizadas en estos ensayos corresponden a las cinco variedades comerciales: Camilo, NAG 12, TUC 500, JEO 1 y JEO 2. Se tuvieron en cuenta variedades comerciales debido a la necesidad de caracterizar al poroto negro argentino en las condiciones actuales del mercado.

3.III.1. Determinación de humedad

Existen numerosos métodos en bibliografía para la determinación de humedad de cereales y oleginosas basados en el secado del material, no siempre coincidentes en temperatura, tiempo, estado del material (entero o molido), cantidad de muestra y tipo de equipamiento. Los métodos fueron revisados en diversos trabajos y para diferentes materiales por Pollio y col. (1.987 y 1.992), e incluyen métodos oficiales de organismos nacionales e internacionales. Es importante mencionar la escasez de información de metodología aplicable para la determinación de humedad de porotos, por lo que se recurrió a los métodos mencionados y se hicieron las modificaciones correspondientes para el tipo de material en estudio. El criterio de selección de la temperatura utilizada para la medición de humedad fue teniendo en cuenta la composición química del poroto, ya que trabajar a altas temperaturas produce alteraciones tales como pérdida de componentes volátiles, deshidratación de azúcares, carbonización de materia orgánica, etc., y provoca errores en la determinación analítica. Debido a esto se trabaja a temperaturas por debajo de 70 °C y a presión reducida. La temperatura escogida fue de 60 ± 1 °C. El principio utilizado consistió en el secado de las semillas contenidas en pesafiltros, los cuales se colocaron en estufa de vacío reguladas a 60 °C (LAB-Line DUO VAC OVEN Modelo 3610-1) conteniendo silica gel como desecante. Se pesaron en balanza analítica una vez que las mismas llegaran a temperatura ambiente (luego de treinta minutos, aproximadamente). Las determinaciones de humedad se realizaron por diferencia de peso y se expresaron en g H_2O / 100 g masa seca.

3.III.2. Determinación de las isotermas

Para la determinación de las isotermas de sorción de los porotos se utilizo el método isopiéstico según Pollio (1.985) y Bianco y col. (2.001) determinandose la humedad como fuera descripto en **3.III.1.**.

Previamente a la realización de las isotermas de sorción se midió la a_w de las muestras utilizando un equipo Novasina Thermoconstanter Humidat TH2 (CH-8050 Zurich, Suiza) con el objeto de verificar que los valores de a_w de los porotos fueran menores que las a_w utilizadas para estimar las isotermas. De esta forma se aseguró que las humedades de equilibrio se alcanzaran por adsorción. La determinación se realizó a 25 °C utilizando soluciones salinas saturadas como patrón. Las soluciones salinas utilizadas y la a_w correspondiente a 25°C se obtuvieron de los trabajos de Pollio (1.985), y Resnik y Chirife (1.988) y figuran en la Tabla **3.III.2.1**.

Tabla 3.III.2.1 **Actividad de agua de las soluciones salinas saturadas utilizadas en la determinación de las isotermas de sorción de agua a 25 °C.**

Solución salina	a_w	Marca comercial utilizada
NaBr	0,577	NaBr pa. Art. 22.034-5 Sigma
NaCl	0,752	NaCl pa. Art. 6.404 Merck
KCl	0,842	KCl pa. Art. 4.936 Merck
$BaCl_2$	0,903	$BaCl_2$ dihidrato Art. 0970-01 JT. Baker
KNO_3	0,927	KNO_3 pa. Art. 5.063 Merck

Para evitar el crecimiento de hongos en los granos y semillas durante la adsorción de agua a humedades relativas elevadas, las muestras se trataron con una solución de cloruro de mercurio al 0,1 % ($Hg\ Cl_2$ pa Art. 4.419 Merck). Para ello las muestras se sumergían durante un breve

instante en la solución y luego se secaban con aire a temperatura ambiente para restaurar la humedad antes del tratamiento de las semillas. En cada desecador (Scienceware (Bel-Art Products) Modelo F42025) se colocaron 15 pesafiltros conteniendo cada uno aproximadamente 2 g de cada muestra. Cada determinación se realizó por triplicado y se estudiaron cinco variedades comerciales. En cada desecador se colocó un cristalizador con 100 ml de solución saturada con un exceso de 50 % en peso de sal para asegurar que la misma se mantuviera saturada hasta la finalización de la experiencia, y mantener de esta manera el ambiente de humedad relativa constante. Por medio de vacío aplicado a los desecadores se disminuyó el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio. Los mismos se colocaron en una estufa a 25°C (Modelo FS900). Las muestras se pesaron periódicamente y se consideró haber alcanzado el equilibrio cuando se alcanzaba constancia de peso (± 0,0005 g).

Las isotermas se determinaron en el rango de a_w de 0,577 a 0,927, ya que este es el de mayor importancia en lo concerniente a la estabilidad microbiológica de los granos y semillas almacenados. No se determinaron valores de humedad de equilibrio a a_w superiores a 0,927 debido a que se hace muy difícil evitar la proliferación de hongos durante el período necesario para llegar al equilibrio, lo cual puede ocasionar determinaciones erróneas en los valores de equilibrio.

La determinación de la humedad en las muestras una vez alcanzado el equilibrio, se realizó en estufa a 60 °C y en vacío como fue explicado en **3.III.1.**. Cada valor de humedad de equilibrio se tomó como promedio de tres determinaciones.

3.III.3. Modelos matemáticos de ajuste

En total fueron analizadas 19 ecuaciones matemáticas para tratar de describir las isotermas de sorción de los porotos negros, objeto de nuestro

estudio. Las mismas son descriptas a continuación con una breve reseña sobre el origen, cuando se contaba con esta información. En todas las ecuaciones a_w denota actividad de agua y M humedad.

Bradley (1.936): $\ln(\frac{1}{a_w}) = k_2 k_1^{M}$

Donde se asume que la superficie del solvente es de naturaleza polar. La primera capa se adsorbe por un fuerte dipolo inducido y este dipolo polariza la segunda capa, el cual polariza la tercera y así sucesivamente. K_2 es función de los grupos polares adsorbentes y K_1 es una función del momento dipolar del vapor adsorbido. Además K_1 incluye un término característico de las moléculas adsorbidas sobre los sitios sorbentes. Hoover y Mellon (1950) encontraron que esta ecuación ajusta bien los datos de sorción de agua en proteínas en un rango de 0.050 a 0.950 de a_w.

Caurie (Van der Berg y Bruin, 1.978): $\ln M = a + ba_w$

Ecuación completamente empírica. De acuerdo con Caurie esta ecuación es válida hasta 0,850 de a_w para la mayoría de los alimentos.

Chen (1.971): $M = a + b\ln(-\ln a_w + c)$

Al igual que la ecuación de Henderson, es una expresión semiteórica basada en la ecuación de adsorción de Gibbs.

Day y Nelson (1.965): $1 - a_w = \exp(a_1 T_1^b M_2^a T_2^b)$

donde T es la temperatura. En este experimento, la temperatura fue constante por lo que la ecuación se reduce a:

$$M = \exp[a + b\ln(-\ln(1 - a_w))]$$

la cual es la ecuación de Henderson, uno de los modelos más usados (Henderson, 1.952).

Hailwood y Horrobin (1.946): $M = 1/[a + ba_w + c1/a_w]$

Esta expresión es matemáticamente idéntica a la del modelo GAB a temperatura constante, tal como fue demostrado por Boquet y col.(1.980). La ecuación de Hailwood y Horrobin o la derivada del modelo GAB permiten tanto la interpretación teórica como la descripción matemática de las isotermas de sorción de agua de granos y otros materiales en todo el rango de a_w (0,100-0,900).

Halsey (1.948): $M = \exp[a + b(-\ln a_w)]$

Ecuación desarrollada sobre una base teórica, surgida de una revisión de la teoría BET. Iglesias y col. (1.976) encontraron que ésta ecuación con algunas modificaciones podía ser usada para ajustar razonablemente bien el comportamiento de las isotermas de sorción de sesenta y nueve alimentos diferentes en el rango de 0,100 a 0,800 de a_w.

Harkins y Jura (1.944): $M = \sqrt{(1/(a + b\ln a_w))}$

Basada en la formación de un film sobre la superficie del sólido en el material.

Kühn (1.964): $M = a + b(1/\ln a_w)$

Ecuación totalmente empírica. La ecuación de Kuhn fue utilizada por Labuza y col. (1.972) para describir los contenidos de humedad de equilibrio en leche deshidratada hasta una a_w de 0,500.

Lineal: $M = a + ba_w$

Mizrahi (1.970): $M = a[a_w/(1 - a_w)] + b(1 - a_w)^{-1}$

Oswin (1.946): $M = \exp(a + b\ln[a_w/(1 - a_w)])$

Al igual que la ecuación de Khun, la de Oswin tiene una base completamente empírica y fue utilizada por Labuza y col. (1.972) para ajustar las isotermas de sorción de leche desgrasada y deshidratada y té liofilizado hasta una a_w de 0,500.

Smith (1.947): $M = a + b\ln(1 - a_w)$

De base similar al modelo de Hailwood y Horrobin.

Dole (1.948): $M = a[a_w/(1 - a_w)]$]

Modelo extraído de la ciencia de polimeros.

Freundlich (1.926): $M = \exp(a + b\ln a_w)$

***Chirife y col.* (1.983b):** $M = \exp[a + b\ln(c - \ln a_w)]$

White y Eiring (Van der Berg y* Bruin, *1.978): $M = 1/(a + ba_w)$

Haynes (1.961): $M = a + \sqrt{b + c\ln a_w}$

Ecuación completamente empírica

Young y Nelson (1.967):

$$M = a\left[\frac{a_w(1-b)}{a_w + (1-a_w)b} + \frac{b^2}{b-1}\ln(1-(1-\frac{1}{b})a_w) - (b+1)\ln(1-a_w)\right] + c.\frac{a^2{}_w}{a_w + (1-a_w)b}$$

Este modelo surge de una combinación de la ecuación de BET y del modelo de Smith.

Ecuación Polinomial: $M = a + ba_w + ca_w^2$

3.III.4. Expresión de los resultados y métodos estadísticos empleados

En el presente trabajo se realizó un análisis de varianza (ANOVA), el cual fue descripto anteriomente por otros autores (Scheffé, 1.959), y para cada uno de los modelos matemáticos propuestos. Para el análisis de

varianza se tuvo en cuenta dos factores: las cinco variedades y el a_w en cinco niveles (a_{w1} = 0,577 (NaBr), a_{w2} = 0,752 (NaCl), a_{w3} = 0,842 (KCl), a_{w4}=0,903 ($BaCl_2$), a_{w5} = 0,927 (KNO_3)). El modelo estadístico puede ser escrito como sigue:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + e_{ijk}$$

$$1 \le k \le K_{ij}, 1 \le i \le I, 1 \le j \le J, \qquad \textbf{(3.III.4.a.)}$$

Donde *Yijk* es el contenido de humedad observado, e_{ijk} es el error de medición, Kij es el número de replicados por variedad i al nivel de a_w j-th, I es el número de variedades(I = 5) y J el número de niveles de a_w (J = 5) donde las mediciones fueron realizadas sin tener en cuenta su valor. μ, es el término medio común verdadero, α_i el efecto verdadero de la variedad *i*th, β_j el efecto verdadero a nivel de a_w *j*th y γ_{ij} el efecto de interacción entre la variedad *ith* y el nivel de a_w *jth*.

Las suposiciones del modelo (**3.III.4.a.**) (simetría, homocedasticidad, normalidad) debe verificarse antes del ajuste (Boente y col., 1.996) y si es necesario, los valores observados pueden ser transformados para obtener los valores residuales *ê ijk* predichos, un mejor comportamiento.

En este trabajo se estudiaron las diferencias entre variedades, por lo que el objetivo fue probar la suposición H_A: $\alpha_i = 0 \le i \le 5$. Previamente se analizó la existencia o no de interacciones entre el contenido de humedad y del valor de a_w (H_{AB}: $\gamma_{ij} = 0 \le i \le 5,\ 0 \le j \le 5$). En caso de encontrarse interacciones el análisis debe realizarse para cada nivel de a_w.

Para la evaluación de la bondad de ajuste de los modelos se analizaron tres criterios descriptos a continuación:

1. La media cuadrática de las desviaciones (Boente y col., 1.996)

$$S = \sum_{i=1}^{n} \varepsilon_i^2 / n$$

2. El porcentaje de desviación relativa media en módulos (Boquet ycol., 1.978)

$$P = \sum_{i=1}^{n} |\varepsilon_i| / M_i x100/n$$

3. El error medio relativo (Schär & Rüegg, 1.985)

$$E = \sum_{i=1}^{n} \varepsilon_i^2 / M_i^2 x100/n$$

Tanto P como E deberían ser usados únicamente cuando los valores residuales cambian linealmente con el *M*.

El análisis estadístico fue realizado usando los siguientes programas bajo windows 95/98: SAS versión 8.0 (1.999) y Statistix versión 7.0 (2.000).

4. *RESULTADOS Y DISCUSION*

4.I. Micoflora

4.I.1. Micoflora endógena del poroto negro cosechado en la provincia de Salta, en las localidades de Cerrillos, Metán y Pichanal en 1.999.

La micoflora interna total de porotos negros recolectados en la provincia de Salta en la cosecha 1.999 se muestra en la figura **4.I.1.a.**, en la misma puede apreciarse que fueron cuatro los géneros de hongos más importantes: *Alternaria, Fusarium, Sclerotinia* y *Rhizoctonia;* representando el 67,5 % del total de hongos aislados.

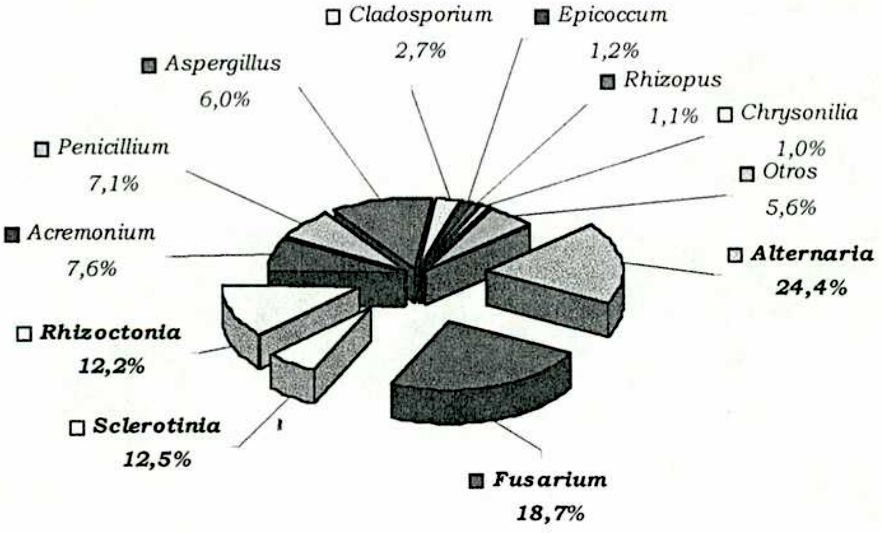


Figura 4.I.1.a. **Géneros aislados de la micoflora interna de porotos negros en la provincia de Salta, Argentina (1.999).**

En la tabla **4.I.1.a**. se pueden observar los datos del número total de aislamientos, densidad relativa (Dr) y frecuencia relativa (Fr) de los géneros de hongos aislados en las localidades de Cerrillos, Metán y Pichanal.

Tabla 4.I.1.a. **Géneros aislados de la micoflora interna de porotos negros en las localidades de Cerrillos, Metán y Pichanal, provincia de Salta, Argentina (1.999)**

Género	**Cerrillos**			**Metán**			**Pichanal**		
	No	**Dr**	**Fr**	**No**	**Dr**	**Fr**	**No**	**Dr**	**Fr**
Acremonium	80	6,44	17,50	169	10,81	20,00	23	2,98	12,50
Alternaria	196	15,77	60,00	631	40,37	100,00	48	6,21	50,00
Arthrinium	1	0,08	2,50				4	0,52	2,50
Aspergillus	164	13,19	15,00	41	2,62	20,00	8	1,03	12,50
Botrytis							7	0,91	2,50
Cladosporium	79	6,36	62,50	6	0,38	10,00	12	1,55	17,50
Colletotrichum	3	0,24	5,00	8	0,51	2,50			
Chaetomium	2	0,16	5,00						
Curvularia				1	0,07	2,50			
Chrysonilia	25	2,01	5,00	11	0,70	7,50			
Epicoccum	19	1,53	32,50	20	1,28	25,00	3	0,39	5,00
Eurotium	2	0,16	5,00				2	0,26	2,50
Eupenicillium				2	0,14	2,50			
Fusarium	381	30,65	57,50	216	13,82	77,50	71	9,18	45,00
Microdochium	1	0,09	2,50						
Mucor							10	1,29	7,50
Penicillium	63	5,07	27,50	75	4,80	45,00	115	14,88	65,00
Pestaloptiopsis	2	0,16	2,50						
Phoma				4	0,26	5,00			
Rhizoctonia	45	3,62	25,00	280	17,91	67,50	110	14,23	60,00
Rhizopus	30	2,41	40,00	4	0,26	10,00	5	0,65	5,00
Sclerotinia	141	11,34	35,00	89	5,69	30,00	217	28,07	67,50
Trichotecium	9	0,72	2,50				3	0,39	2,50
Verticillium				6	0,38	2,50			
Levaduras							135	17,46	22,5
Totales	**1.243**	**100**		**1.563**	**100**		**773**	**100**	

No: número de aislamientos; Dr: densidad relativa (%); Fr: frecuencia de aislamiento (%)

El mayor número de aislamientos se presentó en la localidad de Metán (1.563), seguido por Cerrillos (1.243) y Pichanal (773). Debido a que uno de los objetivos del presente trabajo fue identificar las especies potencialmente toxicogénicas (incluídas dentro de los hongos filamentosos), no se realizó la identificación de las levaduras.

Cuando se analizaron los resultados obtenidos por localidad y teniendo en cuenta los géneros identificados, puede verse que, respecto a Dr en la localidad de Cerrillos, el género predominante fue *Fusarium* con Dr=30,65 % seguido por el género *Alternaria* con Dr=15,77 %. Es importante

destacar la presencia de especies pertenecientes al género *Aspergillus*, ya que las mismas tienen una Dr=13,19 %, por lo que es el tercer género en importancia. En cuarto lugar se encuentra el género *Sclerotinia* con Dr=11,34 %. Estos cuatro géneros y para esta localidad representan un 70,95 % de los aislados. En base a estos datos podemos ver que especies del género *Fusarium* aisladas en esta localidad tuvieron un recuento de 381 aislados sobre un total de 668 (Dr_t=57,04 %) en las tres localidades.

Los datos obtenidos en Metán muestran que el género *Alternaria* es el más importante (Dr=40,37 %) seguido de *Rhizoctonia* (Dr=17,91 %), *Fusarium* (Dr=13,82 %) y *Acremonium* (Dr=10,81 %), dando un total de 82,92 % del total de aislados para la localidad. De acuerdo con estos datos, los 631 aislados pertenecientes al género *Alternaria* representaron una Dr_t=72,11 % de un total de 875 aislados en las tres localidades.

Para Pichanal los resultados fueron distintos a los anteriores ya que el género predominante fue *Sclerotinia* con una Dr de 28,07 % seguido por levaduras (Dr=17,46 %), *Penicillium* (Dr=14,88 %) y *Rhizoctonia* (Dr=14,23 %), obteniendo un 74,64 % del total de aislados para la localidad. El predominio del género *Sclerotinia* se ve reflejado en el recuento total, ya que fueron 217 los aislados de este género, representando una Dr_t=48,54 % del total de los 447 aislados en las tres localidades.

Al igual que para las Dr, las Fr de cada género identificado se encuentran descriptas por localidad en la tabla **4.I.1.a.**

Especies del género *Cladosporium* fueron aisladas con mayor frecuencia en Cerrillos, ya que estuvieron presentes en las muestras provenientes de 25 parcelas de un total de 40 (Fr=62,50 %), seguido por *Alternaria* (Fr=60,00 %), *Fusarium* (Fr=57,50 %) y *Rhizopus* (Fr=40,00 %). A pesar de su alta frecuencia, el género *Cladosporium* presentó bajo número de aislamientos en esta localidad, mientras que especies de los géneros *Alternaria* y *Fusarium* no solamente fueron frecuentes si no también mostraron un alto número de aislamientos, lo que es importante teniendo en cuenta su potencial capacidad toxicogénica.

En Metán el género aislado en forma prevalente fue *Alternaria*, encontrándose en todas las muestras analizadas (Fr=100,00 %). En orden

decreciente de frecuencia los géneros más importantes fueron: *Fusarium* (Fr=77,50 %), *Rhizoctonia* (Fr=67,50 %) y *Penicillium* (Fr=45,00 %).

Mientras que en Pichanal el orden de frecuencia decreciente es el siguiente: *Sclerotinia* (Fr = 67,50 %), *Penicillium* (Fr = 65,00 %), *Rhizoctonia* (Fr = 60,00 %), *Alternaria* (Fr = 50,00 %) y *Fusarium* (Fr = 45,00 %).

En la figura **4.I.1.b.**, se pueden observar las ocho especies aisladas más importantes, que representan el 78,63 % de los aislados totales en las tres localidades.

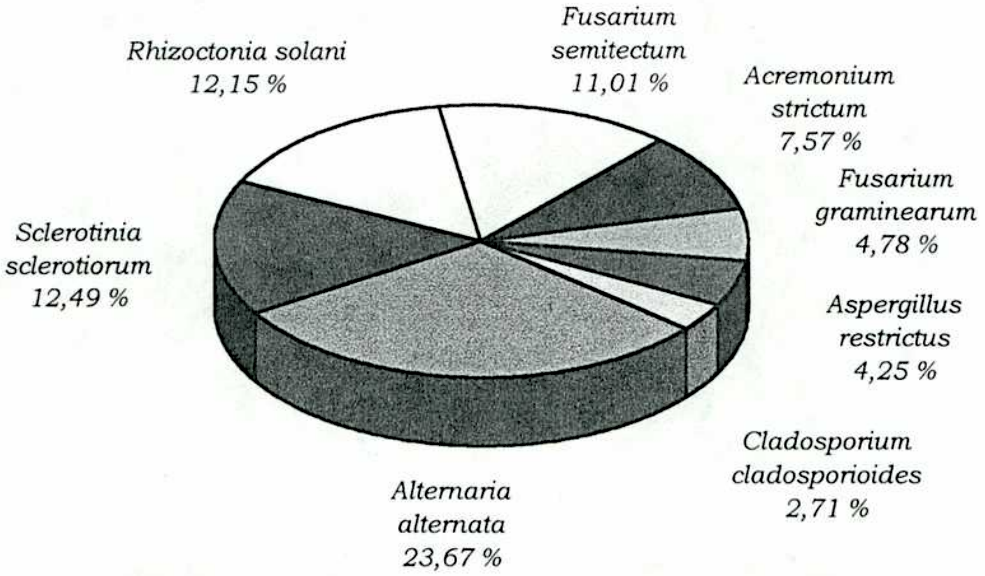


Figura 4.I.1.b. **Especies más importantes aisladas de los porotos negros en la cosecha 1.999 en las localidades de Cerrillos, Metán y Pichanal, provincia de Salta, Argentina.**

En la tabla **4.I.1.b**. pueden apreciarse los géneros y especies aislados en todas las muestras de porotos negros estudiadas.

Tabla 4.I.1.b. **Géneros y especies de mohos aislados de porotos negros en la cosecha 1.999 en la provincia de Salta, Argentina.**

Género / Especie		**Dr_t (%)**	
		Género	**Especie**
Alternaria		24,45	
	Alternaria alternata		23,67
	Alternaria tenuissima		0,78
Fusarium		18,66	
	Fusarium semitectum		11,01
	Fusarium graminearum		4,78
	Fusarium equiseti		1,09
	Fusarium oxysporum		0,50
	Fusarium avenaceum		0,28
	Fusarium decemcellulare		0,28
	Fusarium verticillioides		0,28
	Fusarium subglutinans		0,22
	Fusarium heterosporum		0,14
	Fusarium sambucinum		0,08
	Sclerotinia sclerotiorum	12,49	12,49
	Rhizoctonia solani	12,15	12,15
Acremonium		7,60	
	Acremonium strictum		7,57
	Acremonium charticola		0,03
Penicillium		7,07	
	Penicillium citrinum		1,79
	Penicillium restrictum		1,70
	Penicillium funiculosum		1,26
	Penicillium glabrum		1,12
	Penicillium variabile		0,78
	Penicillium purpurogenum		0,42
Aspergillus		5,95	
	Aspergillus restrictus		4,25
	Aspergillus flavipes		0,87
	Aspergillus flavus		0,47
	Aspergillus wentii		0,14
	Aspergillus niger		0,08
	Aspergillus niveus		0,08
	Aspergillus sydowi		0,06
	Cladosporium cladosporioides	2,71	2,71
	Epicoccum nigrum	1,17	1,17
	Rhizopus stolonifer	1,09	1,09
	Chrysonilia sitophila	1,01	1,01
	Trichotecium roseum	0,34	0,34
	Colletotrichum gloeosporioides	0,31	0,31
Mucor		0,28	
	Mucor circinelloides		0,03
	Mucor racemosus		0,25
	Botrytis cinerea	0,20	0,20
	Verticillium spp.	0,17	0,17
	Arthrinium phaeospermum	0,14	0,14
	Eurotium chevalieri	0,11	0,11

Tabla 4.I.1.b. **Géneros y especies de mohos aislados de porotos negros en la cosecha 1.999 en la provincia de Salta, Argentina. (continuación)**

Género / Especie	**Dr_t (%)**	
	Género	**Especie**
Phoma glomerata	0,11	0,11
Chaetomium globosum	0,06	0,06
Eupenicillium cinnamopurpureum	0,06	0,06
Pestaloptiopsis guepinii	0,06	0,06
Curvularia lunata	0,03	0,03
Microdochium nivale	0,03	0,03

En la tabla **4.I.1.c** se encuentran las especies de hongos aisladas e identificadas de los porotos negros en las tres localidades: Cerrillos, Metán y Pichanal. Teniendo en cuenta que los géneros más importantes fueron *Alternaria*, *Fusarium*, *Sclerotinia* y *Rhizoctonia*, solo se analizaron los datos de las especies pertenecientes a estos géneros. Dentro del género *Alternaria* se identificaron sólo dos especies, *Alternaria alternata y Alternaria tenuissima* (847 y 28 aislados, respectivamente). Como puede observarse en la tabla **4.I.1.c.,** Metán presentó los mayores valores de Dr para *A. alternata* con 612 aislamientos, lo que representa una Dr_t=72,25 % con respecto al total de aislados de la especie en las tres localidades (No=875). El mismo comportamiento se observó para los datos de Fr, ya que *A. alternata* estuvo presente en 39 muestras del total de 40 para esta zona (Fr = 97,50 %).

Tabla 4.I.1.c. **Mohos aislados de la micoflora interna de porotos negros en la provincia de Salta, Argentina (1.999).**

	Cerrillos		**Metán**		**Pichanal**	
Número de aislados	**1.243**		**1.563**		**773**	
Especies	**Fr**	**Dr**	**Fr**	**Dr**	**Fr**	**Dr**
Acremonium charticola	2,50	0,09				
Acremonium strictum	15,00	6,36	20,00	10,81	12,50	2,98
Alternaria alternata	55,00	15,04	97,50	39,16	50,00	6,21
Alternaria tenuissima	5,00	0,72	5,00	1,22	0,00	
Arthrinium phaeospermum	2,50	0,08			2,50	0,52
Aspergillus flavipes	2,50	0,32	2,50	1,60	2,50	0,26
Aspergillus flavus	2,50	0,32	7,50	0,51	7,50	0,65
Aspergillus niger			5,00	0,19		
Aspergillus niveus			2,50	0,19		
Aspergillus restrictus	10,00	12,24				
Aspergillus sydowi			2,50	0,13		
Aspergillus wentii	2,50	0,32			2,50	0,13
Botrytis cinerea					2,50	0,91
Cladosporium cladosporioides	62,50	6,36	10,00	0,38	17,50	1,55
Colletotrichum gloeosporioides	5,00	0,24	2,50	0,51		
Curvularia lunata			2,50	0,06		
Chaetomium globosum	5,00	0,17				
Chrysonilia sitophila	5,00	2,02	7,50	0,70		
Epicoccum nigrum	32,50	1,53	25,00	1,28	5,00	0,39
Eupenicillium cinnamopurpureum			2,50	0,13		
Eurotium chevalieri	5,00	0,16			2,50	0,26
Fusarium avenaceum			5,00	0,13	2,50	1,03
Fusarium decemcellulare	7,50	0,80				
Fusarium equiseti	5,00	1,05	7,50	1,34	2,50	0,65
Fusarium graminearum	27,50	4,02	62,50	7,74		
Fusarium heterosporum	5,00	0,24	2,50	0,13		
Fusarium verticillioides	2,50	0,48	2,50	0,13	2,50	0,26
Fusarium oxysporum	5,00	0,80	2,50	0,26	5,00	0,52
Fusarium sambucinum			2,50	0,19		
Fusarium semitectum	32,50	23,25	17,50	3,39	35,00	6,73
Fusarium subglutinans			5,00	0,51		
Microdochium nivale	2,50	0,08				
Mucor circinelloides					2,50	0,13
Mucor racemosus					5,00	1,16
Penicillium citrinum	20,00	3,22	17,50	0,96	10,00	1,16
Penicillium glabrum	2,50	0,56	7,50	1,41	5,00	1,42
Penicillium restrictum	2,50	0,80	12,50	2,24	12,50	2,07
Penicillium funiculosum	2,50	0,24	5,00	0,13	30,00	5,17
Penicillium purpurogenum	2,50	0,08			5,00	1,81
Penicillium variabile	2,50	0,16	2,50	0,06	10,00	3,23
Pestaloptiopsis guepinii	2,50	0,16				
Phoma glomerata			5,00	0,27		
Rhizoctonia solani	25,00	3,62	65,00	17,91	60,00	14,23
Rhizopus stolonifer	40,00	2,41	10,00	0,26	5,00	0,65
Sclerotinia sclerotiorum	35,00	11,34	30,00	5,69	67,50	28,07
Trichotecium roseum	2,50	0,72			2,50	0,39
Verticillium spp.			2,50	0,38		

Fr (%): Frecuencia relativa de aislamiento; Dr (%): Densidad relativa.

En la figura **4.I.1.c.** se pueden observar las especies de *Fusarium* identificadas en las tres localidades, siendo predominante *Fusarium semitectum,* seguido por *Fusarium graminearum* y *Fusarium equiseti.*

En la localidad de Cerrillos, *F. semitectum* mostró una Dr=23,25 %, siendo el valor máximo para esta especie. En lo que respecta a *F. graminearum* la Dr fue mayor en Metán (7,74 %), destacando que dicha especie estuvo ausente en la localidad de Pichanal. El número total de aislamientos para las dos primeras especies de *Fusarium* fueron de 565 representando una Dr de 84,58 % del total de aislados del género. Los valores de Dr para *F. equiseti* fueron muy bajos a pesar de ser la tercer especie en importancia de este género. *F. semitectum* estuvo presente en 14 muestras en la localidad de Pichanal, representando el máximo de Fr para esta especie (35,00 %). Mientras que *F. graminearum* fue aislado con mayor frecuencia en Metán (Fr=62,50 %).

Como se mencionó anteriormente (tabla **4.I.1.c.),** el tercer género en importancia fue *Sclerotinia* cuya única especie identificada fue *Sclerotinia sclerotiorum;* al igual que el género *Rhizoctonia* que también estuvo representado por una única especie, *Rhizoctonia solani. S. sclerotiorum* con Dr=28,07 % y Fr=67,50 % fue superior en Pichanal con respecto a las otras dos zonas. *R. solani* presentó una Dr=17,91 % y una Fr=65,00 % para la localidad de Metán, siendo estos valores mayores en comparación con las otras dos localidades.

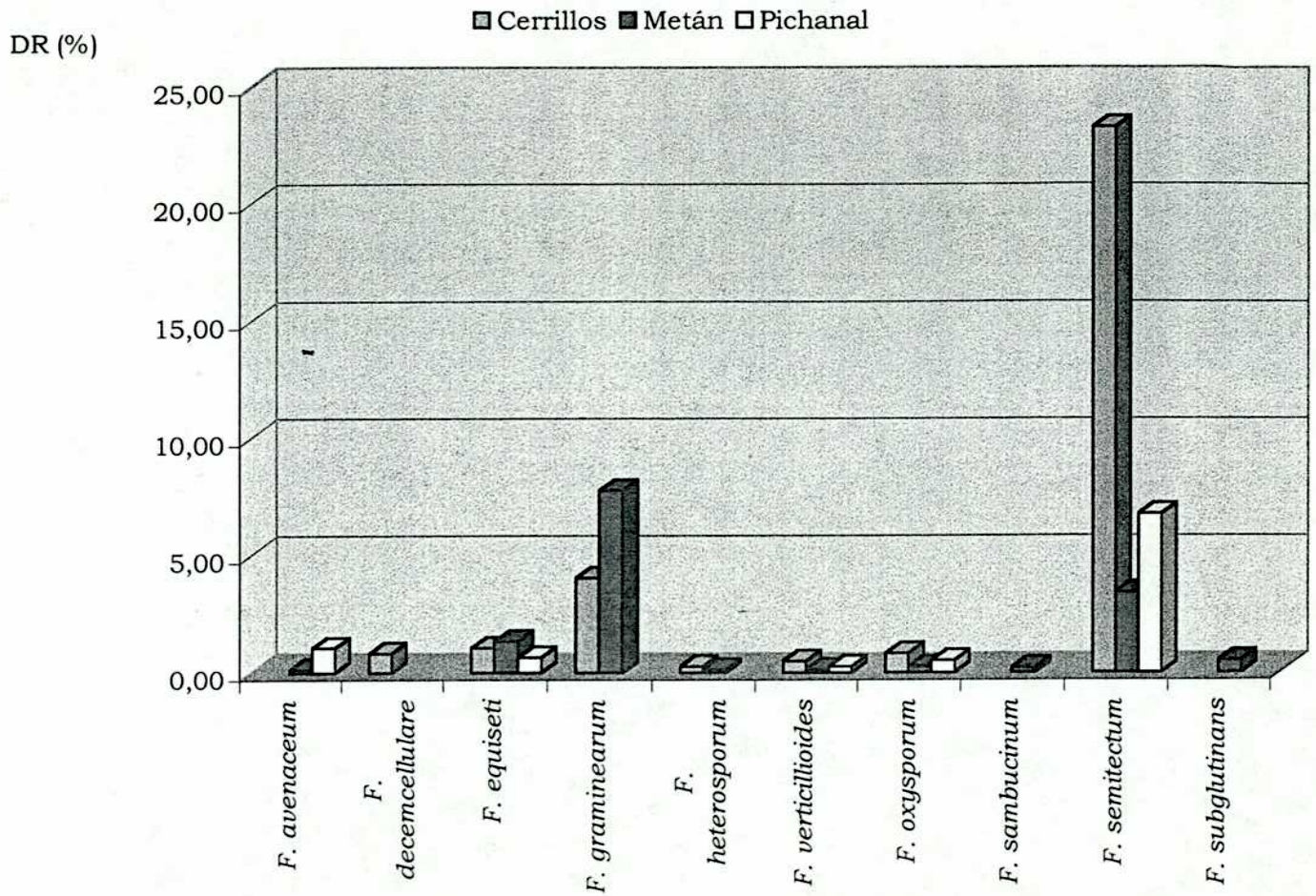


Figura 4.I.1.c. **Especies de *Fusarium* aisladas de los porotos negros cosechados en 1.999 en la provincia de Salta, Argentina**

La micoflora aislada en el poroto negro en la provincia de Salta en el año 1.999, si se compara con las tablas **1.III.2.** y **1.III.3.** es cualitativamente similar a la observada en distintos tipos de porotos. Sin embargo en el poroto negro en particular, *A. flavus* fue la especie más frecuente en Tailandia, y *F. semitectum* fue el segundo en importancia (Pitt y col., 1.994). Para otros tipos de porotos dentro de la misma especie (*Phaseolus vulgaris* L.), Pepeljnjak *(1.984)* reportó que los géneros *Fusarium*, *Cladosporium* y *Alternaria* fueron los más frecuentes en aquellos recién cosechados. El mismo autor señala que la micoflora identificada fue diferente en porotos almacenados, presentando mayor frecuencia de aislamiento especies del género *Aspergillus* y *Penicillium*, en contraste con lo observado en el poroto negro cosechado en Salta, donde *A. flavus* fue aislado con muy bajas Dr y Fr.

La micoflora en porotos secos recién cosechados en Canadá fue similar a la hallada en este trabajo, ya que *A. alternata* fue el hongo aislado en forma prevalente, mientras que especies de *Aspergillus* fueron las más importantes en Taiwán (Tseng y col., 1.995).

Las especies identificadas a partir del análisis de micoflora en el poroto negro cosechado en la provincia de Salta son indicadoras de la factibilidad de contaminación por diversas micotoxinas. En la tabla **4.I.1.d** se pueden observar las toxinas más importantes que podrían producir los hongos toxicogénicos aislados e identificados en este trabajo. Según las condiciones metereológicas en el cultivo cualquiera de estas especies puede expresarse, colonizando y produciendo micotoxinas. Teniendo en cuenta las Fr y Dr de la contaminación fúngica en el año 1.999, las toxinas más factibles serían deoxinivalenol y zearalenona producidas por *F. graminearum* y *F. semitectum*; y acido tenuazónico, alternariol y alternariol monometil éter producidos por *Alternaria alternata.*

A pesar que en el año 1.999 *Aspergillus flavus* se manifestó con muy bajos niveles de incidencia, es necesario tener en cuenta que bajo ciertas condiciones de almacenamiento esta especie de importancia toxicológica tiene la capacidad de producir aflatoxinas y ácido ciclopiazónico. En el caso del género *Penicillium*, el comportamiento es similar y la especie más importante fue *P. citrinum*, conocido productor de citrinina.

Tabla 4.I.1.d. Toxinas mayores y menores capaces de ser producidas por las especies fúngicas aisladas del poroto negro de la provincia de Salta, Argentina (1.999).

Especie fúngica	Toxinas más importantes	Otras toxinas
Alternaria alternata	acido tenuazónico (AT), alternariol (AOH), alternariol mono metil éter (AME)	altenueno (AE), altertoxin I y II
Fusarium semitectum	Zearalenona (Zea)	toxina T2 (T2), diacetoxiscirpenol (DAS), nivalenol (NIV), fusarenona X (FX), neosolaniol (NEO), equisetina,etc.
Fusarium graminearum	DON y sus derivados 3 y 15 acetildeoxinivalenol (3 y 15-ADON), Zea	NIV, T2, toxina HT2 (HT2), DAS, NEO, butenólido, culmorin, sambucinol, calonectrina, fusarinas
Fusarium equiseti	Zea, Zearalenona 4 sulfato, fusarocromanona, butenólido	T2, HT2, NEO, DON, 15-ADON, FX, NIV, equisetina, enniatina, culmorina, clamidosporol
Fusarium oxysporum	Moniliformina (MON)	ZEA, wortmannina, NIV, fusarenona X, sambutoxina
Fusarium avenaceum	MON	fusarina C, enniantinas
Fusarium verticillioides	fumonisina B1, B2, B3 y B4 (FB1, FB2, FB3 y FB4)	fusarina C, A, D, E y F, ácido fusárico
Fusarium subglutinans	MON	FB1
Fusarium heterosporum	T2	
Fusarium sambucinum	DAS, Zea y derivados	
Penicillium citrinum	Citrinina	
Penicillium funiculosum	Patulina	
Penicillium purpurogenum	rubratoxinas	
Aspergillus flavus	ácido ciclopiazónico, aflatoxinas B1, B2, G1 y G2	aflatoxinas M1 y M2
Aspergillus wentii	emodinas	
Aspergillus niger	ocratoxina A	
Aspergillus niveus	posiblemente, citrinina	
Trichotecium roseum	tricotecina, tricotecolon, 12,13-epoxi-4-(1-oxobut-2-eniloxi)-tricotecen-9-eno	
Eurotium chevalieri	equinulina, neoequinulina	
Microdochium nivale	Zea	DON

Fuente: Pitt y Hocking (1.997), Broggi y Moltó (2.002), Betina (1.989)

4.I.2. Comparación de la flora fúngica entre localidades

La evaluación de las posibles diferencias entre localidades para los datos de Dr se realizó mediante la utilización del test asintótico para igualdad de proporciones definido en el punto **3.II.3.b.**. En los anexos **1**, **2**, y **3.** pueden observarse todos los valores obtenidos de la comparación de especies de hongos identificadas en las tres localidades evaluadas. En las tablas **4.I.2.a.**, **4.I.2.b.**, y **4.I.2.c.**, pueden observarse los valores p obtenidos de las comparaciones entre localidades para los datos de Dr de las especies identificadas. Las diferencias son significativas y altamente significativas cuando los valores p obtenidos son <0,05 y <0,01, respectivamente.

En las comparaciones hechas entre Pichanal y Metán se observaron, para las especies pertenecientes a los géneros prevalentes, diferencias significativas para *F. avenaceum* y *R. solani,* y diferencias altamente significativas para *A. alternata, A. tenuissima, F. graminearum, F. semitectum, F. subglutinans* y *S. sclerotiorum.*

En las comparaciones hechas entre Pichanal y Cerrillos las diferencias fueron altamente significativas para *A. alternata, A. tenuissima, F. avenaceum, F. decemcellulare, F. graminearum, F. semitectum, R. solani* y *S. sclerotiorum.*

En las comparaciones hechas entre Metán y Cerrillos las diferencias fueron altamente significativas para *A. alternata, F. decemcellulare, F. graminearum, F. semitectum, F. subglutinans, R. solani* y *S. sclerotiorum.*

Tabla 4.I.2.a. **Valores p para las Dr de hongos aislados en Pichanal y Metán mediante el test definido en 3.II.3.b.**

Especies	**Pichanal-Metán**	
	Diferencias significativas	**Diferencias altamente significativas**
	Valor p <0.05	**Valor p<0.01**
Acremonium strictum		0,00000
Alternaria alternata		**0,00000**
Alternaria tenuissima		**0,00001**
Arthrinium phaeospermum	0,04494	
Aspergillus flavipes		0,00025
Botrytis cinerea		0,00786
Cladosporium cladosporioides	0,01317	
Colletotrichum gloeosporioides		0,00457
Chrysonilia sitophila		0,00087
Epicoccum nigrum	0,01371	
Fusarium avenaceum	**0,01560**	
Fusarium graminearum		**0,00000**
Fusarium semitectum		**0,00096**
Fusarium subglutinans		**0,00457**
Mucor racemosus		0,00255
Penicillium funiculosum		0,00000
Penicillium purpurogenum		0,00016
Penicillium variabile		0,00000
Phoma glomerata	0,04522	
Rhizoctonia solani	**0,02030**	
Sclerotinia sclerotiorum		**0,00000**
Verticillium spp.	0,01412	

Tabla 4.I.2.b. **Valores p para las Dr de hongos aislados en Pichanal y Cerrillos mediante el test definido en 3.II.3.b..**

Especies	**Pichanal-Cerrillos**	
	Diferencias significativas	**Diferencias altamente significativas**
	Valor p <0.05	**Valor p<0.01**
Acremonium strictum		0,00025
Alternaria alternata		**0,00000**
Alternaria tenuissima		**0,00260**
Aspergillus restrictus		0,00000
Botrytis cinerea		0,00786
Cladosporium cladosporioides		0,00000
Chrysonilia sitophila		0,00000
Epicoccum nigrum		0,00583
Fusarium avenaceum		**0,00447**
Fusarium decemcellulare		**0,00150**
Fusarium graminearum		**0,00000**
Fusarium semitectum		**0,00000**
Mucor racemosus		0,00255
Penicillium citrinum		0,00116
Penicillium funiculosum		0,00000
Penicillium purpurogenum		0,00037
Penicillium restrictum	0,02678	
Penicillium variabile		0,00000
Rhizoctonia solani		**0,00000**
Rhizopus stolonifer		0,00072
Sclerotinia sclerotiorum		**0,00000**

Tabla 4.I.2.c. **Valores p para las Dr de hongos aislados en Metán y Cerrillos mediante el test definido en 3.II.3.b.**

Especies	Metán-Cerrillos	
	Diferencias significativas	**Diferencias altamente significativas**
	Valor p <0.05	**Valor p<0.01**
Acremonium strictum		0,00002
Alternaria alternata		**0,00000**
Aspergillus flavipes		0,00033
Aspergillus restrictus		0,00000
Aspergillus wentii	0,04515	
Cladosporium cladosporioides		0,00000
Chrysonilia sitophila		0,00373
Fusarium decemcellulare		**0,00150**
Fusarium graminearum		**0,00002**
Fusarium semitectum		**0,00000**
Fusarium subglutinans		**0,00457**
Penicillium citrinum		0,00005
Penicillium glabrum	0,02099	
Penicillium restrictum		0,0015
Phoma glomerata	0,04522	
Rhizoctonia solani		**0,00000**
Rhizopus stolonifer		0,00000
Sclerotinia sclerotiorum		**0,00000**
Trichotecium roseum		0,00260
Verticillium spp.	0,01412	

Las posibles diferencias en el comportamiento de las frecuencias de aislamiento entre localidades se analizaron aplicando el test exacto de Fisher fue definido en el punto **3.II.3.b.**. Los resultados del análisis se describen en el anexo 4. En la tabla **4.I.2.d.** pueden observarse las diferencias estadísticas de la comparación de las Fr entre las tres localidades para las especies aisladas más importantes. Para *A. alternata* se observaron diferencias altamente significativas en las comparaciones hechas entre Pichanal-Metán y Metán-Cerrillos. El análisis de Fr para *F. graminearum* mostró diferencias altamente significativas en todas las comparaciones. Para *R. solani* se registraron diferencias altamente significativas en las comparaciones hechas entre Metán-Cerrillos y Pichanal-Cerrillos. Mientras

que para *S. sclerotiorum* se observaron diferencias altamente significativas en las comparaciones entre Pichanal-Metán y Pichanal-Cerrillos.

Tabla 4.I.2.d. **Nivel de significación en el estudio comparativo de las Fr (test exacto de Fisher) de las especies más importantes de hongos aisladas en las localidades de Cerrillos, Metán y Pichanal.**

Especies	Pichanal Metán	Metán Cerrillos	Pichanal Cerrillos
	Valor p	Valor p	Valor p
Alternaria alternata	0,0000	0,0000	0,8230
Fusarium graminearum	0,0000	0,0032	0,0004
Fusarium semitectum	0,1263	0,1961	1,0000
Rhizoctonia solani	0,6422	0,0003	0,0030
Sclerotinia sclerotiorum	0,0016	0,8116	0,0069

Las diferencias observadas en la micoflora aislada en el poroto negro podrían atribuirse a diferencias metereológicas, biológicas y de manejo de cultivo entre otros factores. Para *Alternaria alternata* y *Fusarium graminearum*, aislados en la provincia de Salta se observaron diferencias significativas en las comparaciones entre localidades. Estas podrían deberse a diferencias metereológicas, especialmente considerando que en Metán en el período junio 1.998 a julio 1.999 (figura **3.I.4)** el total de lluvias fue mayor que en las otras dos localidades (1144,28 mm. en Metán, 1008,20 mm. en Cerrillos, 759,92 mm. en Pichanal).

Mientras que *Sclerotinia sclerotiorum* muestra alta incidencia en la localidad de Pichanal y diferencias altamente significativas cuando se compara con las localidades de Metán y Cerrillos. Estas diferencias podrían explicarse Tanto por las mayores temperaturas como las menores precipitaciones registradas en Pichanal con respecto a las otras dos localidades en el período mencionado (figura **3.I.3.**). Marinelli (2.000) sugiere que el factor más importante es la lluvia, ya que favorece la eclosión de los esclerocios luego de un período de sequia, con posterior desarrollo del hongo e infección.

4.I.3. Comparación de la flora fúngica entre las variedades y las localidades.

Se realizó un análisis exploratorio para investigar la posible presencia de interacciones entre variedades, localidades y flora fúngica. En la tabla ***4.I.3.a.*** se detallan los números asignados para cada una de las variedades estudiadas en el presente análisis estadístico, mientras que en la tabla ***4.I.3.b.*** se nombran los correspondientes a las localidades evaluadas.

Tabla 4.I.3.a. **Números asignados para cada una de las variedades estudiadas.**

Variedad	Número asignado
Camilo(Tuc)	1
Cegro96/4	2
Cegro96/6	3
DOR604	4
FT88/519	5
JEO1(TUC)	6
JEO2(TUC)	7
NAB80	8
NAG12(Tuc)	9
TUC500	10

Tabla 4.I.3.b. **Números asignados para cada una de las localidades estudiadas.**

Localidad	Número asignado
Cerrillos	1
Metán	2
Pichanal	3

En la figura ***4.I.3.a.*** se representa a modo de ejemplo el promedio del número total de aislamientos y en la figura ***4.I.3.b.*** el número de aislamientos promedio de *Sclerotinia sclerotiorum* para cada variedad y localidad; la ausencia de paralelismo observada en ambas figuras indica la presencia de interacciones entre los efectos de variedad y localidad.

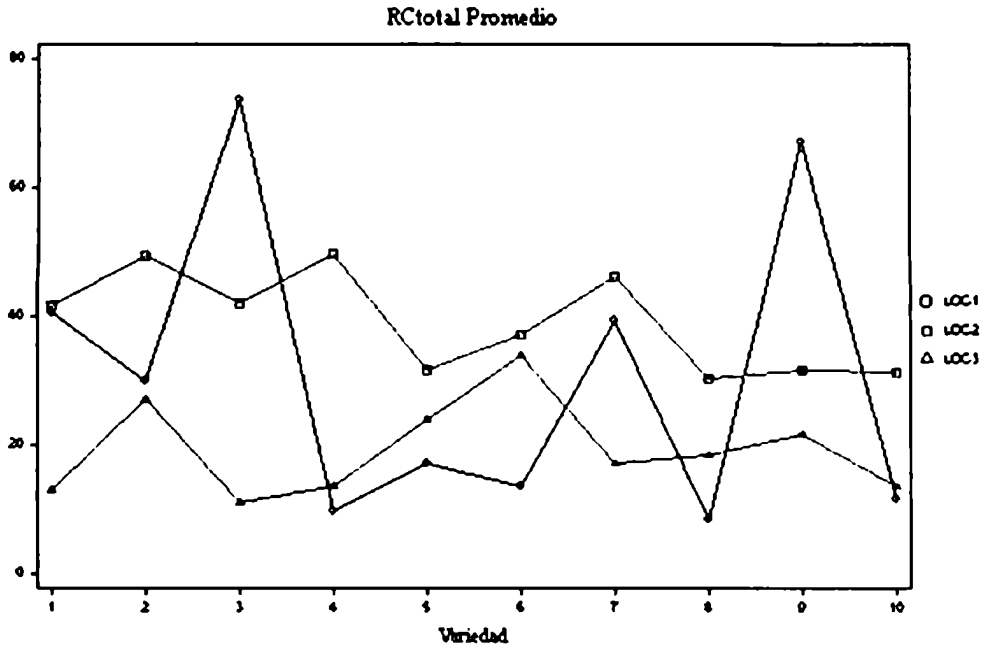


Figura 4.I.3.a. **Número total de aislamientos (RCtotal) promedio por variedad y localidad.**

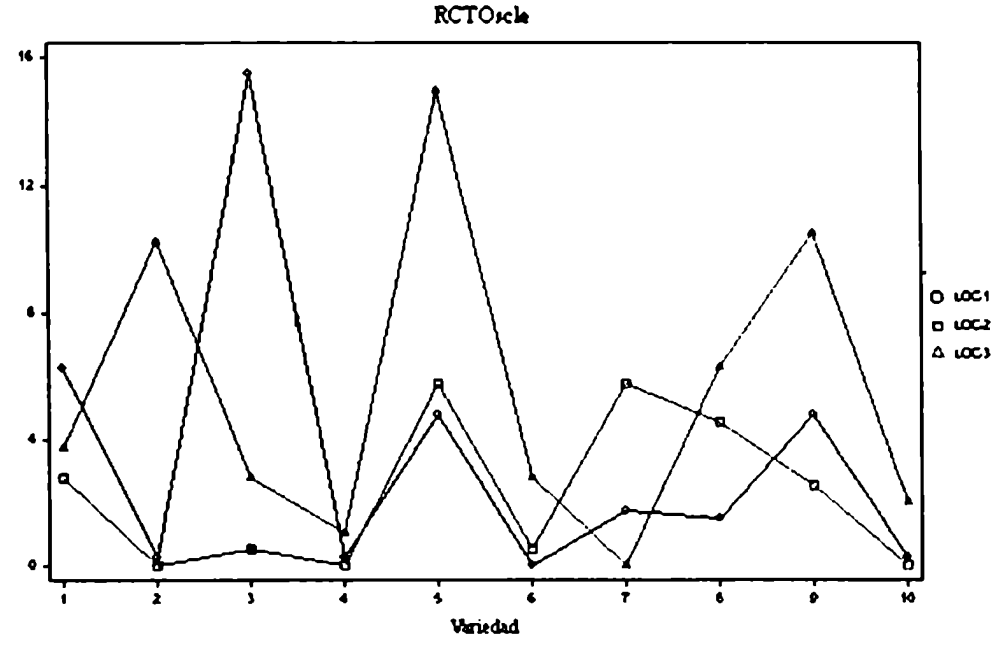


Figura 4.I.3.b. **Número de aislamientos (RCTOscle) promedio de *Sclerotinia sclerotiorum* por variedad y localidad.**

Los ajustes del modelo definido en **3.II.3.d.** en todas las variables analizadas mostraron interacciones significativas en el caso de las siguientes variables: número total de aislamientos, número total de aislamientos de *Fusarium* y número de aislamientos de *Fusarium semitectum*. A pesar que en las restantes variables no se detectaron interacciones significativas, el análisis gráfico parece indicar la presencia de interacciones aun en casos en que los tests estadísticos no las detectaron.

Debido a la presencia de interacciones, se decidió trabajar en todos los casos dentro de cada localidad para estudiar las posibles diferencias entre variedades, por lo que el modelo ***3.II.3.d.*** se redujo a un modelo de la varianza de un factor (la variedad), descripto por la ecuación ***4.I.3.a.***

$$X_{ik} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ik}$$ ***Ecuación 4.I.3.a.***

Dado que no se satisfacen las hipótesis básicas para utilizar el test F de análisis de varianza (por ejemplo, se rechaza la hipótesis de igualdad de varianzas) se trabajó sobre los datos transformados logarítmicamente según la ecuación ***4.I.3.b.*** que a continuación se describe.

No. total de aislamientos = ln (No. total de aislamientos +1) ***Ecuación 4.I.3.b.***

4.I.3.a. Número de aislamientos

Las salidas correspondientes a los resultados del análisis de varianza obtenidas mediante SAS versión 8.0 para la localidad de Cerrillos son los que a continuación se detallan en la Tabla ***4.I.3.a.1.***

Tabla 4.I.3.a.1. **Análisis de varianza por variedad para Número total de aislamientos en la localidad de Cerrillos**

ONE-WAY AOV FOR Número total de aislamientos BY VAR

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
BETWEEN	9	23.7151	2.63501	2.49	0.0292
WITHIN	30	31.7129	1.05710		
TOTAL	39	55.4280			

Los resultados obtenidos del análisis descripto muestran posibles diferencias significativas al 5 %. Cabe destacar que los tests de igualdad de varianzas no rechazan la hipótesis de homocedasticidad sobre los datos transformados ya que se obtuvo un valor p = 0,7556, como se describe en la Tabla ***4.I.3.a.2.***

Tabla 4.I.3.a.2. **Test de igualdad de varianza para Número total de aislamientos en la localidad de Cerrillos.**

	CHI-SQ	DF	P
BARTLETT'S TEST OF EQUAL VARIANCES	5.84	9	0.7556

COCHRAN'S Q	0.1924
LARGEST VAR / SMALLEST VAR	7.0307

Con el objeto de comparar diferencias de medias entre variedades se realizó un test que permite identificar aquellos grupos significativamente diferentes.

Los resultados del test se describen en la tabla ***4.I.3.a.3.***

Tabla 4.I.3.a.3. **Comparación de medias para Número total de aislamientos por variedad en la localidad de Cerrillos.**

TUKEY (HSD) COMPARISON OF MEANS OF Número total de aislamientos BY VAR

VAR	MEAN	HOMOGENEOUS GROUPS
3	4.0554	I
9	3.9652	I I
7	3.6020	I I
1	3.1346	I I
2	3.0272	I I
5	2.6856	I I
6	2.5370	I I
8	2.1030	I I
10	1.9941	I I
4	1.7762	I

THERE ARE 2 GROUPS IN WHICH THE MEANS ARE
NOT SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM ONE ANOTHER.

CRITICAL Q VALUE	4.381	REJECTION LEVEL	0.100
CRITICAL VALUE FOR COMPARISON	2.2520		
STANDARD ERROR FOR COMPARISON	0.7270		

De esta manera pudo observarse que las únicas variedades significativamente distintas para este test a nivel 10 % serían la 3 (Cegro 96/6) y 4 (DOR 604), ya que no pertenecerían a un mismo grupo.

Sin embargo, el análisis de los residuos mostró que no se puede sostener la suposición de normalidad, por lo que se decidió repetir el análisis utilizando un test no paramétrico: el test de **Kruskal Wallis.**

En la tabla ***4.I.3.a.4.*** se muestran los resultados obtenidos al aplicar el test no paramétrico mencionado para la comparación entre variedades para los datos del número total de aislamiento y aquellos correspondientes a los géneros o especies más importantes, en todas las localidades estudiadas.

Tabla 4.I.3.a.4. **Análisis de varianza. Test no paramétrico de Kruskal Wallis para Número total de aislamientos y de los géneros o especies aislados más importantes, en todas las localidades estudiadas.**

Número de aislamientos	Localidad	Estadístico Kruskal-Wallis	Valor p
Total	1	16,1777	0,0633
	2	9,5575	0,3875
	3	4,3763	0,8849
Alternaria spp.	1	8,3472	0,4996
	2	6,0560	0,7343
	3	17,2638	0,0447
Alternaria alternata	1	7,9356	0,5406
	2	16,0163	0,0665
	3	-	-
Fusarium spp.	1	14,3634	0,1100
	2	3,6198	0,9346
	3	11,4471	0,2463
Fusarium graminearum	1	7,3735	0,5983
	2	16,7500	0,0528
	3	-	-
Fusarium semitectum	1	15,9443	0,0681
	2	4,7165	0,8583
	3	12,2124	0,2016
Rhizoctonia solani	1	10,1918	0,3352
	2	6,3343	0,7061
	3	17,0524	0,0479
Sclerotinia sclerotiorum	1	7,1795	0,6184
	2	11,4669	0,2451
	3	18,1642	0,0333

Como puede observarse en la tabla ***4.I.3.a.4.*** hubo diferencias significativas en las comparaciones entre variedades para los siguientes casos: *Alternaria spp.*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum.*

4.I.3.b. Densidades relativas.

En **4.I.2.** se discutieron las diferencias entre localidades para los datos de Dr de las especies de hongos aisladas mediante la utilización del test asintótico para igualdad de proporciones definido en **3.II.3.b.**. Cabe destacar que el análisis comparativo se hizo sin tener en cuenta las posibles influencias del factor variedad. Debido a esto y para profundizar el análisis

se realizó el análisis de varianza basado en el modelo de dos factores con interacciones planteado en **3.II.3.d.**

***Alternaria alternata*:** Para el análisis de varianza se utilizó el método F clásico y los resultados se detallan en la tabla ***4.I.3.b.1.*:**

***Tabla 4.I.3.b.1.* Análisis de varianza para Dr de *Alternaria alternata* por el método F.**

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR Dr *Alternaria alternata*

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
LOC (A)	2	23902.5	11951.3	32.88	0.0000
VAR (B)	9	965.778	107.309	0.30	0.9736
A*B	18	5808.98	322.721	0.89	0.5944
RESIDUAL	90	32711.6	363.462		
TOTAL	119	63388.9			

Como pudo observarse en la tabla ***4.I.3.b.1.*** no hubo interacciones ni diferencias significativas entre variedades. Pero si hubo diferencias entre localidades (valor p = 0,0000). El test de diferencia de medias produjo los siguientes resultados:

<u>Diferencias entre localidades</u>:

***Tabla 4.I.3.b.2.* Comparación de medias de Dr por localidad para *Alternaria alternata*.**

BONFERRONI COMPARISON OF MEANS OF Dr *Alternaria alternata* BY LOC

LOC	MEAN	HOMOGENEOUS GROUPS
2	42.200	I
1	16.578	.. I
3	9.2900	I

THERE ARE 2 GROUPS IN WHICH THE MEANS ARE
NOT SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM ONE ANOTHER.

La localidad 2 fue significativamente diferente de las localidades 1 y 3, tal como se muestra en la tabla ***4.I.3.b.2.***

Fusarium graminearum

El método F clásico arrojó los siguientes resultados (tabla ***4.I.2.b.3)***:

***Tabla 4.I.3.b.3.* Análisis de varianza para Dr de *Fusarium graminearum* por el método F.**

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR Dr *Fusarium graminearum*

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
LOC (A)	2	1756.95	878.477	16.37	0.0000
VAR (B)	9	769.812	85.5346	1.59	0.1285
A*B	18	1402.83	77.9352	1.45	0.1272
RESIDUAL	90	4830.38	53.6709		
TOTAL	119	8759.98			

Los resultados fueron similares en comportamiento a los obtenidos para Dr de *Alternaria alternata* ya que no se observaron interacciones significativas y no hubo diferencias entre variedades, pero si entre localidades. Los tests para diferencia de medias dan los siguientes resultados:

<u>Diferencias entre localidades</u>:

***Tabla 4.I.3.b.4.* Comparación de medias de Dr por localidad para *Fusarium graminearum*.**

BONFERRONI COMPARISON OF MEANS OF Dr *Fusarium graminearum* BY LOC

LOC	MEAN	HOMOGENEOUS GROUPS	
2	9.2325	I	
1	3.2175		I
3	0.0000		I

THERE ARE 2 GROUPS IN WHICH THE MEANS ARE
NOT SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM ONE ANOTHER.

La tabla ***4.I.3.b.4.*** muestra que la localidad 2 es significativamente diferente de las localidades 1 y 3. Sin embargo, se observó que en la localidad 3 esta variable toma el valor cero, por lo que se la excluyó del análisis y se repitió el análisis anterior con sólo dos localidades.

***Tabla 4.I.3.b.5.* Análisis de varianza para Dr de *Fusarium graminearum* por el método F**

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR Dr *Fusarium graminearum*

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
LOC (A)	1	723.605	723.605	8.99	0.0039
VAR (B)	9	1154.72	128.302	1.59	0.1373
A*B	9	1017.93	113.103	1.40	0.2060
RESIDUAL	60	4830.38	80.5063		
TOTAL	79	7726.63			

Según se desprende de la tabla ***4.I.3.b.5.*** no hubo cambios en los resultados ya que la localidad 1 es significativamente diferente de la localidad 2, como también puede observarse en la ***tabla 4.I.3.b.6.***

***Tabla 4.I.3.b.6.* Comparación de medias de Dr por localidad para *Fusarium graminearum*.**

BONFERRONI COMPARISON OF MEANS OF Dr *Fusarium graminearum* BY LOC

LOC	MEAN	HOMOGENEOUS GROUPS	
2	9.2325	I	
1	3.2175		I

ALL 2 MEANS ARE SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM ONE ANOTHER.

Fusarium semitectum

Como puede observarse en la tabla ***4.I.3.b.7.*** no hubo diferencias significativas en ninguna de las variables estudiadas, siendo los valores p obtenidos mayores que 0,05:

Tabla 4.I.3.b.7. **Análisis de varianza para Dr de *Fusarium semitectum* por el método F.**

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR Dr *Fusarium semitectum*

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
LOC (A)	2	1349.77	674.884	2.28	0.1061
VAR (B)	9	2024.66	224.963	0.76	0.6547
A*B	18	8619.20	478.844	1.62	0.0722
RESIDUAL	90	26652.0	296.134		
TOTAL	119	38645.7			

Rhizoctonia solani:

Tabla 4.I.3.b.8. **Análisis de varianza para Densidades relativas (Dr) de *Rhizoctonia solani* por el método F.**

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR Dr *Rhizoctonia solani*

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
LOC (A)	2	3115.79	1557.90	4.52	0.0134
VAR (B)	9	4144.08	460.454	1.34	0.2294
A*B	18	7631.09	423.949	1.23	0.2552
RESIDUAL	90	31026.0	344.733		
TOTAL	119	45917.0			

Se observa en la tabla ***4.I.3.b.8.*** que no hay interacciones significativas y que no hay diferencias entre variedades pero si entre localidades (a nivel 5%, p=0,0134). Al realizar los tests para diferencia de medias se obtuvieron los siguientes resultados.

Diferencias entre localidades:

Tabla 4.I.3.b.9. **Comparación de medias de Dr por localidad para *Rhizoctonia solani*.**

BONFERRONI COMPARISON OF MEANS OF Dr *Rhizoctonia solani* BY LOC

LOC	MEAN	HOMOGENEOUS GROUPS	
2	17.504	I	
3	17.130	I	
1	6.5125		I

THERE ARE 2 GROUPS IN WHICH THE MEANS ARE
NOT SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM ONE ANOTHER.

La tabla ***4.I.3.b.9.*** muestra que la localidad 1 (Cerrillos) es significativamente diferente de las localidades 2 y 3, mostrando la primera una menor contaminación por *Rhizoctonia solani.*

Sclerotinia sclerotiorum

Tabla 4.I.3.b.10. **Análisis de varianza para Dr de *Sclerotinia sclerotiorum* por el método F.**

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR Dr *Sclerotinia sclerotiorum*:

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
LOC (A)	2	6995.16	3497.58	13.37	0.0000
VAR (B)	9	8168.60	907.622	3.47	0.0011
A*B	18	6748.24	374.902	1.43	0.1352
RESIDUAL	90	23535.2	261.502		
TOTAL	119	45447.2			

Según la tabla ***4.I.3.b.10.*** no hubo interacciones significativas pero si hay diferencias significativas entre las variedades y las localidades. Los tests para diferencia de medias dieron los siguientes resultados:

Diferencias entre localidades:

Tabla 4.I.3.b.11. **Comparación de medias de Dr por localidad para *Sclerotinia sclerotiorum*.**

BONFERRONI COMPARISON OF MEANS OF Dr *Sclerotinia sclerotiorum* BY LOC

LOC	MEAN	HOMOGENEOUS GROUPS
3	23.688	I
1	9.5975	.. I
2	5.9925	I

THERE ARE 2 GROUPS IN WHICH THE MEANS ARE
NOT SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM ONE ANOTHER.

Según tabla ***4.I.3.b.11.*** la localidad 3 (Pichanal) es significativamente diferente de las localidades 1 y 2. Esto podría explicarse por las condiciones más secas y cálidas que se registraron en Pichanal en el año 1.999.

Diferencia entre variedades:

Tabla 4.I.3.b.12. **Comparación de medias de Dr por variedad para *Sclerotinia sclerotiorum*.**

BONFERRONI COMPARISON OF MEANS OF Dr *Sclerotinia sclerotiorum* BY VAR

VAR	MEAN	HOMOGENEOUS GROUPS	
5	32.917	I	
9	17.567	I	I
1	16.275	I	I
8	16.267	I	I
2	13.217	I	I
3	13.208	I	I
6	7.2083		I
10	5.6750		I
7	5.5333		I
4	3.0583		I

Según tabla ***4.I.3.b.12.*** las que pueden ser consideradas como pertenecientes a un mismo grupo son: {5,9,1,8,2,3} o {9,1,8,2,3,6,10,7,4}. De esta información puede destacarse que la variedad 5 (FT88/519) es la más susceptible de colonización por *Sclerotinia sclerotiorum*, mientras que la variedad 4 (DOR 604) se mostraría como la más resistente a la infección por esta especie.

4.II. Isotermas de sorción

4.II.1. Determinación de humedad.

La figura 4.II.1.1 muestra las variaciones de peso en función del tiempo de secado a 60 °C en estufa de vacío para los porotos negros estudiados. Se obtuvo constancia de peso ($\Delta P \cong 0$) a partir del séptimo día de iniciado el secado en las condiciones mencionadas.

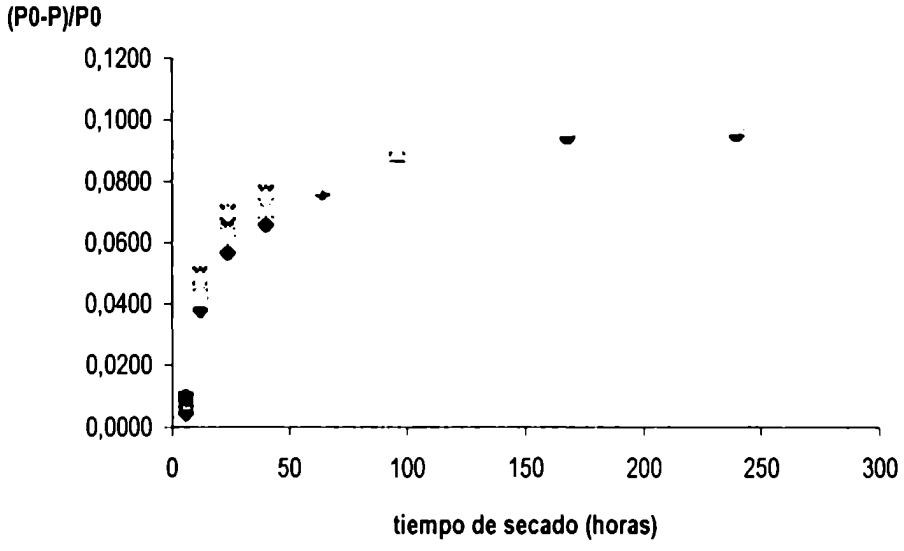


Figura 4.II.1.1. **Variación de pesos de las 5 muestras por triplicado de porotos negros durante el secado en estufa de vacío a 60 °C.**

En la tabla **4.II.1.1** se puede apreciar el contenido de humedad medio y desviación estándar de tres determinaciones de las cinco variedades estudiadas y determinadas según **3.III.1.**.

Tabla 4.II.1.1. **Contenido medio de humedad y desviación estándar de cinco repeticiones de cada una de las cinco variedades comerciales determinadas según 3.III.1.**

Variedad	***M* medio (g H20 / 100 g ms)**	**Desv. Std.**
Camilo	10,11	0,13
JEO 1	10,07	0,17
JEO 2	10,02	0,13
NAG 12	10,37	0,18
TUC 500	10,22	0,02

4.II.2. Determinación de las Isotermas de Sorción

Desde el inicio de la experiencia el tiempo requerido para llegar al equilibrio osciló entre 30 y 40 días (Anexo N° **5**), un comportamiento similar al obtenido en soja según Pollio y col. (1985).

En la tabla **4.II.2.1** se pueden observar los contenidos medios de humedad y desvio estándar para las cinco variedades de porotos estudiadas.

En la figura **4.II.2.1** se encuentran los valores de humedad en el equilibrio en función de la a_w para las cinco variedades estudiadas por triplicado. Se puede observar la mayor dispersión de datos a valores de a_w altos.

Tabla 4.II.2.1. **Contenido medio de humedad en el equilibrio y desviaciones estándar de las variedades de porotos negros por triplicado, para los cinco puntos de a_w.**

Variedad	a_w	M (g H20 / 100 g ms)	Desv. Std.
Camilo	0,577	10,64	0,12
JEO 1	0,577	10,61	0,17
JEO 2	0,577	10,56	0,12
NAG 12	0,577	10,91	0,18
TUC 500	0,577	10,76	0,02
Camilo	0,752	17,63	0,60
JEO 1	0,752	17,65	0,12
JEO 2	0,752	17,28	0,22
NAG 12	0,752	17,89	0,11
TUC 500	0,752	17,80	0,08
Camilo	0,842	24,11	0,04
JEO 1	0,842	24,26	0,42
JEO 2	0,842	24,45	0,13
NAG 12	0,842	24,62	0,46
TUC 500	0,842	24,40	0,12
Camilo	0,903	34,41	0,47
JEO 1	0,903	33,93	0,38
JEO 2	0,903	33,81	0,86
NAG 12	0,903	33,54	1,05
TUC 500	0,903	33,55	1,53
Camilo	0,927	40,80	0,90
JEO 1	0,927	42,84	0,96
JEO 2	0,927	41,80	0,77
NAG 12	0,927	42,84	1,06
TUC 500	0,927	41,59	0,71

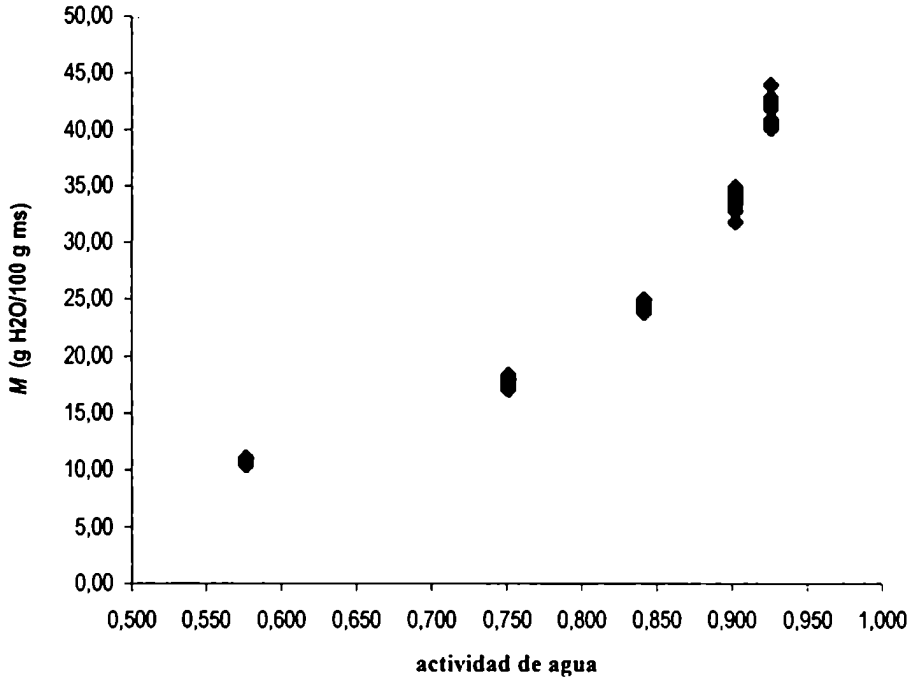


Figura 4.II.2.1 **Isotermas de sorción de agua para las cinco variedades comerciales de porotos negros estudiadas según 3.II.2.a.**

4.II.3. Evaluación de las ecuaciones matemáticas estudiadas.

A niveles altos de actividad de agua (0,903 y 0,927) algunas muestras mostraron contaminación fúngica apreciable. Estas muestras fueron descartadas, por lo que fue necesario aplicar un modelo no balanceado de análisis de varianza, como se expresa en la ecuación **3.III.4.a.** para comparar las distintas variedades.

La hipótesis de interacciones nulas fue rechazada luego de probar las suposiciones del modelo **3.III.4.a.** y transformar los datos para mejorar el comportamiento de los residuos predichos. Debido a esto se aplicó un único modelo de análisis de varianza a cada nivel de a_w.

La suposición de normalidad, probado por medio del test de Shapiro-Wilks (Conover,1980), no fue rechazada en ningún caso, pero a nivel de a_w 0,752 el valor p fue bajo ($0.05 < p < 0.10$), y algunos valores atípicos fueron

observados. Sin embargo, aunque la supresión de estos valores atípicos aumentó el valor p, esto no afectó los resultados significativamente.

Con relación a la suposición de que el error de varianza es constante, no fue rechazado por el test de Bartlett en todos los casos (valor $p > 0.05$).

En la tabla **4.II.3.1** se presentan los resultados del análisis de varianza para cada nivel de a_w. Se puede observar que no hubo diferencias significativas entre variedades (valor $p > 0.05$).

Las ecuaciones descriptas en **3.III.3.** se utilizaron para ajustar los datos de humedad de equilibrio obtenidos por adsorción a 25 °C para los porotos.

Las diferentes ecuaciones fueron ajustadas relacionando los valores del contenido de humedad en base seca y los valores de a_w. Los parámetros fueron estimados aplicando un modelo no lineal para cada variedad.

Para evaluar la bondad de los criterios de ajuste tenidos en cuenta se analizó el comportamiento de los valores residuales absolutos versus el contenido de humedad (M). Ya que se observó cierta tendencia de los residuos se utilizaron solo los criterios de bondad de ajuste P y E, descartándose el criterio S. En la Figura **4.II.3.1** se representa un ejemplo de comportamiento de los residuos en el ajuste de la ecuación de Oswin para la variedad NAG 12.

Es interesante señalar que este comportamiento de los residuos es diferente al observado en el maíz (Boente y col., 1996). Así es que se recomienda realizar este análisis para cada material para seleccionar el criterio apropiado de bondad del ajuste.

Tabla 4.II.3.1. **Resultados del análisis de varianza para cada nivel de a_w.**

a_w: 0.577					
Fuente	**Grados de Libertad**	**Suma de los cuadrados**	**Cuadrado medio**	**Estadístico F**	**Valor p**
Variedad	4	2.206 E^{-05}	5.514 E^{-06}	2.98	0.0801
Residuo	9	1.666 E^{-05}	1.851 E^{-06}		
Total	13	3.871 E^{-05}			
a_w: 0.752					
Fuente	**Grados de Libertad**	**Suma de los cuadrados**	**Cuadrado medio**	**Estadístico F**	**Valor p**
Variedad	4	6.6954 E^{-05}	1.664 E^{-05}	1.90	0.1866
Residuo	10	8.743 E^{-05}	8.743 E^{-06}		
Total	14	1.540 E^{-04}			
a_w: 0.842					
Fuente	**Grados de Libertad**	**Suma de los cuadrados**	**Cuadrado medio**	**Estadístico F**	**Valor p**
Variedad	4	7.675 E^{-05}	1.919 E^{-05}	3.36	0.0606
Residuo	9	5.142 E^{-05}	5.713 E^{-06}		
Total	13	1.282 E^{-04}			
a_w: 0.903					
Fuente	**Grados de Libertad**	**Suma de los cuadrados**	**Cuadrado medio**	**Estadístico F**	**Valor p**
Variedad	4	1.695 E^{-04}	4.238 E^{-05}	0.47	0.7591
Residuo	9	8.170 E^{-04}	9.078 E^{-05}		
Total	13	9.866 E^{-04}			
a_w: 0.927					
Fuente	**Grados de Libertad**	**Suma de los cuadrados**	**Cuadrado medio**	**Estadístico F**	**Valor p**
Variedad	4	9.197 E^{-04}	2.299 E^{-04}	2.92	0.0768
Residuo	10	7.862 E^{-04}	7.862 E^{-05}		
Total	14	0.00171			

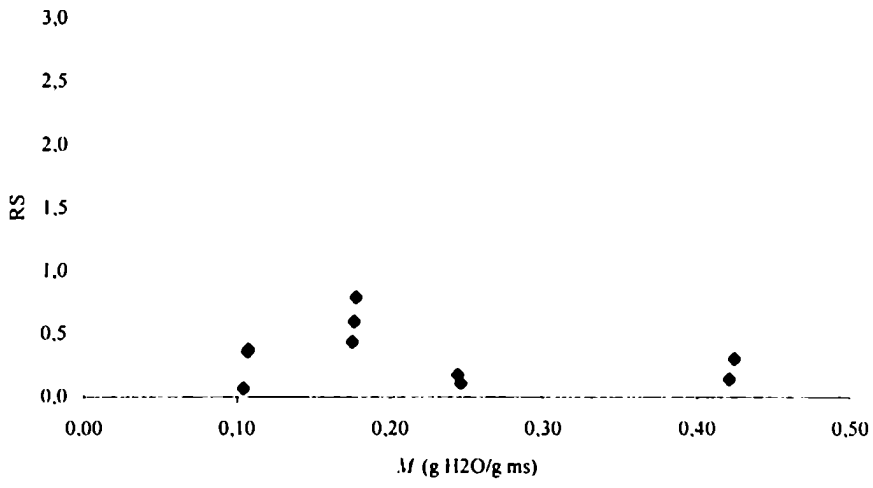


Figura 4.II.3.1. **Valores residuales estandarizados absolutos (RS) versus contenido de humedad en base seca para la ecuación de Oswin y para la Variedad 2.**

Usando P y E como criterios de bondad del ajuste, los mejores ajustes fueron provistos por las ecuaciones de: a) Oswin, b) Hailwood y Horrobin, y c) White y Eiring. En el anexo **6** se encuentran los valores de los criterios de bondad de ajuste P y E para todas las ecuaciones. Sin embargo, el tercer parámetro en la ecuación de Hailwood y Horrobin no fue significativo, así es que el ajuste mediante esta ecuación es equivalente al provisto por la ecuación de White y Eiring. En la tabla **4.II.3.2** se presentan los valores P y E para todas las variedades.

Tabla 4.II.3.2. **Valores de los criterios de bondad de ajuste para las ecuaciones seleccionadas para las diferentes variedades de porotos negros**

Ecuación	**Criterios de Bondad de ajuste**	**Variedad**				
		1	**2**	**3**	**4**	**5**
Oswin	*P*	1.54	1.88	1.22	2.03	1.55
	E	0.04	0.05	0.02	0.07	0.06
White y Eiring	*P*	1.74	2.33	1.50	2.70	2.05
	E	0.05	0.08	0.04	0.11	0.09

Como los resultados del análisis de varianza condujeron a la conclusión de que todas las variedades pueden ser consideradas como integrantes de un único grupo, ajustamos las ecuaciones seleccionadas para todos los datos para obtener ecuaciones generales para los porotos negros. La ecuación estimada es lo siguiente:

Ecuación de Oswin: $M = \exp[-2{,}428 + 0{,}610 \ln(a_w/(1-a_w))]$

(0,013) (0,006)

White and Eiring : $M = 1/(20{,}701 - 19{,}732 a_w)$

(0,138) (0.166)

Los números entre paréntesis son las desviaciones típicas de los parámetros estimados.

Intentando conseguir un modelo apropiado para porotos, no sólo para porotos negros, Se analizaron datos extraídos de literatura. Es importante mencionar que dichos datos siempre fueron dados como promedios. Los datos fueron extraídos de Gane (1.950), Weston y Morris (1.954) para porotos, Dexter y col. (1955) para porotos alubia pequeños, Jordao y Stolf (1.969-70) para porotos rosinha y Mc Curdy y col.(1.980) para porotos pinto.

Ajustando las ecuaciones para dichos datos se encontró que la ecuación propuesta por White y Eiring fue la que proveyó el mejor ajuste.

5. CONCLUSIONES

Este trabajo representa el primer estudio sistemático realizado en la República Argentina de la micoflora contaminante del poroto negro en el momento de la cosecha.

Los cuatro géneros fúngicos más importante que fueron aislados son: *Alternaria, Fusarium, Rhizoctonia* y *Sclerotinia.* Estos géneros incluyen especies que son conocidos fitopatógenos de *Phaseolus vulgaris* L.. Los dos primeros géneros incluyen especies productoras de micotoxinas y en los otros dos, especies capaces de producir importantes pérdidas económicas en el cultivo del mismo.

En la localidad de Cerrillos el género predominante fue *Fusarium* y el más frecuente *Cladosporium.* En Metán el género *Alternaria* fue el más prevalente, mientras que en Pichanal el de mayor importancia fue el género *Sclerotinia.*

Se puede destacar que las especies identificadas tienen un comportamiento similar al observado en los géneros ya que predominaron *Alternaria alternata, Fusarium semitectum, Sclerotinia sclerotiorum* y *Rhizoctonia solani.*

Las especies identificadas pertenecientes a géneros con capacidad potencial de producción de metabolitos tóxicos, son indicadoras de la factibilidad de contaminación por diversas micotoxinas. Las más importantes son: deoxinivalenol y zearalenona producidas por *F. graminearum* y *F. semitectum*; y acido tenuazónico, alternariol y alternariol monometil éter producidos por *Alternaria alternata.*

Respecto a *Sclerotinia sclerotiorum* se ha establecido que Pichanal es la localidad de mayor incidencia para esta especie, lo que podría deberse a las condiciones metereológicas más cálidas y secas que en las otras dos localidades. Además se pudo observar que la variedad FT88/519 es muy susceptible a la invasión por esta especie y la variedad DOR 604 es la menos susceptible. Esta última variedad también muestra una menor contaminación fúngica que el resto de las variedades de poroto negro.

Las cinco variedades de poroto negro comerciales estudiadas podrían ser consideradas como parte de un mismo grupo para los propósitos de almacenamiento ya que mostraron comportamientos similares en lo que isotermas de sorción respecta.

El valor máximo de humedad al que se puede almacenar sin que se produzcan alteraciones debido a la proliferación fúngica es 14,5 g de agua por cada 100 g de masa seca a 25 °C.

Entre las ecuaciones de ajuste consideradas para la evaluación de las isotermas de sorción, las ecuaciones de Oswin, y White y Eiring proveyeron el mejor ajuste para los porotos negros cultivados en el pais, y el presente trabajo aporta los parámetros de las ecuaciones que definen la isoterma de sorción para este producto.

La ecuación de White y Eiring también mostró el mejor ajuste cuando fueron estudiados los datos de isotermas en varios tipos de porotos encontrados en la literatura. Por esta razón se recomienda comenzar con la evaluación de esta ecuación en el estudio de las isotermas de sorción para cualquier tipo de porotos.

Dra. Ana M. Pacin

Dr. Héctor H. L. González

Bqco. Marcelo D. Castillo

6. *BIBLIOGRAFIA*

- Alzamora; S.M. (1.998). "Preservación I: Alimentos conservados por factores combinados". En "*Temas en Tecnología de Alimentos*" Ed. Por Aguilera, J.M. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo (CYTED).
- Anderson, R.B. (1.946). *J. Am. Chem. Soc.*, 68, 686-691.
- Basunia, M.A. y Abe, T. (1.999). "Moisture adsorption isotherm of rough rice". *J. Food Engin.* 42, 235-242.
- Beebe, S.E. y Pastor Corrales, M.A. (1.991). "Breeding for Disease Resistence" en "*Common Beans: Research for Crop Improvement*". Ed. Por Schoonhaven A. y Voysest O. CAB International, 572-573.
- Belarbi, A.; Aymard, Ch.; Meot, J.M.; Themelin, A. y Reynes, M.(2.000). "Water desorption isotherm for eleven varieties of dates". *J. Food Engin.*, 43, 103-107.
- Betina, V. (1.989). *Mycotoxins. Chemical, Biological and Enviromental Aspects.* Elsevier Press, Amsterdam-Oxford-New York.
- Bianco, A.M.; Boente, G.; Pollio, M.L. y Resnik S.L. (2.001). "Influence of oil content on sorption isotherms of four varieties of peanut at 25 °C". *J. Food Engin.* 47, 327-331.
- Boente, G.; González, H.H.L.; Martínez, E.J.; Pollio, M.L. y Resnik, S.L. (1.996). "Sorption Isotherms de Corn – Study de Mathematical Models". *J. Food Engin.* 29, 115-128.
- Boland G.J. y Hall R. (1.987). "Epidemiology Of White Mold Of White Bean In Ontario". *Can. J. Plant Pathol.*, 9, 218-224.
- Boquet, R., Chirife ,J. y Iglesias, H.A.(1.978)."Equations for fitting water sorptions isotherms of foods. II:Evaluation of two-parameters models". *J.Food.Technol.*, 13, 319-327.
- Boquet, R., Chirife, J. e Iglesias, H.A. (1.980). "Technical note: on the equivalence of isotherms equations". *J. Food Technol.*, 15, 345-349.
- Bradley J.V. (1.968) *Distribution free Statistical Tests.* Prentice Hall. Englewood Cliffs, New Jersey.

- Bradley, R.S. (1.936). "Polymolecular adsorbed films. Part 1". *J. Chem. Soc.* 1, 1.467-1.499.
- Bressani, R. y Elias, L.G. (1.979). "The world protein and nutritional situation" en "*Seed protein improvement in cereals and grain legumes: proceedings*". United Nations Protein Advisory Group, New York, 15-42.
- Broggi, LE y Moltó, GA (2.002). "Fungi associated with rice at entre rios province, argentina. Toxigenic capacity of *fusarium graminearum* and *microdochium nivale* isolates". *Mycotoxin Research.* En prensa.
- Brunauer, S., Emmett, P.H. y Teller, E. (1.938). "Adsorption of gases in multimolecular layers". *J. Am. Chem. Soc.*, 309-360.
- Cámara dc Diputados dc la Provincia dc Salta, República Argentina (2.002). http://www.camdipsalta.gov.ar/INFSALTA/mapasalta.html.
- CLERA (Cámara de Legumbres de la República Argentina) (1.999). Boletines Informativos. Período 1990-99.
- Cardona, C.; Flor, C.A.; Morales, F.J.; Pastor-Corrales, M.A. (1.995). *Problemas de Campo en los Cultivos de Frijol en el Trópico.* Editor: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) (2.002). Bases de Datos Bibliográfica del Frijol 1970-2002. http://www.ciat.cgiar.org.
- Conover W. J. (1.980). *Practical nonparametric statistics.* John Wiley & Sons, New York.
- Costa, L.L.F. y Scussel, V.M. (1.998). "Toxigenic fungi in beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Rev. Med. Vet.*, France, 149(6), 518-523.
- Chen, C.S. (1.971). Equilibrium moisture curves for biological materials. *Trans. Am. Soc. Agri. Eng.*, 14, 924-926.
- Chirife, J., Boquet, R., Ferro Fontán, C. e Iglesias, H. A. (1.983b). A new model for describing the water sorption isotherm of foods. J. *Food Sci.*, 48, 1382-1383.
- Chirife, J., e Iglesias, H.A. (1.978). "Equations for fitting water sorption isotherms of foods. Part 1: a review". *J. Food Technol.*, 13, 159-174.

- Chirife, J., Favetto, G., Ferro Fontán, C. y Resnik, 5. L. (1.983a). The water activity of standard saturated salt solutions in the range of intermediate moisture foods. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.,* 16, 36-8.
- Day, D.L. y Nelson, G.L. (1.965). The sorption isotherm of wheat. *Trans. of the ASAE,* 8, 293-297.
- De Boer, J.H. (1.953). *The dynamical character of adsorption.* Clarendon Press, Oxford (2nd.ed.,1968).
- Debouck, D.. "Systematics and Morphology" en *Common Beans: Research for Crop Improvement.* Ed. Por Schoonhaven A. y Voysest O. Editor: CAB International, 55-118.
- Devore J.L. (1.987). *Probability and Statistics for Engineering and the Sciences.* Monterrey, California. Brooks-Cole Publishing Company, 352-354.
- Dexter S.T., Andersen A.L., Pfahler P.L. y Benne E.J. (1.955) "Responses of white pea beans to various humidities and temperatures of storage". *Agron. J.,* 5, 246-250.
- Dimitri, M.J. (1.978). *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardineria,* Editorial Acme, Buenos Aires, Tomo 1, 536-537
- Dole, M. (1.948). Statistical thermodynamics of the sorption of vapors by solids. *J. Chem. Physics,* 16, 25-29.
- Ellis M. (1.971). *Dematiaceous Hyphomycetes.* Kew, Surrey, England. Common wealth Mycological Institute,:
- Failde de Calvo, V.; García Medina, S.; De Simone, M. y Panadero Pastrana, C. Tecnología del cultivo del poroto (*Phaseolus vulgaris* L.)(1.999). Estación Experimental Agropecuaria Salta (EEA Salta)-Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Documento de referencia.
- *FAOSTAT* (1.998) Food and Agricultural Organization (FAO). *Base de Datos.*
- Freundlich, U. (1.926). *Colloid and Capillary Chemistry.* Methuem and Co., London.
- Gane R. (1.950) "The water relations of some dried fruits, vegetables and plant products". *J. Sci. Food Agric.,* 2, 42-46.

- González HHL, Resnik SL, Boca R, Marasas WFO (1.995). "Mycoflora of Argentinian corn harvested in the main production area in 1990". *Mycopathologia* 130, 29-36
- Guggenheim, E.A. (1.966). *Applications of statistical mechanics.* Ciarendon Press, Oxford.
- Hailwood, A.J. y Horrobin, S. (1.946). "Absorption of water by polymers: analysis in terms of a simple model". *Trans. Far. Soc.,* 42B, 84-89.
- Halsey, G. (1.948). "Physical adsorption of non-uniform surfaces". *J. Chem. Physics*, 16, 931-937.
- Harkins, W.D. y Jura, G. (1.944). "Surfaces of solids XIII. A vapor method for the determination of the area of a solid without assumption of a molecular area, and the areas occupied by nitrogen and other molecules on the surfaces of a solid". *J Am. Chem. Soc.,* 66, 1.366-1.373.
- Haynes, B. C. (1.961). "Vapor pressure determination of seed hygroscopicity". *US. Dept. Agr. Tech. Bull.,* 1.229, 1-20.
- Henderson, S.M. (1.952). "A basis concept of equilibrium moisture". *Agric. Engng.*, 33(1)-29.
- Hendrick, U.P.; Tapley, W.T.; Van Eseltine, G.P. y Enzie, W.D. (editores) (1.931). *The vegetables of New York, part II: beans of New York.* J.B. Lyon, Albany, NewYork.
- Hoover, S.R. y Mellon, E.F. (1.950). *Water Activity: influences on food quality.* Ed. por Rockland, L.B. and Stewart, G.F.. Academic Press, London.
  http://www.arsgrin.gov/var/apache/cgibin/npgs/html/taxon.pl?312013
- Iglesias, H.A. y Chirife, J. (1976a). "Equilibrium moisture content of air dried beef. Dependence on drying temperature". *J. Food Technol.*, 11, 565-569.
- Iglesias, H.A. y Chirife, J. (1.976b). "Prediction of the effect of temperature on water sorption isotherms of foods materials". *J. Food Technol.*, 11, 109-116.

- INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) (2.001). Boletín informativo. Estación Experimental Agrícola Salta, Argentina.
- Jordao B.A. y Stolf S.R. (1.969-70). "Curva de saturaçao do feijao de mesa variedade rosinha". *Coletanea do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, 3, 425-429.
- Kühn, L. (1.964). "A new theorical analyses of adsorption phenomena. Introductory part: The characteristic expression of the main regular types of adsorption isotherms by a single simple equation". *J. Colloid. Sci.*, 10, 685-698.
- Labuza, T.P., Mizrahi, S. y Karel, M. (1972). "'Mathematical models for optimization of flexible film packaging of food for storage". *Trans. ASAE*, 15, 150-154.
- Langmuir, L. (1918). "The adsorption of gases on plane surface of glass. Mica and Platinum". *J.Am.Chem.Soc.*, 134-140.
- López F.L.C y Christensen C.M. (1.962). "Invasion of and damage to bean seed by storage fungi". *Plant Disease Reporter*, 46(11), 785-789.
- Marasas, W.F.O; Lamprecht, S.C.; Van Wyk, P.S. y Anelich, R.Y. (1.987). "Bibliography of *Fusarium* (Fungi: Hyphomycetes) in South Africa, 1984-1985". *Bothalia* 17 (1), 97-104.
- Marinelli, Adriana D. (2.000). "Biología y Epidemiología del tizón del mani causado por *Sclerotinia minor* y *S. sclerotiorum*". Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Exactas, Fco-Qcas y Naturales, Universidad Nacional de Rio Cuarto.
- Mc Curdy A.R., Leung H.K. y Swanson B.G. (1.980). "Moisture equilibration and measurement in dry pinto beans (*Phaseolus vulgaris*)". *J. Food Sci.*, 45, 506-508.
- Mizrahi, S., Labuza, T.P. y Karel, M. (1.970). Computer-aided prediction of extent of browning in dehydrated cabbage. *J. Food Sci.*, 35, 799-802.
- Nelson PE, Toussoun TA & Marasas WFO (1.983). *Fusarium species: an illustrated manual for identification.* The Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania,.

- Oswin, C.R. (1.946). The kinetics of package life. III The isotherm. *J. Chem. Ind.* (London), 64, 419-421.
- Pepeljnjak, S. (1.984). "Mycotoxic contamination of Haricot beans in nephropathic areas in Yugoslavia". *Microbiologie-Aliments-Nutrition,* 2, 331-336.
- Pitt J.I. y Hocking A.D. (1.997). *Fungi and Food Spoilage.* Blackie Academic & Professional, London-New York,.
- Pitt, J.I. (1.975). "Xerofilic fungi and spoilage of foods of plant origin", en "*Water relations of foods*". Duckworth, R.B.. Academic Press.
- Pitt, J.I.; Hocking, A.D.; Bhudhasamai, K.; Miscamble, B.F., Wheeler, K.A. y Tanboon-Ek, P. (1.994) "The normal mycoflora of commodities from Thailand. 2. Beans, rice, small grains and other commodities". *Int. J. Food Microbiol.,* 23, 35-53.
- Pollio, M. L. (1.985). "Determinación de las isotermas de sorción de agua en hibridos y variedades nacionales de girasol y soja con referencia a la prevención del desarrollo de hongos durante el almacenamiento". Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.
- Pollio, M.L., Gonzálcz, H.H.L. y Rcsnik, S.L. (1.987). "Estudio de diversos métodos de determinación de humedad para cereales y oleaginosas". *An. Asoc. Quím. Arg.,* 75 (2), 135-154.
- Pollio, M.L., Larumbe, A. y Resnik, S.L. (1.992). "Métodos de referencia para la determinación de humedad de alpiste y mijo". *Alim. Lat.*, 192, 75-80.
- Purseglove, J. W. (1.968). *Tropical crops: dicotyledons.* Longmans, Inglaterra.
- Ramírez C. (1.982). *Manual and Atlas of the Penicillia* Elsevier Biomedical Press.
- Resnik, S.L. y Chirife, J. (1.988). "Proposed water activity values at various temperatures for selected solutions to be used as reference sources in the range of microbial growth". *J. Food Protection,* 51 (5), 419-423.

- Samson R.A., Hoekstra E.S., Frisvad J.C. y Filtenborg O. (1.995). *Introduction to Foodborne Fungi.* Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Delft.
- SAS version 8.0 (1.999). SAS Institute Inc., NC, USA.
- Scott, W.J. (1957). "Water relation of food spoliage microorganism *Adv. Food Res.*, 7, 83-89.
- Scussel, V.M., Volpato, O., Costa, L.L.F., Silva, E.L. y Souza G.D. (1.998). "Fungi and Aflatoxin production in beans from Brazil. *Rev. Med. Vet.*, Francia, 149(6), 531-536.
- Schär, W. y Rüegg, M. (1.985). "The evaluation of G.A.B. Constants from water vapour sorption data". *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.*, 18, 225-229.
- Scheffé, H. (1.959). *The Analysis of Variance.* Wiley, New York.
- SAGPyA (Secretaria de Agricultura, Ganaderia, Pesca y Alimentación) (2.002). Ministerio de Economía de la República Argentina. Informes semanales. http://www.sagpya.mecon.gov.ar.
- Servicio Metereológico Nacional – Comando de Regiones Aéreas – Fuerza Aérea Argentina. Informes mensuales (1999). http://www.meteofa.mil.ar.
- Shellie-Dessert, K.C. y Bliss, F.A. (1.991). "Genetic improvement of food quality factors" en "*Common Beans: Research for Crop Improvement*". Schoonhaven A. & Voysest O.. CAB International.
- Smith, S.E. (1.947). The sorption of water by High Polymers. *J. Am. Chem. Soc.,* 69, 646-651.
- Statistix Versión 7.0. Analytical Software. (2.000) Tallahassee, Florida.
- Tobin, G. y Carpenter, K.J. (1.978). "The nutritional value of the dry bean (*Phaseolus vulgaris*): a literature review". *Nutr. Abstr. Rev. Series A* , 48(11), 919-936.
- Trucksess, M.W.; Mislivec, P.B.; Young, K.; Bruce, V.R y Page S.W. (1.986). "Cyclopiazonic Acid Production by Cultures of *Aspergillus* and *Penicillium* Species Isolated from Dried Beans, Corn Meal, Macaroni, and Pecans". *J. Assoc. Off. Anal. Chem.,* 70(1), 123-126.

- Tseng, T.C.; Tu, J.C.; Tzean, S.S. (1.995). "Mycoflora and mycotoxins in dry bean (*Phaseolus vulgaris)* produced in Taiwan and in Ontario, Canada". *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 36, 229-234.
- Tubello, D.A.G. y Píccolo M.A.. (1.998) "Proyecto Poroto-Macroregión Noroeste Argentino. NOA". Estación Experimental Agropecuaria Salta (EEA Salta).
- USDA (United States Department of Agriculture) (1.982). The United States standards for beans. Federal Grain Inspection Service, U.S. Department of Agriculture.
- USDA (United States Department of Agriculture) (2.002). Agricultural Research Service (ARS), National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network - (GRIN) Online Database. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland.
- Van der Berg, C. y Bruin, S. (1.978). *Water activity: influences on food quality.* Ed. J. A. Troller & J. Christian. Academic Press, New York.
- Van der Berg, C. y Bruin,S. (1981). "Water activity and its estimation in foods systems. Theorical aspects". En "Water activity: influences on food quality". Rockland, L.B. and Stewart, G.F., Academic Press, London.
- Von Arx J.A. (1981). *The genera of Fungi Sporulating in Pure Culture.* J. Cramer Press,.
- Voysest O. y Dessert M. (1.991). "Bean cultivars: classes and commercial seed types" en "*Common Beans: Research for Crop Improvement*". Schoonhaven A. y Voysest O.. Editor: CAB International.
- Waller, J.M. y Brayford, D. (1.990). "TPM Special Review No. 3. *Fusarium* diseases in the tropics". *Tropical Pest Management*, 36(3), 181-194.
- Weston W.J. y Morris H.J. (1954) "Hygroscopic equilibria of dry beans". *Food Technol.*, 8, 353-358.
- Young, J. H. y Nelson, G. L. (1.967). Research of hysteresis between sorption and desorption isotherms of wheat. *Trans. ASAE,* 756-761.

7. ANEXOS

ANEXO 1. **Estadísticos obtenidos mediante el test definido en 3.II.2.e.1. de las Dr de especies de hongos aisladas en Pichanal y Metán.**

Especies	PICHANAL		METAN		Valor z	Valor p
	n1	p1	n2	p2		
Acremonium strictum	773	2,98	1563	10,81	7,8748	0,0000
Alternaria alternata	773	6,21	1563	39,16	21,8301	0,0000
Alternaria tenuissima	773	0	1563	1,22	4,3856	0,0000
Arthrinium phaeospermum	773	0,52	1563	0,00	2,0052	0,0449
Aspergillus flavipes	773	0,26	1563	1,60	3,6615	0,0003
Aspergillus flavus	773	0,65	1563	0,51	0,3968	0,6915
Aspergillus niger	773	0,00	1563	0,19	1,7337	0,0830
Aspergillus niveus	773	0,00	1563	0,19	1,7249	0,0845
Aspergillus sydowi	773	0,00	1563	0,13	1,4151	0,1570
Aspergillus wentii	773	0,13	1563	0,00	1,0006	0,3170
Botrytis cinerea	773	0,91	1563	0,00	2,6578	0,0079
Cladosporium cladosporioides	773	1,55	1563	0,38	2,4791	0,0132
Colletotrichum gloeosporioides	773	0,00	1563	0,51	2,8357	0,0046
Curvularia lunata	773	0,00	1563	0,06	1,0003	0,3172
Chrysonilia sitophila	773	0,00	1563	0,70	3,3284	0,0009
Epicoccum nigrum	773	0,39	1563	1,28	2,4647	0,0137
Eupenicillium cinnamopurpureum	773	0,00	1563	0,13	1,4151	0,1570
Eurotium chevalieri	773	0,26	1563	0,00	1,4160	0,1568
Fusarium avenaceum	773	1,03	1563	0,13	2,4182	0,0156
Fusarium equiseti	773	0,65	1563	1,34	1,7002	0,0891
Fusarium graminearum	773	0,00	1563	7,74	11,4522	0,0000
Fusarium heterosporum	773	0,00	1563	0,13	1,4151	0,1570
Fusarium verticillioides	773	0,26	1563	0,13	0,6415	0,5212
Fusarium oxysporum	773	0,52	1563	0,26	0,9082	0,3638
Fusarium sambucinum	773	0,00	1563	0,19	1,7337	0,0830
Fusarium semitectum	773	6,73	1563	3,39	3,3011	0,0010
Fusarium subglutinans	773	0,00	1563	0,51	2,8357	0,0046
Mucor circinelloides	773	0,13	1563	0,00	1,0006	0,3170
Mucor racemosus	773	1,16	1563	0,00	3,0176	0,0026
Penicillium citrinum	773	1,16	1563	0,96	0,4468	0,6550
Penicillium glabrum	773	1,42	1563	1,41	0,0298	0,9763
Penicillium restrictum	773	2,07	1563	2,24	0,2671	0,7894
Penicillium funiculosum	773	5,17	1563	0,13	6,2938	0,0000
Penicillium purpurogenum	773	1,81	1563	0,00	3,7760	0,0002
Penicillium variabile	773	3,23	1563	0,06	4,9573	0,0000
Phoma glomerata	773	0,00	1563	0,26	2,0026	0,0452
Rhizoctonia solani	773	14,23	1563	17,91	2,3208	0,0203
Rhizopus stolonifer	773	0,65	1563	0,26	1,2395	0,2152
Sclerotinia sclerotiorum	773	28,07	1563	5,69	13,0166	0,0000
Trichotecium roseum	773	0,39	1563	0,00	1,7354	0,0827
Verticillium spp.	773	0,00	1563	0,38	2,4542	0,0141

ANEXO 2. **Estadísticos obtenidos mediante el test definido en 3.II.2.e.1. de las Dr de especies de hongos aisladas en Pichanal y Cerrillos.**

Especies	PICHANAL		CERRILLOS		Valor z	Valor p
	n1	p1	n2	p2		
Acremonium charticola	773	0,00	1243	0,08	1,0004	0,3171
Acremonium strictum	773	2,98	1243	6,36	3,6614	0,0003
Alternaria alternata	773	6,21	1243	15,04	6,6188	0,0000
Alternaria tenuissima	773	0,00	1243	0,72	3,0109	0,0026
Arthrinium phaeospermum	773	0,52	1243	0,08	1,6168	0,1059
Aspergillus flavipes	773	0,26	1243	0,32	0,2592	0,7955
Aspergillus flavus	773	0,65	1243	0,32	0,9847	0,3248
Aspergillus restrictus	773	0,00	1243	12,23	13,1597	0,0000
Aspergillus wentii	773	0,13	1243	0,32	0,9332	0,3507
Botrytis cinerea	773	0,91	1243	0,00	2,6578	0,0079
Cladosporium cladosporioides	773	1,55	1243	6,36	5,8397	0,0000
Colletotrichum gloeosporioides	773	0,00	1243	0,24	1,7341	0,0829
Chaetomium globosum	773	0,00	1243	0,16	1,4154	0,1570
Chrysonilia sitophila	773	0,00	1243	2,01	5,0511	0,0000
Epicoccum nigrum	773	0,39	1243	1,53	2,7571	0,0058
Eurotium chevalieri	773	0,26	1243	0,16	0,4546	0,6494
Fusarium avenaceum	773	1,03	1243	0,00	2,8432	0,0045
Fusarium decemcellulare	773	0,00	1243	0,80	3,1751	0,0015
Fusarium equiseti	773	0,65	1243	1,05	0,9782	0,3280
Fusarium graminearum	773	0,00	1243	4,02	7,2177	0,0000
Fusarium heterosporum	773	0,00	1243	0,24	1,7341	0,0829
Fusarium verticillioides	773	0,26	1243	0,48	0,8345	0,4040
Fusarium oxysporum	773	0,52	1243	0,80	0,7937	0,4274
Fusarium semitectum	773	6,73	1243	23,25	11,0220	0,0000
Microdochium nivale	773	0,00	1243	0,08	1,0004	0,3171
Mucor circinelloides	773	0,13	1243	0,00	1,0006	0,3170
Mucor racemosus	773	1,16	1243	0,00	3,0176	0,0026
Penicillium citrinum	773	1,16	1243	3,22	3,2496	0,0012
Penicillium glabrum	773	1,42	1243	0,56	1,8067	0,0708
Penicillium restrictum	773	2,07	1243	0,80	2,2147	0,0268
Penicillium funiculosum	773	5,17	1243	0,24	6,0995	0,0000
Penicillium purpurogenum	773	1,81	1243	0,08	3,5586	0,0004
Penicillium variabile	773	3,23	1243	0,16	4,7547	0,0000
Pestaloptiopsis guepinii	773	0,00	1243	0,16	1,4154	0,1570
Rhizoctonia solani	773	14,23	1243	3,62	7,7803	0,0000
Rhizopus stolonifer	773	0,65	1243	2,41	3,3836	0,0007
Sclerotinia sclerotiorum	773	28,07	1243	11,34	9,0444	0,0000
Trichotecium roseum	773	0,39	1243	0,72	1,0230	0,3063

ANEXO 3. **Estadísticos obtenidos mediante el test definido en 3.II.2.e.1. de las Dr de especies de hongos aisladas en Metán y Cerrillos.**

Especies	METAN		CERRILLOS		z	Valor p
	n1	p1	n2	p2		
Acremonium charticola	1563	0,00	1243	0,08	1,0004	0,3171
Acremonium strictum	1563	10,81	1243	6,36	4,2577	0,0000
Alternaria alternata	1563	39,16	1243	15,04	15,0917	0,0000
Alternaria tenuissima	1563	1,22	1243	0,72	1,3395	0,1804
Arthrinium phaeospermum	1563	0,00	1243	0,08	1,0004	0,3171
Aspergillus flavipes	1563	1,60	1243	0,32	3,5923	0,0003
Aspergillus flavus	1563	0,51	1243	0,32	0,7865	0,4316
Aspergillus niger	1563	0,19	1243	0,00	1,7337	0,0830
Aspergillus niveus	1563	0,19	1243	0,00	1,7337	0,0830
Aspergillus restrictus	1563	0,00	1243	12,23	13,1597	0,0000
Aspergillus sydowi	1563	0,13	1243	0,00	1,4151	0,1570
Aspergillus wentii	1563	0,00	1243	0,32	2,0032	0,0452
Cladosporium cladosporioides	1563	0,38	1243	6,36	8,4177	0,0000
Colletotrichum gloeosporioides	1563	0,51	1243	0,24	1,1867	0,2353
Chaetomium globosum	1563	0,00	1243	0,16	1,4154	0,1570
Curvularia lunata	1563	0,06	1243	0,00	1,0003	0,3172
Chrysonilia sitophila	1563	0,70	1243	2,01	2,9001	0,0037
Epicoccum nigrum	1563	1,28	1243	1,53	0,5541	0,5795
Eupenicillium cinnamopurpureum	1563	0,13	1243	0,00	1,4151	0,1570
Eurotium chevalieri	1563	0,00	1243	0,16	1,4154	0,1570
Fusarium avenaceum	1563	0,13	1243	0,00	1,4151	0,1570
Fusarium decemcellulare	1563	0,00	1243	0,80	3,1751	0,0015
Fusarium equiseti	1563	1,34	1243	1,05	0,7262	0,4677
Fusarium graminearum	1563	7,74	1243	4,02	4,2449	0,0000
Fusarium heterosporum	1563	0,13	1243	0,24	0,6832	0,4945
Fusarium verticillioides	1563	0,13	1243	0,48	1,6394	0,1011
Fusarium oxysporum	1563	0,26	1243	0,80	1,9331	0,0532
Fusarium sambucinum	1563	0,19	1243	0,00	1,7337	0,0830
Fusarium semitectum	1563	3,39	1243	23,25	15,4830	0,0000
Fusarium subglutinans	1563	0,51	1243	0,00	2,8357	0,0046
Microdochium nivale	1563	0,00	1243	0,08	1,0004	0,3171
Penicillium citrinum	1563	0,96	1243	3,22	4,0471	0,0001
Penicillium glabrum	1563	1,41	1243	0,56	2,3081	0,0210
Penicillium restrictum	1563	2,24	1243	0,80	3,1746	0,0015
Penicillium funiculosum	1563	0,13	1243	0,24	0,6832	0,4945
Penicillium purpurogenum	1563	0,00	1243	0,08	1,0004	0,3171
Penicillium variabile	1563	0,06	1243	0,16	0,7430	0,4575
Pestaloptiopsis guepinii	1563	0,00	1243	0,16	1,4154	0,1570
Phoma glomerata	1563	0,26	1243	0,00	2,0026	0,0452
Rhizoctonia solani	1563	17,91	1243	3,62	12,9331	0,0000

ANEXO 3. **Estadísticos obtenidos mediante el test definido en 3.II.2.e.1. de las Dr de especies de hongos aisladas en Metán y Cerrillos.(continuación)**

Especies	**METAN**		**CERRILLOS**		**z**	**Valor p**
	n1	**p1**	**n1**	**p1**		
Rhizopus stolonifer	1563	0,26	1243	2,41	4,7559	0,0000
Sclerotinia sclerotiorum	1563	5,69	1243	11,34	5,2620	0,0000
Trichotecium roseum	1563	0,00	1243	0,72	3,0109	0,0026
Verticillium spp.	1563	0,38	1243	0,00	2,4542	0,0141

***ANEXO 4.* Valores p del estudio comparativo (mediante el test exacto de Fisher definido en 3.II.2.e.1.) de las Fr de especies de hongos aisladas en Cerrillos, Metán y Pichanal**

Especies identificadas	**Pichanal | Metán**	**Metán | Cerrillos**	**Pichanal | Cerrillos**
	Valor p	**Valor p**	**Valor p**
Acremonium charticola	1,0000	1,0000	1,0000
Acremonium strictum	0,5458	0,7695	1,0000
Alternaria alternata	**0,0000**	**0,0000**	**0,8230**
Alternaria tenuissima	0,4937	1,0000	0,4937
Arthrinium phaeospermum	1,0000	1,0000	1,0000
Aspergillus flavipes	1,0000	1,0000	1,0000
Aspergillus flavus	1,0000	0,6153	0,6153
Aspergillus niger	0,4937	0,4937	1,0000
Aspergillus niveus	1,0000	1,0000	1,0000
Aspergillus restrictus	1,0000	0,1156	0,1156
Aspergillus sydowi	1,0000	1,0000	1,0000
Aspergillus wentii	1,0000	1,0000	1,0000
Botrytis cinerea	1,0000	1,0000	1,0000
Chaetomium globosum	1,0000	0,4937	0,4937
Cladosporium cladosporioides	0,5179	0,0000	0,0001
Colletotrichum gloeosporioides	1,0000	1,0000	0,4937
Curvularia lunata	1,0000	1,0000	1,0000
Chrysonilia sitophila	0,2405	1,0000	0,4937
Epicoccum nigrum	0,0252	0,6219	0,0031
Eupenicillium cinnamopurpureum	1,0000	1,0000	1,0000
Eurotium chevalieri	1,0000	0,4937	1,0000
Fusarium avenaceum	1,0000	0,4937	1,0000
Fusarium decemcellulare	1,0000	0,2405	0,2405
Fusarium equiseti	0,6153	1,0000	1,0000
Fusarium graminearum	**0,0000**	**0,0032**	**0,0004**
Fusarium heterosporum	1,0000	1,0000	0,4937
Fusarium verticillioides	1,0000	1,0000	1,0000
Fusarium oxysporum	1,0000	1,0000	1,0000
Fusarium sambucinum	1,0000	1,0000	1,0000
Fusarium semitectum	0,1263	0,1961	1,0000
Fusarium subglutinans	0,4937	0,4937	1,0000
Microdochium nivale	1,0000	1,0000	1,0000
Mucor circinelloides	1,0000	1,0000	1,0000
Mucor racemosus	0,4937	1,0000	0,4937
Penicillium citrinum	0,5179	1,0000	0,3482
Penicillium glabrum	1,0000	0,6153	1,0000
Penicillium restrictum	1,0000	0,2007	0,2007
Penicillium funiculosum	0,0064	1,0000	0,0015
Penicillium purpurogenum	0,4937	1,0000	1,0000
Penicillium variabile	0,3589	1,0000	0,3589
Pestaloptiopsis guepinii	1,0000	1,0000	1,0000
Phoma glomerata	0,4937	0,4937	1,0000
Rhizoctonia solani	**0,6422**	**0,0003**	**0,0030**
Rhizopus stolonifer	0,6752	0,0038	0,0003

ANEXO 4. **Valores p del estudio comparativo (mediante el test exacto de Fisher definido en 3.II.2.e.1.) de las Fr de especies de hongos aisladas en Cerrillos, Metán y Pichanal (continuación)**

Especies identificadas	**Pichanal**	**Metán**	**Metán**	**Cerrillos**	**Pichanal**	**Cerrillos**
	Valor p		**Valor p**		**Valor p**	
Sclerotinia sclerotiorum	**0,0016**		**0,8116**		**0,0069**	
Trichotecium roseum	1,0000		1,0000		1,0000	
Verticillium spp.	1,0000		1,0000		1,0000	

ANEXO 5. **Variación de pesos en la determinación de las isotermas de sorción de *Phaseolus vulgaris* L. cosechado en la provincia de Salta (1.999)**

Pesafiltros N°	Variedad	a_w	Tara	Tara+gr.	Peso 18 días	Peso 25 días	Peso 32 días	Peso 39 días	Peso 47 días	g final	g seco	g H2O	Humedad (g H20/100 g ms)
16	Camilo	0,577	17,4268	19,3508	19,3438	19,3413	19,3414			1,9146	1,7322	0,1824	10,53
24	Camilo	0,577	18,8885	20,8862	20,8776	20,8756	20,8773			1,9888	1,7978	0,1910	10,62
36	Camilo	0,577	18,6415	20,7243	20,7145	20,7128	20,7169			2,0754	1,8735	0,2019	10,78
23	JEO 1	0,577	19,8878	21,9959	22,0021	21,9973	22,0031			2,1153	1,9108	0,2045	10,70
25	JEO 1	0,577	20,3771	22,6546	22,6577	22,6524	22,6611			2,2840	2,0631	0,2209	10,71
28	JEO 1	0,577	19,6281	21,8129	21,8163	21,8136	21,8174			2,1893	1,9829	0,2064	10,41
47	JEO 2	0,577	19,3563	21,3151	21,3103	21,3078	20,1451						
49	JEO 2	0,577	19,5408	21,2200	21,2156	21,2165	21,2205			1,6797	1,5181	0,1616	10,64
53	JEO 2	0,577	23,2653	25,3818	25,3781	25,374	25,3799			2,1146	1,9142	0,2004	10,47
67	NAG 12	0,577	22,1145	24,1890	24,1795	24,178	24,1875			2,0730	1,8722	0,2008	10,73
71	NAG 12	0,577	22,1078	24,2921	24,2817	24,2916	24,3013			2,1935	1,9747	0,2188	11,08
72	NAG 12	0,577	21,6918	23,7258	23,7130	23,7122	23,7241			2,0323	1,8323	0,2000	10,92
2	TUC 500	0,577	20,7163	22,7562	22,7436	22,7435	22,7484			2,0321	1,8349	0,1972	10,75
5	TUC 500	0,577	20,5879	22,5872	22,5820	22,5786	22,5866			1,9987	1,8042	0,1945	10,78
7	TUC 500	0,577	19,7327	21,8778	21,8639	21,8634	21,8699			2,1372	1,9298	0,2074	10,75
29	Camilo	0,752	21,3506	23,2138	23,3421	23,3106	23,3143	23,3093		1,9587	1,6557	0,3030	18,30
37	Camilo	0,752	20,9356	23,1762	23,3006	23,2889	23,2917	23,2855		2,3499	2,0015	0,3484	17,41
56	Camilo	0,752	22,8975	24,8642	24,9660	24,9633	24,9628	24,9588		2,0613	1,7592	0,3021	17,17
41	JEO 1	0,752	18,6108	20,5285	20,6351	20,64	20,6291	20,6323		2,0215	1,72	0,3015	17,53
42	JEO 1	0,752	21,7134	23,8265	23,9549	23,9472	23,9436	23,9378		2,2244	1,8887	0,3357	17,77
44	JEO 1	0,752	20,7142	22,6694	22,7823	22,7814	22,7775	22,7766		2,0624	1,7532	0,3092	17,64
57	JEO 2	0,752	18,8887	20,9780	21,0804	21,0827	21,0873	21,0804		2,1917	1,8726	0,3191	17,04
58	JEO 2	0,752	22,0796	23,9806	24,0764	24,0763	24,0748	24,078		1,9984	1,701	0,2974	17,48
61	JEO 2	0,752	19,7842	21,5992	21,6882	21,6952	21,687	21,6928		1,9086	1,6269	0,2817	17,32
50	NAG 12	0,752	20,0763	22,4840	22,6234	22,6023	22,6047	22,6116		2,5353	2,1499	0,3854	17,93
52	NAG 12	0,752	22,4342	24,7471	24,8768	24,8568	24,865	24,867		2,4328	2,0658	0,3670	17,77
74	NAG 12	0,752	23,0193	25,2958	25,4225	25,4129	25,4111	25,4188		2,3995	2,0337	0,3658	17,99
4	TUC 500	0,752	31,7233	33,9461	34,0758	34,0587	34,0665	34,0608		2,3375	1,9852	0,3523	17,75
6	TUC 500	0,752	20,4245	22,5829	22,7081	22,694	22,6999	22,6941		2,2696	1,9271	0,3425	17,77

ANEXO 5. **Variación de pesos en la determinación de las isotermas de sorción de *Phaseolus vulgaris* L. cosechado en la provincia de Salta (1.999) (continuación)**

Pesafiltros N°	Variedad	a_w	Tara	Tara+gr.	Peso 18 días	Peso 25 días	Peso 32 días	Peso 39 días	Peso 47 días	g final	g seco	g H2O	Humedad (g H20/100 g ms)
62	TUC 500	0,752	20,0457	22,0125	22,1328	22,1096	22,1181	22,1157		2,07	1,7558	0,3142	17,89
48	Camilo	0,842	20,2728	22,3835	22,6020	22,5801	22,6008	22,5968		2,324	1,8722	0,4518	24,13
55	Camilo	0,842	18,5838	20,5740	20,7786	20,77	20,7852	20,7808		2,197	1,7699	0,4271	24,13
65	Camilo	0,842	20,6041	22,4781	22,6641	22,6686	22,6814	22,6793		2,0752	1,6726	0,4026	24,07
31	JEO 1	0,842	22,5944	24,4608	24,6698	24,6386	24,6713	24,6697		2,0753	1,6656	0,4097	24,60
35	JEO 1	0,842	22,2151	24,3006	24,5358	24,4952	24,5249	24,5272		2,3121	1,8678	0,4443	23,79
40	JEO 1	0,842	20,4295	22,6367	22,8965	22,8518	22,8876	22,8903		2,4608	1,978	0,4828	24,41
38	JEO 2	0,842	19,0548	21,0221	21,2181	21,203	21,2387	21,238		2,1832	1,7529	0,4303	24,55
45	JEO 2	0,842	19,1307	21,1158	21,2979	21,3073	21,334	21,3347		2,204	1,7731	0,4309	24,30
60	JEO 2	0,842	21,0338	23,1258	23,3262	23,34	23,3589	23,3607		2,3269	1,869	0,4579	24,50
64	NAG 12	0,842	15,6017	17,7122	17,9179	17,9191	17,9453	17,9485		2,3468	1,8913	0,4555	24,08
51	NAG 12	0,842	20,5777	22,3459	22,5027	22,5418	22,5468	22,5455		1,9678	1,5761	0,3917	24,85
68	NAG 12	0,842	20,7831	22,8040	22,9884	23,0183	23,0287	23,0286		2,2455	1,7976	0,4479	24,92
1	TUC 500	0,842	19,6738	21,7511	21,9410	21,9689	21,9757	21,9742		2,3004	1,8504	0,4500	24,32
10	TUC 500	0,842	21,7969	23,8064	23,9930	24,0393	24,0419	24,0372					
17	TUC 500	0,842	22,5910	24,6299	24,8136	24,8622	24,8624	24,8586		2,2676	1,8216	0,4460	24,48
14	Camilo	0,903	19,3352	21,4070	21,6555	21,728	21,7537	21,7627	21,7821	2,4469	1,8269	0,6200	33,94
30	Camilo	0,903	17,2679	19,2742	19,5287	19,5869	19,6151	19,6311	19,6445	2,3766	1,7681	0,6085	34,42
34	Camilo	0,903	22,0058	24,0861	24,3494	24,414	24,441	24,4481	24,4746	2,4688	1,8303	0,6385	34,88
26	JEO 1	0,903	22,2383	24,3138	24,5756	24,6519	24,691	24,6855	24,6993	2,461	1,8417	0,6193	33,63
27	JEO 1	0,903	18,5073	20,3596	20,5985	20,6606	20,6889	20,6894	20,7102	2,2029	1,6396	0,5633	34,36
32	JEO 1	0,903	22,1508	24,1244	24,3661	24,446	24,4826	24,48	24,4888	2,338	1,7471	0,5909	33,82
21	JEO 2	0,903	19,9481	21,9188	22,1535	22,223	22,2596						
39	JEO 2	0,903	21,4454	23,4721	23,7002	23,769	23,8176	23,8399	23,8439	2,3985	1,8007	0,5978	33,20
54	JEO 2	0,903	19,5648	21,3512	21,5870	21,6105	21,6346	21,6689	21,6852	2,1204	1,5775	0,5429	34,42
59	NAG 12	0,903	20,6897	22,6855	22,9377	22,9692	23,0142	23,0454	23,027	2,3373	1,7603	0,5770	32,78
66	NAG 12	0,903	22,3732	24,5019	24,7606	24,8141	24,8676	24,8993	24,886	2,5128	1,8879	0,6249	33,10
73	NAG 12	0,903	20,2427	22,4733	22,7660	22,8241	22,8475	22,8665	22,8955	2,6528	1,9690	0,6838	34,73
8	TUC 500	0,903	22,2637	24,5819	24,8832	24,9445	24,9655	24,9874	25,0086	2,7449	2,0456	0,6993	34,19

ANEXO 5. **Variación de pesos en la determinación de las isotermas de sorción de *Phaseolus vulgaris* L. cosechado en la provincia de Salta (1.999) (continuación)**

Pesafiltros N°	Variedad	a_w	Tara	Tara+gr.	Peso 18 días	Peso 25 días	Peso 32 días	Peso 39 días	Peso 47 días	g final	g seco	g H2O	Humedad (g H20/100 g ms)
9	TUC 500	0,903	20,2859	22,3848	22,6549	22,6961	22,7131	22,7524	22,7785	2,4926	1,8511	0,6415	34,66
18	TUC 500	0,903	18,3128	20,3451	20,5976	20,6465	20,6608	20,6788	20,6907	2,3779	1,8041	0,5738	31,81
13	Camilo	0,927	22,7415	24,8091	25,1751	25,2581	25,2738	25,3151	25,2888	2,5473	1,8125	0,7348	40,54
20	Camilo	0,927	21,6913	23,5949	23,9609	23,997	24,0305	24,0518	24,0313	2,34	1,6708	0,6692	40,05
43	Camilo	0,927	22,9801	24,8015	25,1780	25,167	25,2454	25,2348	25,2285	2,2484	1,5857	0,6627	41,79
15	JEO 1	0,927	15,9267	18,0713	18,4344	18,5499	18,5356	18,6001	18,596	2,6693	1,8740	0,7953	42,44
22	JEO 1	0,927	20,2267	22,2124	22,5498	22,6886	22,6428	22,7169	22,7026	2,4759	1,7202	0,7557	43,93
46	JEO 1	0,927	19,4488	21,4343	21,7654	21,8791	21,868	21,9277	21,8759	2,4271	1,7075	0,7196	42,14
12	JEO 2	0,927	21,3627	23,2938	23,6210	23,7145	23,7163	23,775	23,7755	2,4128	1,6960	0,7168	42,26
33	JEO 2	0,927	18,2928	20,4765	20,8501	20,9214	20,9617	21,0216	20,9951	2,7023	1,9177	0,7846	40,91
63	JEO 2	0,927	23,8848	25,5735	25,8723	25,9261	25,9233	25,9693	25,9974	2,1126	1,4855	0,6271	42,21
69	NAG 12	0,927	22,2922	24,3035	24,6629	24,7826	24,712	24,7933	24,8089	2,5167	1,7621	0,7546	42,82
70	NAG 12	0,927	19,2181	21,5801	22,0580	22,0600	22,0974	22,0992	22,1714	2,9533	2,0828	0,8705	41,79
75	NAG 12	0,927	20,5118	22,5947	22,9901	23,0672	23,0265	23,0843	23,1371	2,6253	1,8243	0,8010	43,91
3	TUC 500	0,927	21,7338	23,8372	24,2831	24,2647	24,3306	24,3443	24,3322	2,5984	1,8284	0,7700	42,11
11	TUC 500	0,927	22,3013	24,3220	24,7596	24,7053	24,7946	24,8318	24,7797	2,4784	1,7604	0,7180	40,79
19	TUC 500	0,927	19,7511	22,0717	22,5555	22,5207	22,5833	22,595	22,6263	2,8752	2,0265	0,8487	41,88

** Los datos marcados pertenecen a muestras que fueron descartadas durante el ensayo

ANEXO 6: criterios de bondad de ajuste P y E aplicado a la comparación de las ecuaciones definidas en 3.III.3 y evaluadas en 4.I.2.

Ecuación	Criterios de bondad de ajuste	Variedad				
		Camilo	NAG 12	TUC 500	JEO 1	JEO 2
Bradley	P	7,8352	9,6568	9,5623	8,6742	8,2665
	E	0,9322	1,2591	1,4509	0,9683	0,9044
Caurie	P	8,5618	9,9369	9,3650	9,2801	8,9431
	E	1,3566	1,7834	1,8484	1,3775	1,3074
Chen	P	7,8352	9,6568	9,5623	8,6742	8,2665
	E	0,9322	1,2591	1,4509	0,9683	0,9044
Day y Nelson	P	4,4752	5,7581	4,8146	5,2355	4,6521
	E	0,3549	0,5683	0,5004	0,4663	0,3900
Hailwood y Horrobin	P	1,6074	2,6736	1,6778	3,1835	2,4915
	E	0,0460	0,0964	0,0405	0,1343	0,1028
Halsey	P	2,2973	2,1277	1,8947	2,5117	2,6548
	E	0,1013	0,0604	0,0548	0,0861	0,1007
Harkins y Jura	P	5,3661	4,2755	4,1759	4,4567	4,8706
	E	0,6195	0,4760	0,4573	0,3926	0,4833
Kuhn	P	6,5880	5,4336	5,3641	5,6844	6,4234
	E	0,7296	0,5235	0,6730	0,5083	0,6356
Lineal	P	17,2111	18,5591	20,1747	16,9116	17,2984
	E	3,8869	4,4808	5,3436	3,7961	3,8264
Mizrahi	P	6,6904	5,5306	5,4564	5,7720	6,5216
	E	0,7537	0,5448	0,6977	0,5269	0,6572
Oswin	P	1,5430	1,8766	1,2176	2,0291	1,5482
	E	0,0374	0,0504	0,0210	0,0718	0,0568
Smith	P	6,1017	7,9021	7,6313	7,0780	6,5553
	E	0,5842	0,8489	0,9479	0,6405	0,5755
Dole	P	25,3928	23,7787	25,3432	23,7051	25,9576
	E	9,8443	9,1737	8,8500	9,6069	10,5364
Freundlich	P	11,4375	13,1162	11,9932	12,2893	12,1725
	E	2,5525	3,1561	3,3702	2,4592	2,4226
Chirife y col.	P	15,7526	42,5413	20,0856	35,2391	16,7352
	E	3,1133	18,4596	4,6135	12,9994	3,3901

ANEXO 6: criterios de bondad de ajuste P y E aplicado a la comparación de las ecuaciones definidas en 3.III.3 y evaluadas en 4.I.2. (continuación)

Ecuación	Criterios de bondad de ajuste	Variedad				
		Camilo	NAG 12	TUC 500	JEO 1	JEO 2
White y Eiring	P	1,7440	2,3267	1,4961	2,7042	2,0513
	E	0,0510	0,0800	0,0354	0,1129	0,0886
Polinomial	P	4,7497	6,4575	6,1046	5,8284	5,3830
	E	4,7497	6,4575	6,1046	5,8284	5,3830
Young y Nelson	P	4,5759	5,9627	4,9509	5,3636	4,7715
	E	0,3749	0,5963	0,5243	0,4846	0,4074