

20
129



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

COMPORTAMIENTO DE SEMILLA DE MAIZ
ALMACENADA BAJO DIFERENTES
ATMOSFERAS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A :
ALICIA MENENDEZ ACOSTA

MEXICO, D. F.

1986



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

INTRODUCCION Y REVISION DE LITERATURA -----	1
MATERIALES Y METODOS -----	22
RESULTADOS Y DISCUSION -----	28
CONCLUSIONES -----	49
BIBLIOGRAFIA -----	50

INTRODUCCION Y REVISION DE LITERATURA.

Desde que el hombre se volvió sedentario se enfrentó con los problemas que trae consigo la agricultura, entre los que se encuentran el almacenamiento y conservación de los productos obtenidos en las cosechas.

La conservación de los granos alimenticios ha sido motivo de preocupación del hombre por el significado de éstos en su dieta y por la necesidad de resguardarlos en el almacén para protegerlos de sus competidores naturales.

Independientemente del uso de los granos y cereales, ya sea como alimento para el hombre y para los animales domésticos o como materia prima en la industria, así como para semilla que asegure la producción de mejores cosechas para el futuro, es necesario que se almacenen en forma segura para que se utilicen y consuman de acuerdo con las necesidades de la población, ya que es imposible el consumo y utilización inmediata de la producción total de las cosechas.

La función primordial de un almacén, de cualquier tipo o capacidad, es la de proporcionar a los granos y sus productos toda la protección posible contra los factores adversos del medio ambiente para garantizar su conservación adecuada a corto o largo plazo, es decir, el almacén debe proteger a los granos y semillas de los factores físicos del medio ambiente, como la excesiva humedad o las temperaturas extremas que los perjudican, así como de factores bióticos como los insectos, hongos, roedores y aves.

Un almacén debe contar con el equipo indispensable para el movimiento del grano, limpieza, clasificación, secado y control de plagas. Aquellos almacenes o bodegas que no reúnan los requisitos antes mencionados, no podrán proporcionar a las semillas, granos y a sus productos, las condiciones mínimas necesarias para su adecuada conservación.

México, por las características de su producción agrícola y por su numerosa y dispersa población campesina, almacena una gran cantidad de grano en condiciones rústicas, por lo que el tipo de almacenamiento rural es de gran importancia para el campesino. Si se toma en cuenta que por las propias características de los pequeños agricultores, éstos no cuentan con una infraestructura adecuada para el almacenamiento, es en ese sector donde se producen la mayor parte de las pérdidas.

En México contamos con todos los tipos de almacenes, desde los cuezcomatl o trojes rústicos hasta las más modernas unidades con todos los adelantos científicos disponibles hasta hoy, para el almacenamiento de maíz; desgraciadamente estos últimos son menos numerosos que los primeros.

En la actualidad existen diversas formas de almacenar los granos a nivel familiar (rural), con gran variación de una región a otra. A continuación se mencionan algunas de estas formas de almacenamiento.

El cincalli o cincalote, es un granero en forma de criba. Este tipo de estructura en la actualidad es utilizada en amplias zonas del Estado de México. Fueron usados por los Otomíes de Huixquilucan, Edo. de México, durante la última parte del siglo XIX. (Hernández X, 1949).

El tamaño y número de estas estructuras varía según el maíz que cosecha el agricultor durante el año.

El cuezcomatl, es un granero basiforme utilizado desde hace siglos. Actualmente se utilizan en los Estados de Morelos y Tlaxcala. Se fabrican de zacate enjarrado y sirven para almacenar el maíz desgranado. Se llena por una boca que tiene en la parte superior y se descarga por un pequeño orificio en la parte inferior. (Foto 1)

Trojes, son estructuras en forma de cabaña hechas con cuatro horcones de tamaño mediano, se utilizan desde el siglo pasado en Oaxaca. (Foto 2)

En algunas regiones del Sureste de México se utilizan cilindros hechos con malla de alambre y tambores de metal de 200 litros para almacenar granos.

Estas son algunas de las formas tradicionales de almacenamiento, pero lo característico del almacenamiento en el medio rural es que lo hagan en piezas de la casa, que en su mayoría las utilizan también con otros fines, otras veces lo guardan en el chapil o techo interior de la casa.

Almacenes Nacionales de Depósito, S.A. (ANDSA), es en México la principal institución almacenadora de grano y con una capacidad total de almacenamiento de 4 millones 250 mil toneladas, de las cuales anualmente se destinan de 1.5 a 2.5 millones para el almacenamiento de granos que son utilizados en México para la alimentación y la industria agropecuaria de la transformación. El resto de su capacidad, es utilizada para almacenar productos diversos de la industria química, metalúrgica y mineral.

En el norte del país, en las zonas productoras de trigo y sorgo, el grueso de la capacidad de almacenamiento está formado por bodegas planas metálicas, equipadas con sistemas de aireación y gran parte de ellas con recirculación de fumigantes, con una capacidad de almacenamiento que varía de 9 a 30 mil toneladas.

En el resto del país predominan las bodegas planas de concreto o mampostería, con una capacidad de almacenamiento aproximada de 5 mil toneladas. Las bodegas de concreto generalmente son utilizadas para el almacenamiento a granel y las de mampostería para el almacenamiento encostalado. (Foto 3). En algunos centros se cuenta con bodegas de mampostería con capacidad para almacenar de 10 a 15 mil toneladas de productos. Parte de estas bodegas se encuentran también equipadas con sistemas de aireación y recirculación de fumigantes y algunas de ellas están mecanizadas.

En Guaymas, Son., se cuenta con silos de concreto, con una capacidad de almacenamiento de 73 mil toneladas para la importación y exportación de granos.

ANDSA, realiza almacenamientos temporales de dos tipos, uno de ellos en tejabenas con piso de concreto y techo de lámina de asbesto; el otro a la intemperie con cubiertas de lona o de plástico.

Bodegas Rurales Conasupo (BDRUCONSA), cuenta con una capacidad de almacenamiento de aproximadamente 2 millones de toneladas, principalmente en bodegas planas. (Foto 4)

Durante la cosecha y el subsecuente manejo hasta su desti

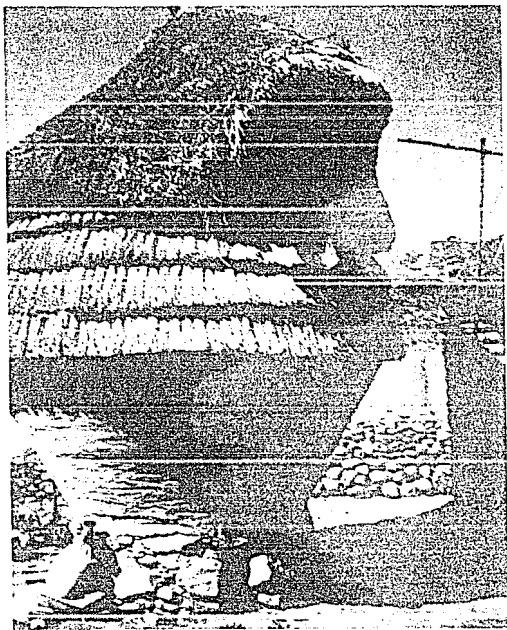


FOTO 1

Cuezcomatl, utilizado
actualmente en el Estado
de Morelos.

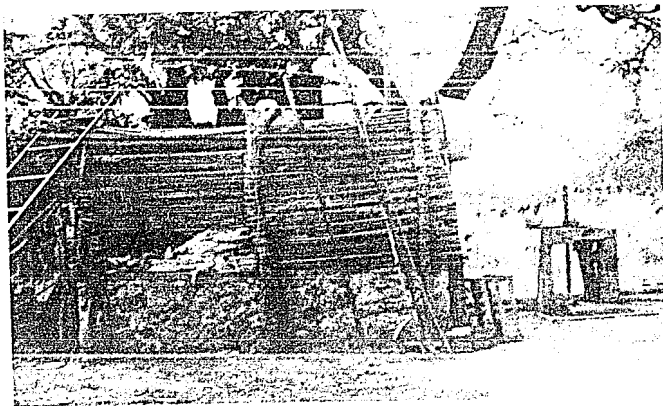


FOTO 2

Troje, utilizada
en el Estado de
Oaxaca desde el
siglo pasado.

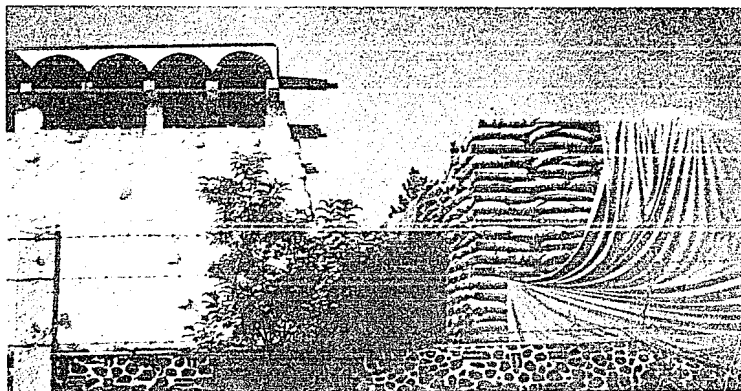


FOTO 3 Bodega de mampostería utilizada en Cuautla, Mor.

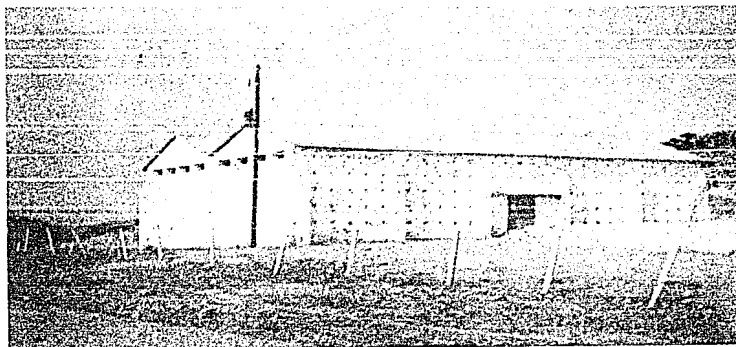


FOTO 4 Bodega plena de mampostería utilizada en Iguala, Gro.

no final, los granos y semillas están expuestos a sufrir daño físico que genera fuertes pérdidas cuantitativas y cualitativas, ya que el grano quebrado fácilmente se pierde en las operaciones de transporte y manejo y además favorece las actividades de insectos y hongos. Esto se agrava debido a las deficiencias en el transporte de grandes volúmenes de granos que permanecen más del tiempo conveniente en las zonas de producción, en los puertos marítimos, o bien, en los furgones del ferrocarril con un alto riesgo de deterioro, y por supuesto, la carencia de personal capacitado en el manejo poscosecha de los granos y semillas y la falta de investigación para resolver los problemas tecnológicos de nuestros muy particulares problemas.

Durante su almacenamiento, los granos y semillas deben ser protegidos de factores físicos, tales como la humedad y la temperatura y de agentes bióticos como los insectos, hongos, roedores y pájaros, para conservar la calidad biológica, nutricional y sanitaria de estos productos agrícolas.

En el caso de los insectos y de los hongos, el principal factor que favorece su desarrollo es la humedad y en segundo término la temperatura. En algunas zonas agrícolas los granos se cosechan con altos contenidos de humedad, que, de no tomarse las medidas adecuadas para su secado, éstos sufren un rápido deterioro por la proliferación de insectos y hongos. Por otra parte, los granos secos pueden ganar humedad al ser almacenados en zonas tropicales, lo cual igualmente favorece el desarrollo de los insectos y hongos de almacén.

Estimaciones que se han hecho a nivel internacional sobre las pérdidas poscosecha, señalan que en términos generales se pierde un 5% de la cosecha mundial de granos, antes de llegar

al consumidor. Sin embargo, la magnitud de las mermas varía de país a país y de año a año, considerándose que en la India y en algunos países de América y Africa, la pérdida es del orden del 30% de la cosecha anual de granos y en algunas ocasiones pueden ser mayores, dependiendo de diversos factores, como lo son el cultivo y las condiciones climáticas que prevalecen durante y después de la cosecha. Desafortunadamente en nuestro país no existen datos estadísticos que muestren la magnitud de las pérdidas poscosecha de granos, sin embargo algunos estudios preliminares y estimaciones sobre este problema, revelan que estas pérdidas son de consideración. En 1974, la entonces Secretaría de Agricultura y Ganadería en un estudio conjunto con Almacenes Nacionales de Depósito y el Instituto de Biología de la UNAM, encontraron que las pérdidas en el medio rural para maíz fueron del orden del 30% del grano almacenado en las trojes; lo cual era poco más de un millón de toneladas. El Programa Nacional de Alimentación, en 1983, ha señalado que en nuestro país por deficiencias en la infraestructura y en los servicios para la recepción, acondicionamiento, almacenamiento, transporte, distribución y comercialización de los granos, se generan mermas del orden del 10% de las cosechas. De un volumen de 12 millones de toneladas de maíz, un 10% representa más de 50 mil millones de pesos, en un solo cultivo.

Como ya se señaló, las principales causas bióticas de las pérdidas cuantitativas y cualitativas de los granos almacenados son los insectos, los roedores y los hongos.

Insectos. El efecto de los insectos sobre los granos y semillas almacenadas se manifiesta en varias formas, entre ellas la destrucción y consumo del grano por los adultos y estados larvarios, con la consiguiente contaminación del grano por sus excrementos y cuerpos, lo que demerita considerablemente su ca

lidad como alimento, su valor económico y el poder germinativo de las semillas. Además pueden ser portadores de bacterias patógenas al hombre.

El daño causado por los insectos también demerita la calidad del grano destinado a la industria. Las actividades de los insectos crean condiciones favorables para el desarrollo de los hongos, al aumentar el contenido de humedad de los granos.

Roedores. Las ratas constituyen un grave problema destruyendo y consumiendo los granos, y contaminándolos con el excremento y orina. Son además portadores o transmisores de graves enfermedades del hombre.

Hongos. Los granos durante su formación en el campo, están expuestos a ser invadidos por hongos, que en algunos casos constituyen serios problemas para la producción agrícola. Los hongos que invaden a los granos en el campo se les ha llamado hongos de campo y a los que los invaden después de efectuada su cosecha, se les ha llamado hongos de almacén.

Hongos de Campo. Estos hongos invaden a la semilla durante su formación en la planta o cuando ésta ha madurado y permanece en el campo en espera de ser cosechada. Estos hongos requieren contenidos de humedad en los granos, de 25 a 30% con base en peso húmedo, por lo que detienen su desarrollo cuando las semillas alcanzan su madurez fisiológica, ya que en ese momento éstas pierden humedad.

Entre los hongos de campo más comunes en granos y semillas, se encuentran los géneros Alternaria, Fusarium, Helminthosporium y Cladosporium. (Christensen, 1976). Ciertas espe-

cies pueden ocasionar la muerte del embrión y también severas enfermedades en las plantas, otros hongos producen toxinas que permanecen en el grano y afectan la calidad sanitaria, como algunas especies de Fusarium. (Jaffe, 1965; Samalley et al, 1970).

Hongos de Almacén. Los granos y semillas durante su almacenamiento son invadidos por hongos de los géneros Aspergillus y Penicillium. Estos hongos son llamados hongos de almacén, ya que únicamente invaden a los granos y semillas durante su almacenamiento, aunque ciertas especies del género Penicillium y el hongo Aspergillus flavus pueden considerarse como hongos de campo, ya que se les ha encontrado invadiendo el grano de maíz en las últimas etapas de su formación en el campo (Mislivec y Tuite, 1970). Sin embargo, mediante el trabajo de algunos investigadores, se ha determinado que la mayoría de las especies de estos hongos no invaden en forma significativa a los productos agrícolas antes de su cosecha (Tuite y Christensen, 1955, 1957; Tuite, 1961; Qasem y Christensen, 1958). Se considera que el lugar de invasión y fuente de contaminación de los hongos de almacén se encuentra en los graneros y silos, por ser ahí donde se encuentran las condiciones favorables para su desarrollo y donde sus esporas permanecen viables de ciclo a ciclo de almacenamiento y seguramente por períodos de varios años.

La característica principal de estos hongos es su habilidad para crecer en condiciones de poca humedad, y son capaces de desarrollarse en granos y semillas que tienen contenidos de humedad en equilibrio con humedades relativas alrededor del 70%. Cuadro 1. (Christensen y Kauffmann, 1974).

El género Aspergillus, el cual ha sido ampliamente estudiado, comprende una serie de grupos de especies. Los grupos

CUADRO 1

HUMEDADES RELATIVAS MINIMAS QUE PERMITEN EL DESARROLLO
DE ASPERGILLUS Y PENICILLIUM A TEMPERATURAS
OPTIMAS (27-30°C)

H O N G O	HUMEDAD RELATIVA MINIMA %
<u>Aspergillus halophilicus</u>	68
<u>A. restrictus</u> , <u>sporen donema</u> sp.	70
<u>A. glaucus</u>	73
<u>A. candidus</u> , <u>A. ochraceus</u>	80
<u>A. flavus</u>	85
<u>Penicillium</u> spp.	80-90

Christensen y Kaufman (1974)

de especies de Aspergillus que son más comunes en granos y semillas almacenadas son: A. restrictus, A. glaucus, A. candidus, A. versicolor, A. ochraceus y A. flavus. El grupo que con más frecuencia se encuentra relacionado con el deterioro de granos y semillas es Aspergillus glaucus, debido a que las especies que lo forman pueden crecer en contenidos de humedad frecuentemente encontrados en los granos, de 12.5 a 13.0% en oleaginosas y del 14.0 a 15.0% en granos ricos en almidón (Christensen y Kaufmann, 1974). Este grupo está formado por especies como A. amstelodami, A. ruber, A. chevalieri, A. echinulatus y A. repens.

Entre los daños que causan los hongos de almacén a los granos y semillas, podemos mencionar los siguientes:

1.- Pérdida de Viabilidad. Contrariamente a lo que se creía hace 20 años de que la pérdida de viabilidad de la semilla era exclusivamente causada por procesos fisiológicos, los fitopatólogos han demostrado el efecto deletéreo de estos hongos sobre la calidad de las semillas (Christensen y López, 1963; Christensen y Kaufmann, 1976; Moreno y Christensen, 1970). Sin embargo, los factores responsables de la pérdida de viabilidad en semillas como el girasol, la soya y la cebolla, no son tan solo los hongos de almacén, sino en gran medida la acción de los procesos fisiológicos intrínsecos de esas semillas (Coutiño et al, 1970; Sánchez et al, 1971; García y Moreno, 1973), ya que cuando éstos se desarrollan en forma significativa, la viabilidad ya ha sido afectada en gran medida por la acción de los procesos metabólicos de las semillas durante su almacenamiento.

2.- El ennegrecimiento de los granos es otro de los daños causados por los hongos de almacén, que se caracteriza por la

coloración o ennegrecimiento del embrión y la muerte de éste.

3.- Calentamiento de los granos y semillas. El calentamiento de los granos es ocasionado por hongos como A. candidus y A. flavus, que son capaces de elevar la temperatura del grano entre 50-55°C cuando encuentran condiciones adecuadas para su desarrollo (Christensen y Kaufmann, 1976). La actividad de estos hongos incrementa la humedad del grano permitiendo el desarrollo de bacterias termófilas que elevan la temperatura hasta 70-75°C que pueden desencadenar reacciones químicas que elevan aún más la temperatura, llegando incluso a la combustión del grano y a veces hasta el silo.

4.- Producción de micotoxinas. Las micotoxinas son metabolitos producidos por los hongos que se depositan en los granos y semillas, constituyendo un serio problema de sanidad debido a la alta toxicidad y poder carcinogénico de algunos de ellos. Estas son producidas, por ejemplo, por especies de A. flavus, A. ochraceus, A. versicolor y Penicillium urticae. Las aflatoxinas, micotoxinas producidas por especies de A. flavus, se incluyen dentro de las sustancias productoras de cáncer más potentes que se conocen (Butler, 1965). Desde el descubrimiento de esta micotoxina en los años sesentas hasta nuestros días, han sido descubiertas entre otras, las ochratoxinas producida por A. ochraceus, la esterigmatocistina producida por A. versicolor, todas ellas importantes causantes de enfermedades en el hombre y animales.

Combate de los hongos de almacén.

Actualmente para el combate de los hongos de almacén se recomienda mantener los granos y semillas en condiciones desfavorables para el desarrollo de los hongos, o sea, almacenando los granos y semillas con contenidos de humedad bajos en equi-

librio con humedades relativas bajas (65-70%) y a temperaturas bajas, menores de 20°C.

En México, principalmente en las zonas tropicales es difícil mantener almacenados los granos y semillas con contenidos de humedad bajos y a bajas temperaturas por las condiciones climáticas de esas regiones, por lo que se hace necesario buscar alternativas para su mejor conservación en esas zonas. Entre las alternativas con las que se cuenta para conservar los granos y semillas en climas tropicales se encuentran:

- 1.- Uso de inhibidores químicos.
- 2.- La resistencia genética.
- 3.- Almacenamiento hermético y atmósferas modificadas.

1.- Uso de inhibidores químicos. Entre los inhibidores químicos más utilizados, se encuentran los ácidos propiónico, acético y fórmico (Huitson, 1968; Hall, et al, 1974; Sauer y Burroughs, 1974). Estos inhibidores están siendo usados principalmente para preservar granos con contenidos de humedad altos, pero tienen el inconveniente de que son altamente corrosivos, dañan los silos metálicos, imparten olores y sabores no agradables para el hombre y destruyen el poder germinativo de los embriones, por lo tanto, su uso queda limitado a granos destinados a la alimentación animal. El uso de fungicidas, que actúan como inhibidores químicos, ha sido investigado por Moreno y Vidal, 1981; Moreno, et al, 1982; Moreno y Ramírez, 1985 y Moreno, et al, 1985. El uso de estos fungicidas se restringe a la conservación de semillas, por ser tóxicos para los animales y el hombre.

2.- Resistencia genética. Este método se basa en la búsqueda de variedades resistentes a condiciones adversas de alma

cenamiento. Respecto a esto se han realizado algunas investigaciones con resultados prometedores, ya que se han encontrado diferencias en el comportamiento de diferentes genotipos de maíz, en lo que se refiere a su capacidad para mantener su vida en condiciones adversas de almacenamiento (Mgren y Christensen, 1971 y Moreno, et al, 1976).

3.- Almacenamiento hermético y atmósferas modificadas.

Breve historia del almacenamiento hermético.

En los últimos 20 años se ha dado una gran importancia al estudio del almacenamiento hermético y al uso de atmósferas modificadas en las estructuras de almacenamiento, esto último, ha desarrollado una tecnología de almacenamiento más avanzada que involucra el uso de los gases para modificar la atmósfera de almacenamiento y en esta forma detener el desarrollo de insectos y hongos.

Se conoce que de 9 000 a 7 000 años A.C., en Europa se utilizaba el almacenamiento de granos en fosas subterráneas, que no es otra cosa que un tipo precursor del almacenamiento hermético. Con el descubrimiento del hierro aparecieron los primeros silos subterráneos clásicos, que sin duda eran herméticos. Estos métodos se utilizan actualmente en muchas regiones del mundo. (Francois Sigout, 1980).

El método hermético de almacenar grano para el consumo humano y de animales domésticos ha sido usado por el hombre desde hace siglos; el principio básico de este almacenamiento es eliminar el oxígeno existente en el aire del depósito o recipiente hermético hasta un nivel que suprima o inactive los organismos nocivos que dependen del oxígeno para subsistir (FAD, 1980). Este es un método efectivo para controlar las población

nes de insectos y de aminorar el desarrollo de hongos aerobios, pero ciertos microorganismos anaerobios, levaduras, producen fermentaciones en granos con contenidos de humedad mayores de 16%, impartiendo olores y sabores típicos de la fermentación (Hyde y Oxley, 1960). El almacenamiento en atmósferas modificadas es un método que tiene poco tiempo de investigarse, se basa principalmente en el manejo de las concentraciones de O_2 , CO_2 y N_2 , que componen la atmósfera de almacenamiento. El método de atmósfera modificada para el control de insectos se ha generado debido al incremento de la resistencia de los insectos hacia los insecticidas y fumigantes convencionales y a los residuos que se asocian con estos materiales. (Jay, 1980). En los últimos años, el almacenamiento hermético y su combinación con atmósfera modificada, se ha venido utilizando no sólo para impedir la formación de hongos en cereales muy húmedos si no también para eliminar insectos existentes en el grano seco, (FAO, 1980). Considerando que las sustancias químicas usadas actualmente para el control de insectos dejan residuos que generalmente son peligrosos para la salud durante su manejo y aplicación y que algunos insectos de productos almacenados han desarrollado resistencia a los tratamientos químicos, es preciso desarrollar métodos que ayuden a controlar a los insectos sin contaminar los productos almacenados. Uno de los métodos sin lugar a dudas es el almacenamiento hermético y el de atmósfera modificada.

La propiedad insecticida de una atmósfera modificada de CO_2 , O_2 y N_2 , ha sido reconocida durante mucho tiempo. Actualmente existen en muchos lugares del mundo programas de investigación sobre el uso de atmósferas modificadas para el control de insectos. Entre los estudios realizados sobre almacenamiento en atmósferas modificadas existen infinidad de trabajos

para el control de insectos, no siendo así para el control de hongos. A continuación se presentan algunos de los resultados que diversos investigadores han obtenido en esta área de la conservación de granos.

Jay y Pearman (1973), mostraron que en un almacenamiento de maíz con CO_2 durante 4 días, teniendo una infestación normal de insectos de granos almacenados, dió como resultado casi el 100% de mortalidad.

Person y Sorenson (1973), encontraron que el 0.5% de O_2 fue un poco más efectivo que el 1% de O_2 , particularmente a temperaturas bajas, contra adultos y formas inmaduras de Sitophilus oryzae, siendo más efectivo contra adultos de Sitophilus granarius.

Shejbal, et al (1973), obtuvo un control del 100% de insectos de granos almacenados utilizando una atmósfera de N_2 durante 10 días. Sin embargo, el uso del CO_2 es considerado para Jay (1980), más efectivo que el N_2 en una situación donde el almacén no queda completamente hermético.

Zakladnoi en 1976 mostró que una atmósfera de 100% de CO_2 es más tóxica que una de 100% de N_2 para adultos de Sitophilus oryzae, a tres temperaturas diferentes, 20, 25 y 30°C.

Stoyanova y Shikrenov (1976), determinaron el tiempo requerido para eliminar 4 especies de insectos de almacén. El tiempo promedio para matar el 99.9% de Sitophilus granarius a 20% de O_2 y 20% de CO_2 fue de 19.5 días y concluyeron que la baja tolerancia observada en Sitophilus oryzae podría deberse a que representa mayor velocidad de respiración comparado con S. granarius.

Storey (1980), concluyó en su trabajo sobre atmósferas modificadas que la atmósfera de 1.0% O₂, 9-9.5% CO₂, 86-89% N₂ y 1% Argón, es letal para todos los estadios de vida (huevo, larva, pupa y adulto) de los insectos comunes y de la palomilla que infestan productos almacenados. La susceptibilidad a la atmósfera varía entre especies y entre varios estadios de desarrollo en cada especie de insectos. La efectividad de la atmósfera generada depende primordialmente del tiempo de exposición y de la temperatura del tratamiento; el período de tiempo requerido para el control disminuye conforme la temperatura aumenta. La exposición en la atmósfera generada trae como resultados anomalías morfológicas fisiológicas que distorsionan o impiden el desarrollo normal de los insectos.

Bailey y Banks (1980), mencionan que se han hecho pocos estudios sobre la toxicidad de una atmósfera alta en concentraciones de CO₂ y baja en O₂, pero se sabe que el CO₂ actúa en presencia del O₂ y que la mezcla de CO₂ con aire, por ejemplo, 80% CO₂, 4% O₂ y 16% N₂, es más letal para algunas especies de insectos (Sitophilus spp.) que el CO₂ al 100%.

Efecto del CO₂ en el crecimiento de hongos.

Es difícil hacer aseveraciones precisas del efecto del CO₂ en los hongos, porque se han realizado pocos trabajos para tal efecto (Kheleel, 1976).

El efecto del CO₂ en el crecimiento de los hongos es muy variable llegando a provocar desde una estimulación hasta una completa inhibición. El nivel de CO₂ en el cual ocurre una inhibición en el crecimiento del hongo, varía con los diferentes géneros y especies, pero se ha observado que la inhibición por CO₂ aumenta a temperaturas bajas. (Brown, 1922; Golding, 1940; Tuite, 1967; Lillenhøj, 1972).

Se ha observado que algunos hongos son sensibles al CO_2 y su crecimiento es inhibido en concentraciones de CO_2 entre 5 y 20%. Entre estos hongos se incluyen algunos del género Penicillium. (Burgess, 1953; Julien, 1963; Lillefield, 1966; Macauley, 1969; Covey, 1970; Wells, 1970; Lillehoj, 1972; Mitchell, 1973; Sommer, 1974).

Existen ciertos hongos que son más tolerantes a concentraciones altas de CO_2 y su crecimiento es reducido solamente en concentraciones superiores al 50%. (Denny, 1933; Golding, 1940; Hollis, 1948; Ztotzky, 1965 y Tuite, 1967).

El CO_2 en concentraciones bajas de 1 a 10% provoca una estimulación en el crecimiento de ciertas especies de hongos de los géneros Fusarium y Penicillium. (Durrell, 1924; Golding, 1940; Hollis, 1948; Stover, 1958; Gundersen, 1961; Wells, 1970-1973; Mitchell, 1973).

Mitsuda y Yamamoto, 1980, mencionan que concentraciones altas de CO_2 (80-90%) evitan el crecimiento de los hongos, mientras que el N_2 no lo logra. Esta es una característica favorable para el uso del CO_2 en un almacenamiento prolongado de granos.

Efecto del CO_2 en la germinación de las esporas de los hongos.

El CO_2 puede tener efectos profundos en la germinación de las esporas de los hongos, provocando en ellas desde una estimulación hasta una completa inhibición de su germinación. La inhibición por CO_2 , se eleva al disminuir el oxígeno así como en temperaturas bajas.

Las esporas de algunos hongos pueden germinar en concentraciones de CO_2 del 60% o más, (Brown, 1922; Hull, 1939; Bournett, 1968; Lillehoj, 1972). Sin embargo hay otros hongos que son menos tolerantes al CO_2 y germinan en concentraciones del 50 al 60%, por ejemplo, Aspergillus repens (Brown, 1922; Brodie, 1942; Vakil, 1961 y Wells, 1970).

Existen hongos muy sensibles al CO_2 como Aspergillus niger ya que la germinación de sus esporas se inhibe en concentraciones del 3 al 16% de CO_2 . (Brodie, 1942; Vakil, 1961 y Wells, 1970).

Efecto del CO_2 en la esporulación de los hongos.

La esporulación de los hongos es más sensible que el crecimiento de los mismos al incremento del CO_2 . En algunos hongos, una concentración del 2 al 10% de CO_2 reduce su esporulación. (Littlefield, 1966; Mitchell, 1971-1973). En otros hongos una concentración de 4% de CO_2 en la atmósfera permite la formación de cigosporas pero reduce o inhibe el desarrollo de conidios. (Barnett y Lilly, 1956). También se ha observado que en concentraciones de 7 a 30% de CO_2 , se inhibe completamente la esporulación de ciertos hongos. (Barnett, 1956; Mitchell, 1973 y Mitchell, 1977). Sin embargo, existen hongos que estimulan su esporulación en concentraciones de 0.01 al 15% de CO_2 . (Mitchell, 1973).

El almacenamiento hermético en el medio rural presenta grandes ventajas de uso, entre ellas, el no utilizar sustancias químicas para el combate de insectos y hongos, el abatir el costo de conservación de los granos y el mantenerlos en buenas condiciones sanitarias. Uno de los problemas del almacenamiento hermético de grandes volúmenes de granos, es la difícil

tad de mantener la hermeticidad de los silos, el cual no se presenta en el medio rural, ya que los volúmenes son pequeños, de unos cuantos cientos de kilos hasta dos o tres toneladas de maíz o frijol. Considerando lo anterior, es necesario obtener información que nos permita conocer las ventajas, desventajas y límites de este sistema de almacenamiento.

El objetivo del presente trabajo ha sido el de determinar los efectos del almacenamiento hermético y del almacenamiento en una atmósfera modificada, con concentraciones altas de CO_2 , en la pérdida de viabilidad de la semilla de maíz almacenada con alto contenido de humedad.

MATERIALES Y METODOS

SEMILLA. Se utilizó semilla de maíz de la variedad V-524 sembrada y cosechada en San Rafael, Ver., en el ciclo primavera-verano de 1981. Al inicio de los experimentos la semilla presentó 96% de germinación, 10.4% de contenido de humedad y no presentó invasión por hongos de almacén.

GERMINACION. La determinación del porcentaje de germinación se realizó con base en el procedimiento de la American Association of Official Seed Analysts, (1981), que consiste en colocar 100 semillas en una toalla de papel húmeda, la cual se enrolla e incuba a 27°C, realizándose dos conteos de germinación, el primero a los cuatro y al segundo a los siete días. Se utilizaron 400 semillas para determinar el porcentaje de germinación del lote inicial y 200 semillas para cada una de las repeticiones de los tratamientos del experimento.

CONTENIDO DE HUMEDAD. El contenido de humedad fue determinado por el método de secado en estufa, que consiste en pesar de 5 a 10 gramos de semilla en cajas de aluminio previamente pesadas y colocadas en una estufa de circulación forzada de aire a 103°C durante 72 horas, volviendo a pesar nuevamente las cajas después de este período (USDA 1979). El contenido de humedad de la semilla se calculó por diferencia de peso y se expresó con base en el peso húmedo, utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de humedad} = \frac{A}{B} \times 100$$

En donde A = pérdida de agua en gramos.

B = peso original de la muestra húmeda.

El contenido de humedad de cada tratamiento se obtuvo del promedio de ocho repeticiones.

AJUSTE DEL CONTENIDO DE HUMEDAD. El contenido de humedad de la semilla fue ajustado mediante el método señalado por Harein y Soderstrom 1966, utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{100 - \text{contenido de humedad presente}}{100 - \text{contenido de humedad deseada}} - 1 = F$$

En donde F, es un factor que al ser multiplicado por el número de gramos de la muestra, da el número de mililitros de agua necesaria, para alcanzar el contenido de humedad deseado.

MICROFLORA. Para efectuar la determinación del número y clase de hongos presentes en las semillas, 25 de ellas fueron desinfectadas superficialmente con una solución de hipoclorito de sodio al 2% durante 2 minutos y posteriormente sembradas en un medio de cultivo selectivo para hongos de almacén (MSA). (2% malta, 5% sal, 2% agar), e incubadas a 26-27°C hasta que las colonias pudieron ser contadas e identificadas.

DETERMINACIÓN DE OXIGENO Y BÍOXIDO DE CARBONO. La determinación de las concentraciones de oxígeno y bióxido de carbono, en cada una de las repeticiones en el experimento, se llevó a cabo por cromatografía de gases. Se tomaron muestras de 0.5 ml de los frascos cerrados herméticamente y fueron inyectados en un cromatógrafo de gases Perkin Elmer modelo Sigma 1 para su análisis.

OBTENCIÓN DEL BÍOXIDO DE CARBONO. El bióxido de carbono se obtuvo mediante la reacción entre el HCl y roca de mármol

en un aparato de Kipp.

ALMACENAMIENTO DE LA SEMILLA. Se realizaron dos experimentos, en el primero, la semilla de maíz no presentó invasión por hongos de almacén al inicio del experimento, (Tabla 1), mientras que en el segundo experimento la semilla presentó 98% de invasión por Aspergillus glaucus (Tabla 2).

Primer experimento. Semilla de maíz inicialmente no invadida por hongos de almacén, almacenada herméticamente y en atmósfera modificada.

En este experimento se utilizaron 4.8 kg. de semilla de maíz que fue ajustada a un contenido de humedad de 17%. La semilla se dividió en dos lotes, uno de 3.6 kg. y otro de 1.2 kg. el primero de ellos se dividió en 24 unidades experimentales de 150 g. cada una, que a su vez fueron colocadas en frascos de vidrio; a 12 de esas unidades experimentales, al inicio del periodo de almacenamiento, se les cambió la atmósfera normal por una atmósfera que contenía 92% de CO_2 y 1.7% de O_2 , utilizando para el cambio de atmósfera el aparato de Kipp; los 12 frascos restantes se dejaron con la atmósfera normal de aire. El segundo lote de semilla de 1.2 kg. se separó en 12 unidades experimentales de 100 g. cada una, que fueron colocadas en frascos que se cerraron herméticamente.

Segundo experimento. Semilla de maíz inicialmente invadida con hongos de almacén, almacenada herméticamente y en una atmósfera modificada.

En este segundo experimento se utilizaron 4.8 kg. de semilla de maíz que fue ajustada a un contenido de humedad de 17% y que se almacenó durante 7 días a 26°C , para permitir la inva

TABLA 1

DATOS INICIALES DE GERMINACION, CONTENIDO DE HUMEDAD, MICROFLORA Y
CONCENTRACIONES DE CO₂ Y O₂ DE SEMILLA DE MAIZ UTILIZADA
EN EL PRIMER EXPERIMENTO

TRATAMIENTO	* CONTENIDO DE HUMEDAD %	** GERMINACION %	*** CONCENTRACIONES		PORCIENTO DE SEMILLA INVA DIDA POR <u>ASPERGILLUS</u> <u>GLADUS</u>
			CO ₂ %	O ₂ %	
HERMETICO	16.9	96	0.03	21.0	0
ATMOSFERA MODIFICADA	17.0	96	92.00	1.7	0
TESTIGO (ALMACENAMIENTO ABIERTO)	17.0	96	0.03	21.0	0

* Contenido de humedad promedio de 4 repeticiones cada una.

** Germinación promedio de 4 repeticiones de 100 semillas cada una.

*** Concentración de CO₂ y O₂, promedio de 4 repeticiones cada una.

TABLA 2

DATOS INICIALES DE GERMINACION, CONTENIDO DE HUMEDAD, MICROFLORA Y
 CONCENTRACIONES DE CO₂ Y O₂ DE SEMILLA DE MAIZ UTILIZADA
 EN EL SEGUNDO EXPERIMENTO

TRATAMIENTO	* CONTENIDO DE HUMEDAD %	** GERMINACION %	CONCENTRACIONES CO ₂ %	*** O ₂ %	PORCIENTO DE SEMILLA INVA DIDA POR ASPERGILLUS <u>GLAUCUS</u>
HERMETICO	17.0	96	0.03	21.0	98
ATMOSFERA MODIFICADA	16.8	96	88.0	2.7	98
TESTIGO (ALMACENAMIENTO ABIERTO)	16.8	96	0.05	21.0	98

* Contenido de humedad promedio de 4 repeticiones cada una.

** Germinación promedio de 4 repeticiones de 100 semillas cada una.

*** Concentración de CO₂ y O₂, promedio de 4 repeticiones cada una.

si3n de la semilla por los hongos de almac3n. Posteriormente, la semilla se dividi3 en dos lotes, uno de 3.6 kg. y el otro de 1.2 kg., el primero de ellos se dividi3 en 24 unidades experimentales de 150 g. cada una, que a su vez fueron colocadas en frascos de vidrio, a 12 de los cuales al inicio del periodo de almacenamiento, se les cambi3 la atm3sfera normal por una atm3sfera que contenía 88% de CO₂ y 2.7% de O₂. utilizando para el cambio de atm3sfera el aparato de Kipp; los 12 frascos restantes se dejaron con la atm3sfera de aire normal. El segundo lote de semilla de 1.2 kg., se separ3 en 12 unidades experimentales de 100 g. cada una y fueron colocadas en frascos que se cerraron herm3ticamente.

Todas las unidades experimentales, tanto del experimento 1 como del 2, se almacenaron en un cuarto incubadora a 26°C, durante 60 días, llevándose a cabo muestreos a los 30, 45 y 60 días. En cada uno de los muestreos se determinaron los porcentajes de germinaci3n, contenido de humedad, invasi3n por hongos y las concentraciones de O₂ y CO₂ en cada una de las repeticiones de los experimentos mediante los m3todos descritos anteriormente.

RESULTADOS Y DISCUSION

PRIMER EXPERIMENTO. Semilla de maíz inicialmente no invadida por hongos de almacén, almacenada herméticamente y en una atmósfera modificada.

El contenido de humedad durante los 60 días de almacenamiento se mantuvo entre 15.7 y 17.1%, como puede observarse en las Tablas 5, 7 y 9, siendo mayor en el almacenamiento hermético y en la atmósfera modificada que en el almacenamiento testigo debido a los procesos de fermentación que se originan en esas condiciones.

El análisis de varianza de los datos de germinación durante los 60 días de almacenamiento, mostró diferencias significativas, (0.01), en la interacción entre tiempos y sistemas de almacenamiento, así como entre tiempos y entre sistemas de almacenamiento, (Tabla 3), por lo que se decidió fijar el tiempo y realizar un análisis de varianza en cada uno de los tiempos de muestreo, 30, 45 y 60 días.

El análisis de varianza de los datos de germinación a los 30 días de almacenamiento, mostró diferencias significativas, (0.01), entre sistemas de almacenamiento. (Tabla 4). por lo que se llevó a cabo una prueba de rango múltiple de Duncan para detectar las diferencias entre sistemas. Esta prueba mostró que el sistema de almacenamiento hermético fue superior al almacenamiento testigo y al de almacenamiento en una atmósfera modificada, y a su vez el almacenamiento testigo resultó superior al almacenamiento con atmósfera modificada. (Tabla 5).

Durante los primeros 30 días de almacenamiento en el sis-

tema de almacenamiento hermético, la atmósfera sufrió cambios de la concentración normal de CO_2 y O_2 en el aire alcanzando hasta un 42% de CO_2 y reduciéndose a 2.5% de O_2 . En el sistema de almacenamiento con atmósfera modificada, la concentración de CO_2 , durante los 30 días de almacenamiento, se mantuvo en promedio entre 87 y 92% de CO_2 y la concentración de O_2 durante el mismo período se mantuvo entre 1.7 y 1.8% (Tablas 1 y 5).

En cuanto al porcentaje de invasión por hongos a la semilla, solamente en el sistema de almacenamiento testigo se observó una severa invasión por hongos de almacén con 74% de Aspergillus glaucus y 5% de A. flavus, (Tabla 5).

El análisis de varianza de los datos de germinación a los 45 días de almacenamiento, mostró diferencias significativas, (0.01), entre sistemas de almacenamiento (Tabla 6), por lo que se llevó a cabo una prueba de rango múltiple de Duncan para detectar las diferencias entre sistemas de almacenamiento. Esta prueba mostró que la germinación de la semilla en el sistema de almacenamiento hermético fue superior a la de las semillas en los otros sistemas de almacenamiento, sin embargo aquí ya no hubo diferencias en germinación en el sistema de almacenamiento con atmósfera modificada y el sistema de almacenamiento testigo (Tabla 7).

La atmósfera del sistema de almacenamiento hermético se mantuvo entre los 30 y 45 días de almacenamiento, con una concentración promedio de CO_2 entre 42 y 47% y de O_2 entre 2.5 y 1.9%. En el sistema de almacenamiento con atmósfera modificada en los mismos períodos de almacenamiento las concentraciones se mantuvieron en promedio entre 86 y 87% de CO_2 y entre 1.6 y 1.8% de O_2 (Tablas 5 y 7). Nuevamente en la semilla del sistema de almacenamiento testigo fue donde se detectaron hon-

gos de almacén con una invasión de la semilla por 83% de A. glaucus y 2% de A. flavus, (Tabla 7).

El análisis de varianza de los datos de germinación a los 60 días de almacenamiento mostró diferencias significativas, (0.01), entre sistemas de almacenamiento (Tabla 8), por lo que también se llevó a cabo una prueba de contrastes de medias por el método de Duncan, para detectar las diferencias entre sistemas de almacenamiento. Esta prueba mostró que el sistema de almacenamiento hermético fue superior a los sistemas de almacenamiento testigo y con atmósfera modificada, para la conservación de la viabilidad de la semilla y para inhibir el desarrollo de los hongos de almacén y a su vez el sistema de almacenamiento testigo resultó superior al sistema de almacenamiento con atmósfera modificada (Tabla 9).

Durante los 45 y 60 días de almacenamiento, la atmósfera del sistema de almacenamiento hermético se mantuvo en promedio entre 47 y 58% de CO_2 y entre 1.7 y 1.9% de O_2 . En el sistema de almacenamiento con atmósfera modificada las concentraciones se mantuvieron entre 23 y 86% para CO_2 y entre 0.8 y 1.6% para O_2 (Tablas 7 y 9).

De los tres sistemas de almacenamiento utilizados en este experimento, el almacenamiento hermético fue el mejor para conservar la viabilidad de la semilla de maíz, almacenada con contenidos de humedad entre 16 y 17%. Con este método se logró mantener arriba del 90%, por 60 días la viabilidad de la semilla de maíz con contenidos de humedad altos, (Tabla 9).

Cuando se almacena semilla de maíz en una atmósfera modificada con una concentración de CO_2 mayor de 80%, en los 30 y 60 días de almacenamiento se observa un efecto fitotóxico en

la semilla, ya que la germinación es inferior a la de la semilla almacenada en un sistema abierto (Tablas 5 y 9).

Los sistemas de almacenamiento, hermético y en atmósfera modificada, sirven como un método para conservar granos que no estén invadidos por hongos de almacén al inicio de su almacenamiento, ya que inhiben el desarrollo de estos hongos y en esta forma evitan la posible contaminación de los granos con micotoxinas.

Para este período de almacenamiento, la invasión por hongos de almacén fue de 92% de A. glaucus y 1% de A. flavus en el sistema de almacenamiento testigo; los otros sistemas de almacenamiento no presentaron invasión por estos hongos, lo cual demuestra la ventaja sanitaria de almacenar los granos alimenticios en estas condiciones de hermeticidad y de atmósferas modificadas (Tabla 9).

SEGUNDO EXPERIMENTO. Semilla de maíz inicialmente invadida con hongos de almacén, almacenada herméticamente y en una atmósfera modificada..

El contenido de humedad durante los 60 días de almacenamiento se mantuvo entre 15.5 y 17.1% como puede observarse en las Tablas 12,14 y 16.

El análisis de varianza de los datos de germinación durante los 60 días de almacenamiento, mostró diferencias significativas, (0.01), en la interacción tiempos y sistemas de almacenamiento, así como entre tiempos y entre sistemas de almacenamiento (Tabla 10), por lo cual se decidió fijar el tiempo y realizar un análisis de varianza en cada uno de los tiempos de muestreo, 30, 45 y 60 días.

TABLA 3

ANALISIS DE VARIANZA DE LA GERMINACION DE SEMILLA DE MAIZ INICIALMENTE
NO INVADIDA POR HONGOS DE ALMACEN, ALMACENADA DURANTE 60 DIAS EN FORMA
HERMETICA Y EN ATMOSFERA MODIFICADA

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	F REQUERIDA
A (tratamiento)	2	27244.22	13622.11	1289.38	5.49
B (Tiempo)	2	1734.72	867.36	82.09	5.49
AxB	4	1119.44	279.86	26.49	4.11
ERROR	27	285.25	10.56		
TOTAL	35	30383.63			

** P < 0.01

TABLA 4

ANALISIS DE VARIANZA DE LA GERMINACION DE SEMILLA DE MAIZ INICIALMENTE
 NO INVADIDA POR HONGOS DE ALMACEN, ALMACENADA DURANTE 30 DIAS EN FORMA
 HERMETICA Y EN ATMOSFERA MODIFICADA

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	F REQUERIDA
TRATAMIENTOS	2	6282.6	3141.33	372.00	8.02
ERROR	9	76.0	8.44		
TOTAL	11	6358.6			

** P < 0.01

TABLA 5

GERMINACION, CONTENIDO DE HUMEDAD, MICROFLORA Y CONCENTRACIONES DE CO₂ Y O₂, DE SEMILLA DE MAIZ INICIALMENTE NO INVADIDA POR HONGOS DE ALMACEN, ALMACENADA, DURANTE 30 DIAS, EN FORMA HERMETICA Y EN ATMOSFERA MODIFICADA

TRATAMIENTO	CONTENIDO DE HUMEDAD %	GERMINACION % **	CONCENTRACIONES ***		PORCIENTO DE SEMILLA INVADIDA POR ASPERGILLUS	
			CO ₂	O ₂	GLAUCUS	FLAVUS
HERMETICO	16.9	94a	42	2.5	0	0
TESTIGO (ALMACENAMIENTO ABIERTO)	16.3	54b	0.03	21.0	74	5
ATMOSFERA MODIFICADA	16.8	40c	87	1.8	0	0

* Contenido de humedad promedio de 8 repeticiones cada una.

** Germinación promedio de 4 repeticiones de 100 semillas cada una.

*** Concentraciones de CO₂ y O₂, promedio de 4 repeticiones cada una.

TABLA 6

ANALISIS DE VARIANZA DE LA GERMINACION DE SEMILLA DE MAIZ INICIALMENTE
 NO INVADIDA POR HONGOS DE ALMACEN, ALMACENADA DURANTE 45 DIAS EN FORMA
 HERMETICA Y EN ATMOSFERA MODIFICADA

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	F REQUERIDA
TRATAMIENTOS	2	8214.5	4107.25	228.53**	8.02
ERROR	9	161.75	17.97		
TOTAL	11	8376.25			

** P < 0.01

TABLA 7

GERMINACION, CONTENIDO DE HUMEDAD, MICROFLORA Y CONCENTRACIONES DE CO₂ Y O₂, DE SEMILLA DE MAIZ INICIALMENTE NO INVADIDA POR HONGOS DE ALMACEN, ALMACENADA, DURANTE 45 DIAS, EN FORMA HERMETICA Y EN ATMOSFERA MODIFICADA

TRATAMIENTO	* CONTENIDO DE HUMEDAD %	** GERMINACION %	*** CONCENTRACIONES		PORCIENTO DE SEMILLA INVADIDA POR ASPERGILLUS	
			CO ₂	O ₂	GLAUCUS	FLAVUS
HERMETICO	16.8	94a	47	1.9	0	0
TESTIGO (ALMACENAMIENTO ABIERTO)	16.0	38b	0.03	21.0	83	2
ATMOSFERA MODIFICADA	16.9	39b	86	1.6	0	0

* Contenido de humedad promedio de 8 repeticiones cada una.

** Germinación promedio de 4 repeticiones de 100 semillas cada una.

*** Concentraciones de CO₂ y O₂, promedio de 4 repeticiones cada una.

TABLA 8

ANALISIS DE VARIANZA DE LA GERMINACION DE SEMILLA DE MAIZ INICIALMENTE
 NO INVADIDA POR HONGOS DE ALMACEN, ALMACENADA DURANTE 60 DIAS EN FORMA
 HERMETICA Y EN ATMOSFERA MODIFICADA

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	F REQUERIDA
TRATAMIENTOS	2	13866.5	6933.25	1313.66**	8.02
ERROR	9	47.5	5.27		
TOTAL	11	13914.0			

** P < 0.01

TABLA 9

GERMINACION, CONTENIDO DE HUMEDAD, MICROFLORA Y CONCENTRACIONES DE CO₂ Y O₂,
DE SEMILLA DE MAIZ INICIALMENTE NO INVADIDA POR HONGOS DE ALMACEN, ALMACENADA,
DURANTE 60 DIAS, EN FORMA HERMETICA Y EN ATMOSFERA MODIFICADA

TRATAMIENTO	* CONTENIDO DE HUMEDAD %	** GERMINACION %	*** CONCENTRACIONES		PORCIENTO DE SEMILLA INVADIDA POR	
			CO ₂	O ₂	ASPERGILLUS GLAUCUS	FLAVUS
HERMETICO	16.9	93a	58	1.7	0	0
TESTIGO (ALMACENAMIENTO ABIERTO)	15.7	31b	0.03	21.0	92	1
ATMOSFERA MODIFICADA	17.1	14c	83	0.6	0	0

* Contenido de humedad promedio de 8 repeticiones cada una.

** Germinación promedio de 4 repeticiones de 100 semillas cada una.

*** Concentraciones de CO₂ y O₂, promedio de 4 repeticiones cada una.

El análisis de varianza de los datos de germinación a los 30 días de almacenamiento, mostró diferencias significativas, (0.01), entre sistemas de almacenamiento (Tabla 11), por lo que se llevó a cabo una prueba de rango múltiple de Duncan, para detectar las diferencias entre sistemas de almacenamiento. Esta prueba mostró que el sistema de almacenamiento hermético fue superior a los sistemas de almacenamiento en una atmósfera modificada y al sistema de almacenamiento testigo, y a su vez el sistema de almacenamiento en atmósfera modificada resultó superior al sistema de almacenamiento testigo (Tabla 12).

La atmósfera durante los primeros 30 días de almacenamiento, en el sistema de almacenamiento hermético cambió de las concentraciones normales de CO_2 y O_2 en el aire a 54% de CO_2 y 0.3% de O_2 ; y en la atmósfera modificada la concentración de CO_2 se mantuvo en promedio durante los 30 días de almacenamiento entre 83 y 88% de CO_2 y la concentración de O_2 entre 2.3 y 2.7% (Tablas 2 y 12).

En cuanto al porcentaje de invasión por hongos a la semilla, en los tres sistemas se observa una invasión de 30% de A. glaucus y 3% de A. flavus para el almacenamiento hermético; 48% de A. glaucus y 9% de A. flavus en la atmósfera modificada y 34% de A. glaucus y 13% de A. flavus para el almacenamiento testigo. (Tabla 12).

El análisis de varianza de los datos de germinación a los 45 días de almacenamiento, mostró diferencias significativas, (0.01), entre sistemas de almacenamiento (Tabla 13), por lo que se llevó a cabo una prueba de rango múltiple de Duncan, para detectar las diferencias entre sistemas. Esta prueba mostró que el almacenamiento hermético fue superior al de la at-

mósfera modificada y al del testigo y a su vez el sistema de almacenamiento con atmósfera modificada resultó superior al sistema de almacenamiento testigo. (Tabla 14).

La atmósfera del sistema hermético se mantuvo entre los 30 y 45 días de almacenamiento, con una concentración promedio de CO_2 entre 54 y 55% y de O_2 entre 0.3 y 1.9%. En el sistema de almacenamiento con atmósfera modificada las concentraciones de CO_2 se mantuvieron entre 80 y 83% y para el O_2 entre 0.6 y 2.3%. (Tablas 12 y 14).

Durante el periodo de almacenamiento de 45 días se observó una severa invasión a la semilla por hongos de almacén, en la atmósfera modificada y en el sistema testigo, siendo muy ventajoso el sistema hermético (Tabla 14).

En el análisis de varianza de los datos de germinación a los 60 días de almacenamiento, se detectaron diferencias significativas (0.01), entre sistemas (Tabla 15), por lo que nuevamente se llevó a cabo una prueba de rango múltiple de Duncan, para comparar las medias entre los sistemas. Esta prueba mostró que el hermético fue superior al testigo y al de atmósfera modificada, y que el sistema testigo resultó superior al de atmósfera modificada. (Tabla 16).

Durante los 45 y 60 días de almacenamiento, la atmósfera del sistema hermético se mantuvo en promedio entre 55 y 60% de CO_2 y entre 1.8 y 1.9% de O_2 . En el de atmósfera modificada las concentraciones de CO_2 se mantuvieron en 80% y entre 0.6 y 3.2% promedio de O_2 (Tablas 14 y 16). Para este periodo de almacenamiento, la invasión de la semilla por hongos de almacén fue de 28% de A. glaucus para el sistema hermético; de 54% de A. glaucus y 23% de A. flavus para el almacenamiento en atmós-

fera modificada y de 32% de A. glaucus y 57% de A. flavus para el testigo.

Cuando la semilla tiene una invasión muy severa por hongos de almacén, al inicio del período de almacenamiento, ninguno de los métodos aquí probados sirve para conservar su viabilidad.

TABLA 10

ANALISIS DE VARIANZA DE LA GERMINACION DE SEMILLA DE MAIZ INICIALMENTE
 INVADIDA POR HONGOS DE ALMACEN, ALMACENADA DURANTE 60 DIAS EN FORMA
 HERMETICA Y EN ATMOSFERA MODIFICADA

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	F REQUERIDA
A (tratamiento)	2	4411.55	2205.77	98.93	5.49
B (tiempo)	2	4865.38	2432.69	109.10	5.49
AxB	4	1912.94	478.23	21.44	4.11
ERROR	27	602.00	22.29		
TOTAL	35	11791.88			

** P < 0.01

TABLA 11

ANALISIS DE VARIANZA DE LA GERMINACION DE SEMILLA DE MAIZ INICIALMENTE
 INVADIDA POR HONGOS DE ALMACEN, ALMACENADA DURANTE 30 DIAS EN FORMA
 HERMETICA Y EN ATMOSFERA MODIFICADA

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	F REQUERIDA
TRATAMIENTOS	2	1163.16	581.58	18.19**	8.02
ERROR	9	287.75	31.97		
TOTAL	11	1450.91			

** P < 0.01

TABLA 12

GERMINACION, CONTENIDO DE HUMEDAD, MICROFLORA Y CONCENTRACIONES DE CO₂ Y O₂,
DE SEMILLA DE MAIZ INICIALMENTE INVADIDA POR HONGOS DE ALMACEN, ALMACENADA,
DURANTE 30 DIAS, EN FORMA HERMETICA Y EN ATMOSFERA MODIFICADA

TRATAMIENTO	* CONTENIDO DE HUMEDAD %	** GERMINACION %	*** CONCENTRACIONES CO ₂	*** O ₂	PORCIENTO DE SEMILLA INVADIDA POR ASPERGILLUS	
					GLAUCUS	FLAVUS
HERMETICO	17.1	57a	54	0.3	30	3
TESTIGO (ALMACENAMIENTO ABIERTO)	16.6	33c	0.03	21.0	34	13
ATMOSFERA MODIFICADA	17.0	48b	83	2.3	48	9

* Contenido de humedad promedio de 8 repeticiones cada una.

** Germinación promedio de 4 repeticiones de 100 semillas cada una.

*** Concentraciones de CO₂ y O₂, promedio de 4 repeticiones cada una.

TABLA 13

ANALISIS DE VARIANZA DE LA GERMINACION DE SEMILLA DE MAIZ INICIALMENTE
 INVADIDA POR HONGOS DE ALMACEN, ALMACENADA DURANTE 45 DIAS EN FORMA
 HERMETICA Y EN ATMOSFERA MODIFICADA

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	F REQUERIDA
TRATAMIENTOS	2	2381.16	1190.58	54.73	8.02
ERROR	9	195.75	21.75		
TOTAL	11	2576.91			

** P < 0.01

TABLA 14

GERMINACION, CONTENIDO DE HUMEDAD, MICROFLORA Y CONCENTRACIONES DE CO_2 Y O_2 ,
 DE SEMILLA DE MAIZ INICIALMENTE INVADIDA POR HONGOS DE ALMACEN, ALMACENADA,
 DURANTE 45 DIAS, EN FORMA HERMETICA Y EN ATMOSFERA MODIFICADA

TRATAMIENTO	* CONTENIDO DE HUMEDAD %	** GERMINACION %	*** CONCENTRACIONES		PORCIENTO DE SEMILLA INVADIDA POR ASPERGILLUS	
			CO_2	O_2	<u>GLAUCUS</u>	<u>FLAVUS</u>
HERMETICO	16.8	56a	55	1.9	7	0
TESTIGO (ALMACENAMIENTO ABIERTO)	16.0	24c	0.03	21.0	58	37
ATMOSFERA MODIFICADA	16.9	44b	80	0.6	59	14

* Contenido de humedad promedio de 8 repeticiones cada una.

** Germinación promedio de 4 repeticiones de 100 semillas cada una.

*** Concentraciones de CO_2 y O_2 , promedio de 4 repeticiones cada una.

TABLA 15

ANALISIS DE VARIANZA DE LA GERMINACION DE SEMILLA DE MAIZ INICIALMENTE
 INVADIDA POR HONGOS DE ALMACEN, ALMACENADA DURANTE 60 DIAS EN FORMA
 HERMETICA Y EN ATMOSFERA MODIFICADA

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	F REQUERIDA
TRATAMIENTOS	2	2780.16	1390.08	105.57 ^{**}	8.02
ERROR	9	118.50	13.16		
TOTAL	11	2898.66			

** P < 0.01

TABLA 16

GERMINACION, CONTENIDO DE HUMEDAD, MICROFLORA Y CONCENTRACIONES DE CO₂ Y O₂, DE SEMILLA DE MAIZ INICIALMENTE INVADIDA POR HONGOS DE ALMACEN, ALMACENADA, DURANTE 60 DIAS, EN FORMA HERMETICA Y EN ATMOSFERA MODIFICADA

TRATAMIENTO	* CONTENIDO DE HUMEDAD %	** GERMINACION %	*** CONCENTRACIONES		PORCIENTO DE SEMILLA INVADIDA POR ASPERGILLUS	
			CO ₂	O ₂	GLAUCUS	FLAVUS
HERMETICO	16.8	39a	60	1.8	28	0
TESTIGO (ALMACENAMIENTO ABIERTO)	15.5	24b	0.03	21.0	32	57
ATMOSFERA MODIFICADA	16.8	2c	80	3.2	54	23

* Contenido de humedad promedio de 8 repeticiones cada una.

** Germinación promedio de 4 repeticiones de 100 semillas cada una.

*** Concentraciones de CO₂ y O₂, promedio de 4 repeticiones cada una.

CONCLUSIONES

- Cuando la semilla de maíz aún no está invadida por hongos de almacén y se almacena en condición hermética con contenidos de humedad de 16-17%, mantiene su poder germinativo por más de 60 días.

- Una atmósfera que contenga una concentración de CO_2 mayor de 80%, es fitotóxica para semilla de maíz almacenada con contenido de humedad de 16-17% en un período de almacenamiento de 60 días.

- En semilla de maíz invadida en un 98% por hongos de almacén no es posible mantener la viabilidad usando métodos de almacenamiento hermético y de atmósfera modificada.

- Los sistemas de almacenamiento hermético y de atmósfera modificada pueden ser usados para almacenar maíz para grano ya que inhiben el desarrollo de los hongos y con toda seguridad los insectos, roedores y otros animales estarían también excluidos si la estructura de almacenamiento fuera de un material resistente como barro, metal, plástico grueso, etc.

- En semillas de maíz inicialmente invadidas con A. glaucus, el sistema hermético fue el que mayor protección dió a la semilla durante los 60 días de almacenamiento y aunque el sistema de atmósfera modificada mantuvo el porcentaje de germinación más alto que el sistema testigo durante los primeros 45 días de almacenamiento, a los 60 días se observó un efecto fitotóxico de la atmósfera de almacenamiento.

BIBLIOGRAFIA

- American Association of Official Seed Analysts. 1981. Rules for Testing Seeds. Journal of Seed Technology. Vol. 6 No. 2: 125 pp.
- Arias, V.C. 1980. Almacenamiento y Conservación de Productos Agrícolas en Almacenes Nacionales de Depósito, S.A. (ANDSA). Memorias del Coloquio Internacional sobre Conservación de Semillas y Granos Almacenados. Instituto de Biología. UNAM, Oaxtepec, Mor. 43-51 pp.
- Bailey, S.W. and Banks, H. J. 1980. A review of recent studies of effects of controlled atmospheres on stored product pest. In "Controlled Atmosphere Storage of Grains". (ed. J. Shejbal. Elsevier, Amsterdam. 101-118 pp.
- Barnett, H. L. and V.G. Lilly. 1956. Factors affecting the production of zygospores by *Choanephora cucurbitatum*. Mycologia. 48: 617-627.
- Bournett, J.A., A.H. Gold and W.C. Snyder. 1968. Effect of carbon dioxide on germination of chlamydospores of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*. Phytopathology. 68:710-711.
- Brodie, H.J. and C.C. Neufeld. 1942. The development and structure of conidia of *Erysipe polygani* DC. and their germination at low humidity. Can. J. Research C. 20:41-61.
- Brown. W. 1922. On the germination and growth of fungi at various temperatures and in various concentrations of oxygen and carbon dioxide. Ann. Bot. 36:257-283.
- Burges, A. and E. Fenton. 1953. The effect of carbon dioxide on the growth of certain soil fungi. Trans. Brit. Mycol. Soc. 36:104-108.
- Butler, W.H. 1965. Liver injury and aflatoxin. In: Wogan, G. N. (Ed), Mycotoxins in Foodstuffs. Mass. Inst. Tech. Press, Cambridge.
- Christensen, C.M. y H.H. Kaufmann. 1965. Deterioration of stored grain by fungi. Ann. Rev. Phytopathology. 3: 69-84.

- Christensen, C.M. y H. H. Kaufmann. 1974. Microflora. In, Christensen, C.M. (Ed). Storage of cereal grains and their products. American Association of Cereal Chemists, St. Paul.

- Christensen, C.M. y Kaufmann, H. H. 1976. Contaminación por hongos en granos almacenados. Pax-México. México 189 pp.

- Christensen C.M. and L. C. López. 1963. Daños que causan en México los hongos de granos almacenados. INIA, SAG - folleto técnico No. 44. 30 p.

- Coutiño, M.B.B., E. Moreno y M. Zenteno. 1970. Efectos de ciertas condiciones de almacenamiento sobre la viabilidad de la semilla de cebolla (*Allium cepa* L.) y coliflor (*Brassica oleracea*) Rev. Lat. Amer. Micro. 12: 109-114.

- Covey, H.M. and J. M. Wells. 1970. Low oxygen or high-carbon dioxide atmospheres to control postharvest decay of strawberries. Phytopathology. 60:47-49.

- Denny, F.E. 1933. Oxygen requirements of *Neurospora sitophila* for formation of perithecia and growth of micelium. Contrib. Boyce Thompson Inst. 5:95-102.

- Durrell, L.W. 1924. Stimulation of spore germination by carbon dioxide. Science. 60:499.

- F.A.O. 1980. Almacenamiento Hermético de Granos. Organización de las Naciones Unidas. Roma, Italia. 74 p.

- García, G.G. y E. Moreno. 1973. Efecto del contenido de humedad y de los hongos durante el almacenamiento de las semillas de girasol. Bol. Soc. Mic. 7:145-150.

- Golding, N.S. 1940. The gas requirements of molds II. The oxygen requirements of *Penicillium roqueforti* (Three strains originally isolated from blue/veined cheese) in the presence of nitrogen as diluent and the absence of carbon dioxide. J. Dairy Sci. 23:879-889.

- Gundersen, K. 1961. Growth of *fomes annosus* under reduced oxygen pressure and the effect of carbon dioxide. Nature (Lond.) 190:649.

- Hall, G.E. Hill, L.D., Hat Field, E.E., y Jensen, H.H. 1974. Propionic-acetic for High-Moisture Corn Preservation. Transactions of the Asae.

- Harein, K. P. and Soderstrom, E.L. 1966. Coleptera infesting stored products. In insect colonization and mass production. New York. Academic press.

- Hasking, R.H. and W.H. Weston, Jr. 1950. Studies in the lower chytridiales. I. Factors affecting pigmentation, growth and metabolism of strain of *Marlingia* (*Rhizophlyctis*) *rosea* Am. J. Bot. 37:739-750.

- Hernández, X. E. 1949. Maize Granaries in Mexico. Bot. Museum Leaflets, Cambridge, Massachusetts. Vol. 13, No. 7. 153-191 pp.

- Hollis, J.P. 1948. Oxygen and carbon dioxide relations of *Fusarium oxysporum* Schlecht and *Fusarium eumartii* Carp. Phytopathology. 38:761-775.

- Huitson, J.J. 1968. Cereals preservation with propionic acid. Proc. Biochem. 3:31-32.

- Hull, R. 1939. Study of *Byssochlamys fulva* and control measures in processed fruits. Ann. Appl. Biol. 26:800-822.

- Hyde, M.B. y T.A. Oxley. 1960. Experiments on the airlight storage of damp grain. 1. Introduction, effect on the grain and the intergranular atmosphere. Ann. Appl. Biol. 48:687-710.

- Jay, E.G., and Perman, G.C., Jr. 1973. Carbon dioxide for control of an insect infestation in stored corn (maize). J. Stored Prod. Res. 9:25-29.

- Jay, E.G., 1980. Methods of applying carbon dioxide for insect controlling stored grain. U.S. Department of Agriculture Science and Education Administration, Advances in Agricultural Technology, Southern Series, No. 13, 7 pp.

- Joffe, A.Z. 1965. Toxin production by cereal fungi causing toxic elementary leukemia in man. In: Wogan, G.N. (Ed) Mycotoxins in Foodstuffs. Mass. Inst. Tech. Press, Cambridge.

- Julien, J.B. and W.R. Phillips. 1963. Notes of the effect of CO₂ and O₂ mixtures on the growth of apple scab cultures. Can. J. Plant Sci. 43:227.

- Khaleel, A.A. 1976. The effect of modified atmospheres on the growth, sporulation and spore germination of selected storage and field *Penicillia* of corn kernels. Master of Science. Thesis 116 pp.

- Lillehoj, E.B., M.S. Millburn and A.-Ciegler, 1972. Control of *Penicillium martensii* development and penicillic acid production by atmospheric gases and temperatures. Appl. Microbiol. 24:198-201.

- Littlefield, N.A., B.N. Wankier, D.K. Salunkhe and J.N. Mc Gill. 1966. Fungistatic effects of controlled atmospheres. *Appl. Microbiol.* 14:579-581.

- Little, M.T. y F. Jackson. 1976. *Métodos Estadísticos para la Investigación en Agricultura*. Trillas. México. 269 pp.

- Macauley, B.J. and D.M. Griffin. 1965. Effects of carbon dioxide and oxygen on the activity of some soil fungi. *Brit. Mycol. Soc. Trans.* 53:53-62.

- Mislivec, P.E. and J. Tuite. 1970. Temperature and relative humidity requirements of species of penicillium isolated from yellow dent corn kernels. *Mycology* 62: 75-88.

- Mitchell, D.J. and J.E. Mitchell. 1973. Oxygen and carbon dioxide effects on the growth and reproduction of *Aphanomyces euteiches* and certain other soil-borne plant pathogens. *Phytopathology* 63:1053-1059.

- Mitchell, D.J. and G.A. Zentmyer. 1971. Effects of oxygen and carbon dioxide tension on growth of several species of *Phytophthora*. *Phytopathology* 61:787-791.

- Mitsuda, H. and Yamamoto, A. 1980. Advances in grain storage in a CO₂ atmosphere in Japan. In "Controlled Atmosphere Storage of Grains" (ed. J. Snejbal). Elsevier, Amsterdam 235-245 pp.

- Moreno, M. E. y C. M. Christensen. 1970. Efecto de la humedad y hongos sobre la viabilidad de maíz almacenado. *Rev. Lat. Amer. Microbiol.* 12:115-121.

- Moreno, M.E. y Christensen, C.M. 1971. Differences among lines and varieties of maize susceptibility to damage by storage fungi. *Phytopathology*. 61:1498-1500.

- Moreno, M.E., Morones, R.R. y Gutiérrez, L.R. 1978. Diferencias entre líneas, cruzas simples y dobles de maíz en su susceptibilidad al daño por condiciones adversas de almacenamiento. *Turriaba*. Vol. 8:3, 233-237.

- Moreno, M.E. 1980. Combate de los hongos de granos almacenados. *Memorias del Coloquio Internacional sobre Conservación de Semillas y Granos Almacenados*. Instituto de Biología. UNAM, Oaxtepec, Mor. 412-439 pp.

- Moreno, M.E. y Vidal, G.G. 1981. Preserving the viability of stored maize seed with fungicides. *Plant disease* 65: 260-261.

- Moreno, M.E. y Ramírez, G.J. 1982. Efecto de fungicidas en el control de los hongos de almacén. Bol. Soc. Mex. Mic. 17:95-98.
- Moreno, M.E. y Ramírez, G.J. 1985. Protective effect of fungicides on corn seed stored with low and high moisture contents. Seed Sci. & Technol., 13:285-290.
- Moreno, M.E., Mandujano, L. Mendoza, M. and Valencia, G. 1985. Use of fungicides for corn seed viability preservation. Seed Sci. & Technol. 13: 235-241.
- Neal, D.C. and R.E. Wester. 1932. Effects of anaerobic conditions on the growth of the cotton-rot fungus *Phymatothricum omnivorum*. Phytopathology 22:917-920.
- Person, N.K. Jr. and Sorenson, J.W. Jr., 1973a. Use of gaseous nitrogen for controlling stored product insects in cereal grains. Cereal Chem. 47:679-686.
- Person, N.K. Jr. and Sorenson, J.W. Jr., 1973b. The effects of gaseous nitrogen on the emergence of immature stages of rice weevils (*Sitophilus oryzae* L.) in creal grains. Am. Technol. Agric., 22:541-549.
- Preston, A. and E. I. Mc Lennan. 1948. The use of dyes in culture media for distinguishing brown and white wood-rotting fungi. Am. Bot. 12:53-64.
- Qasem, S.A., y C.M. Christensen. 1958. Influence of moisture content, temperature, and time on the deterioration of stored corn by fungi. Phytopathology 48:544-549.
- Sánchez, D.F., E. Moreno y M. Zenteno. 1971. Estudio sobre el almacenamiento de la semilla de soya de la variedad trópica. Bol. Soc. Mex. Mic. 5:47-55.
- Sauer, D.B., R. Burroughs, 1974. Efficacy of various chemicals as grain mold inhibitors. Trans ASAE. 17:557-559.
- Shejbal, J., Tonolo, A; Careri, g. 1973. Conservation of wheat in silos under nitrogen. Am. Technol. Agric. 22:773-785.
- Sigout, F. 1980. Significance of underground storage in traditional systems of grain production. In "Controlled Atmosphere Storage of Grains". (ed. J. Shejbal). Elsevier, Amsterdam. 3-13 pp.

- Smalley, E. B. W.F. O. Marasas, F.M. Strong, J. R. Bamberg, R.E. Nichols y N. R. Kosuri, 1970. Mycotoxicosis associated with moldy corn. In: Toxic-micro-organisms: mycotoxins-botulism. Proc. First U.S. Japan conf. on Toxic, micro-organisms. U.S. Japan cooperative Program in Natural Resources and U.S. Dep. of the Interior, Washington, D.C.
- Sommer, N.F., J. R. Buchanan and R.J. Fort lag. 1974. Production of patulin by *Penicillium expansum*. Appl. Microbiol. 26:589-593.
- Sotzky, G. and R.D. Goos. 1965. Effect of high carbon dioxide and low oxygen tensions on soil microbiota. Can. J. Microbiol. 11:853-868.
- Stover, R.H. and S. Freiberg. 1958. Effect of carbon dioxide on multiplication of *Fusarium* in soil. Nature 181:788-789.
- Storey, CH. 1980. Chemical and Nonchemical Control of Stored Product Insects. Memorias del Coloquio Internacional sobre Conservación de Semillas y Granos. (ed. M. Ramirez y J. Ramirez). Oaxetepec, Mor. 338-350 pp.
- Stoyanova, S. and Shikrenov D., 1976. Storage of cereals in an atmosphere with a high CO₂ concentration. Effect of 20% and 40% CO₂ on insect pests.
- Tuite, J.F. y C.M. Christensen, 1955. Grain Storage Studies XVI. Influence of storage conditions upon the fungus flora of barley seed. Cereal Chem. 32:1-11.
- Tuite, J.F., y C.M. Christensen. 1957: Grain Storage Studies 23: Time of invasion of wheat seed by various species of *Aspergillus* responsible for deterioration of stored grain, and source of inoculum of these fungi. Phytopathology 47:265-268.
- Tuite, J.F., 1961. Fungi isolated from unstored corn seed in Indiana in 1956-1958. Plant Dis Rep. 45:212-215.
- Tuite, J.F., C.G. Haugh, G.W. Isaacs and C.C. Huxsoll. 1967. Growth and effect of molds on the storage of high moisture corn. ASAE Paper 66-415. Presented:Amherst, Mass, June 1966.
- United States Department of Agriculture (USDA) 1979. Grain Equipment Manual G R 946-6. Federal Grain Inspection Service, Standardization Division. Richard- Geabayer. A.F.B. Kansas City. Mo.

- Vakil, J.R., M.R. Rao, and P.K. Bhattacharyya. 1961. Effect of CO_2 on the germination of conidiospores of *Aspergillus niger*. Arch^{Microbiol} 39: 53-57.

- Wells, J.M. and D.H. Spalding. 1975. Simulation of *Geotrichum candidum* by low oxygen and high carbon dioxide atmosphere. *Phytopathology* 65:1299-1302.

- Wells, J.M. and M. Vata. 1970. Germination and growth of five fungi in low oxygen and high carbon dioxide atmospheres. *Phytopathology* 60:50-53.

- Zakladnoi, G.A., 1976. Regulation of the gas composition of the atmosphere for eliminating insects in grain. USSR. Ministry of Prouvemente, Moscow, 3 pp (In Russian).