

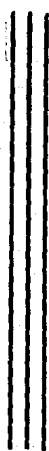
2 e; 77



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

**INHIBIDORES QUIMICOS EN LA
CONSERVACION DE LA VIABILIDAD
DEL MAIZ ALMACENADO**



T E S I S

Que para obtener el título de:

B I O L O G O

P r e s e n t a :

María del Rocío Fragoso Wade



México, D. F.

1989

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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	1
MATERIALES Y METODOS	21
RESULTADOS Y DISCUSION	26
CONCLUSIONES	39
BIBLIOGRAFIA	41

INTRODUCCION

Con el descubrimiento de la agricultura se inicia una etapa que cambia radicalmente la existencia de la humanidad. es entonces cuando el hombre deja de depender exclusivamente de la caza y de la recolección y se establece de manera permanente en diversas regiones para poder llevar a cabo la actividad de la siembra, creando con ello toda una cultura alrededor del grano que se vincula indisolublemente a los sentimientos y creencias religiosas más profundas.

El maíz es un alimento básico en muchas partes del mundo, especialmente en América, la presencia de este cereal ha sido tan importante que a las culturas que florecieron en México se les ha identificado como "Culturas del Maíz". El maíz (Zea mays L.) es el único cereal importante originario de América, estudios recientes sugieren que el ancestro silvestre del maíz en la actualidad se ha extinguido, pero persistió en México y Perú cuando menos hasta hace 7000 años. El maíz cultivado puede remontarse a unos 2000 años A. C. evidencia de esto fue el hallazgo de carozos (olotes) en la cueva llamada Bat Cave, en Nuevo México (Cronquist, 1981).

El maíz es una planta herbácea que pertenece a la familia de las gramíneas, tiene flores reducidas esencialmente sin perianto. dispuestas en pequeñas espigas bracteadas llamadas espiguillas, es una planta monoica y sus flores femeninas y masculinas están dispuestas en diferentes inflorescencias en el mismo tallo. La forma, el tamaño, estructura y composición del grano están determinadas por su variedad genética (Sánchez, 1980).

Botánicamente una semilla se define como un óvulo maduro, conteniendo el em brión y algunas veces acompañado del endospermo. En términos agronómicos y comerciales una semilla es toda clase de granos, frutos y estructuras complejas que se utilizan en las siembras agrícolas (Font Quer, 1973),

El maíz se cultiva en casi todo el territorio mexicano, sobresaliendo los estados de Chiapas, Jalisco, México, Michoacán, Oaxaca, Puebla, Tamaulipas, Veracruz y Zacatecas como los de mayor producción, siendo posible cultivarlo en todos los tipos de climas salvo en altitudes superiores a los 3200 m figura 1. Hoy en día es la especie cultivada que mayor profusión e importancia tiene en nuestro país y es el alimento básico de la población (Rzedowski, 1983). La producción nacional en el año agrícola de 1987 se muestra en la tabla 1 y la producción probable del cultivo del maíz en los estados mencionados, para el ciclo de 1988 son presentados en la tabla 2.

La mitad del maíz que se produce en México se destina a la alimentación del ganado, ya sea en el consumo verde, ensilado o en la elaboración de piensos y harinas. En la alimentación humana, el maíz se ingiere en forma de harina para sopas y purés, maicena o almidón de maíz, aceite y jarabe de maíz y en la elaboración del nixtamal para las tortillas y tamales. También el maíz es utilizado como simiente que asegure la producción de futuras cosechas (Pronase, 1982).

Dada la gran importancia que el maíz ha tenido en la alimentación del pueblo, es innegable que este cereal está ligado en forma histórica, económica y política a México.

T A B L A 1

SUPERFICIE Y PRODUCCION DE LAS COSECHAS EN LAS UNIDADES DE

RIEGO PARA EL DESARROLLO RURAL

AÑO AGRICOLA

1 9 8 7

CULTIVO	SUPERFICIE (Ha)		PRODUCCION Ton
	Sembrada	Cosechada	
MAIZ GRANO	8 294 031	6 801 159	11 606 928
SORGO GRANO	2 056 125	1 853 000	6 298 011
TRIGO	1 040 850	988 097	4 415 391
FRIJOL	2 323 236	1 787 304	1 023 575
CEBADA GRANO	324 232	286 061	616 688
ARROZ PALAY	184 569	154 814	591 099
TOTAL	14 223 043	11 870 435	24 551 692

Fuente: Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, 1988.

FIGURA 1

PRODUCCION DE MAIZ EN LAS PRINCIPALES
ENTIDADES DE LA REPUBLICA MEXICANA

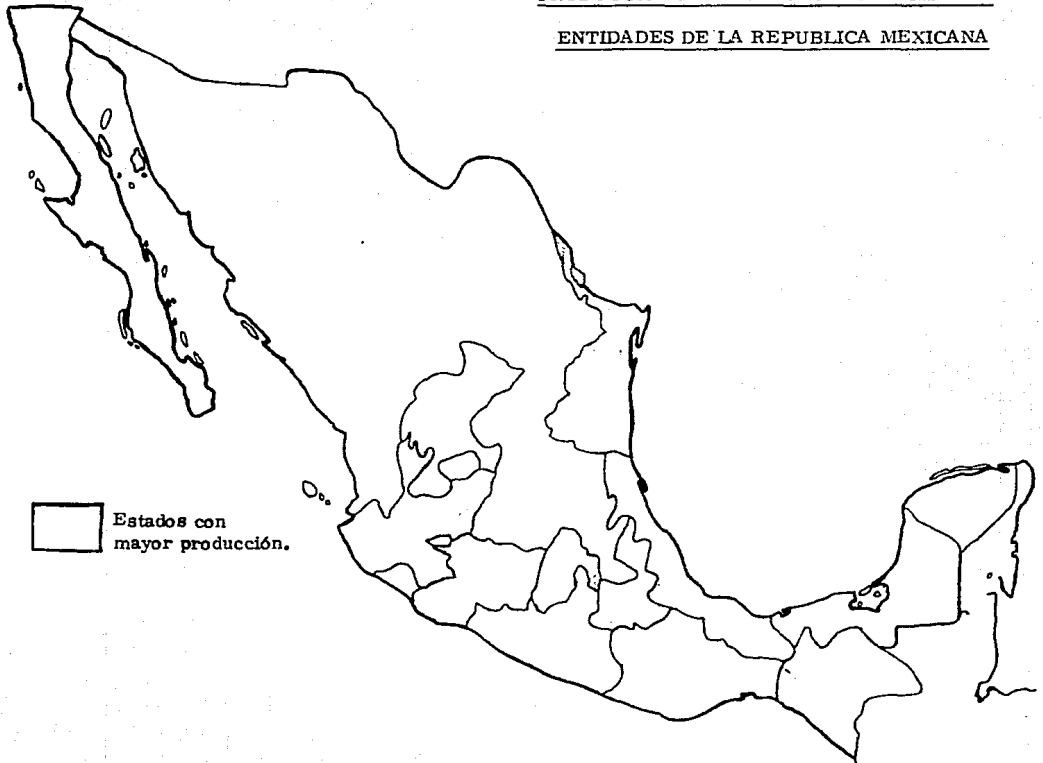
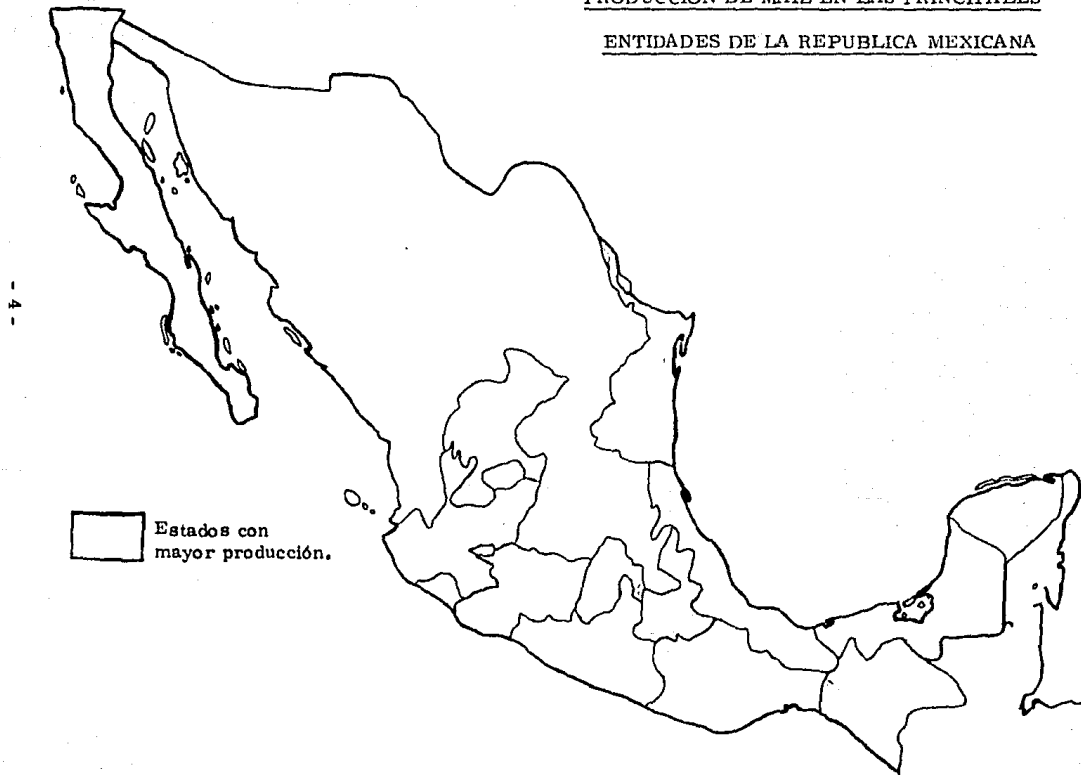


FIGURA 1

PRODUCCION DE MAIZ EN LAS PRINCIPALES
ENTIDADES DE LA REPUBLICA MEXICANA



T A B L A 2

PRODUCCION PROBABLE DEL CULTIVO DE MAIZ EN LOS PRINCIPALESESTADOS PARA EL AÑO AGRICOLA 1988

ENTIDAD	PROGRAMADA		SEMBRADA	
	SUP. Ha.	PROD. Tn.	SUP. Ha.	PROD. Tn.
JALISCO	754, 613	1, 981, 988	736, 309	1, 763, 380
EDO. DE MEXICO	705, 311	1, 963, 050	690, 242	1, 178, 336
CHIAPAS	709, 321	1, 505, 527	748, 351	1, 709, 378
MICHOACAN	519, 458	994 099	523, 554	1, 102, 019
PUEBLA	630, 033	952, 154	625, 104	874 863
VERACRUZ	559, 724	836, 365	544, 077	824, 043
TAMAULIPAS	338, 954	802, 128	273, 873	902, 593
OAXACA	477, 845	564, 181	493, 636	589, 601
ZACATECAS	442, 463	340, 302	418, 254	359, 890
TOTAL	5, 137, 722	9 939, 794	4.753, 403	9 304, 103

Fuente: Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Planeación, 1988.

Aunado al cultivo del maíz y del gran provecho que nuestros ancestros obtuvieron llegó también la preocupación por conservar los granos, preciado tesoro y simiente de nuevos cultivos.

Son los mayas los primeros ingenieros y genetistas que seleccionan la semilla de maíz y la reproducen para luego repartirla entre el pueblo que la siembra y vive de ella. Los aztecas almacenaban su grano en grandes recipientes de barro y piedra, enormes obras de alfarería en las que depositaban el maíz subiendo por una escalinata de madera (O'Kelly y Forster, 1983).

Esta preocupación por almacenar el grano adecuadamente ha continuado hasta nuestros días, y es por ello que el hombre siempre ha sostenido una lucha constante con los insectos, roedores, pájaros y hongos para evitar que dañen los granos que van a servirle como alimento.

Una adecuada infraestructura para el almacenamiento de los granos y semillas debe reunir ciertas características, como son una limpieza óptima, sistemas de aireación y control de plagas. En cuanto al grano que se va a almacenar se debe supervisar los programas de secado e integridad física del mismo.

Durante el almacenamiento de granos y semillas intervienen factores tanto físicos (temperatura y humedad) como bióticos (bacterias, hongos, roedores e insectos),

Dentro de los factores arriba mencionados, son la humedad relativa y la temperatura los de mayor importancia por el papel que juegan en los procesos de almacenamiento, conservación y manejo de los granos. La humedad relativa es

un factor que determina la longevidad de las semillas en el almacenamiento y contribuye directamente en el desarrollo y producción tanto de hongos de almacén como de insectos, además de determinar el contenido de humedad de la semilla (Delouche, et al. 1973).

En la actualidad los avances en las técnicas de almacenamiento de granos nos indican que éstos deben ir directamente relacionados con los diferentes tipos de climas imperantes en nuestro país, siendo el factor de humedad uno de los más importantes, ya que en regiones cálido-húmedas los granos secos almacenados ganan rápidamente humedad, afectando la viabilidad del grano y proliferando el desarrollo de los insectos y hongos de almacén. Por el contrario, en regiones templadas y secas el factor de humedad es bajo, logrando la conservación de las semillas durante un período más prolongado, viéndose menos afectados por los factores antes mencionados.

Las temperaturas que necesitan los hongos de almacén para su desarrollo se presentan en la tabla 3.

En cuanto a los factores bióticos, son los hongos los que cobran mayor importancia para nuestro estudio por ser en gran medida los causantes del deterioro de estos productos agrícolas, ya que durante el desarrollo de la semilla en el campo ésta se encuentra expuesta a su ataque.

Los hongos que invaden a los granos y semillas están divididos en dos grandes grupos: " hongos de campo " y " hongos de almacén o de granos almacenados", con relación al sitio donde se efectúa la invasión de los granos y semillas, sufriendo estos últimos pérdida en su viabilidad así como en su calidad nutritiva.

T A B L A 3

TEMPERATURA (°C) MINIMAS, OPTIMAS Y MAXIMAS QUE
PERMITEN EL DESARROLLO DE LOS HONGOS DE ALMACEN

HONGO	TEMPERATURA PARA SU CRECIMIENTO		
	MINIMA	OPTIMA	MAXIMA
<u>Aspergillus glaucus</u>	0 - 5	30 - 35	40 - 45
<u>A. candidus</u>	10 - 15	40 - 45	50 - 55
<u>A. flavus</u>	10 - 15	40 - 45	45 - 50
<u>A. restrictus</u>	5 - 10	10 - 35	40 - 45
<u>Penicillium spp</u>	5 - 10	20 - 25	35 - 40

Fuente: Christensen y Kaufmann, 1976.

va y sanitaria.

Los hongos de campo son aquellos que atacan e invaden a la semilla durante su formación en las plantas o bien cuando éstas permanecen en el campo antes de ser cosechadas. Para que el hongo pueda invadir a la semilla requiere que ésta tenga un contenido de humedad del 25% al 30%, con base en el peso húmedo, por lo que normalmente detienen su desarrollo cuando las semillas alcanzan su madurez fisiológica, ya que en ese momento éstas pierden humedad lo que favorece el desarrollo de los hongos de almacén (Christensen y Kaufmann, 1976).

La variedad de hongos de campo presentes en las semillas es elevada, siendo las especies más comunes y de importancia los géneros Alternaria, Fusarium, Helminthosporium y Cladosporium. Christensen y Kaufmann, 1976 han comprobado que ciertas especies de hongos de campo, entre ellos Fusarium y Helminthosporium ocasionan la muerte del embrión afectando la viabilidad de la semilla y provocando graves enfermedades a las plantas.

Se conoce como hongos de almacén a los hongos que invaden a los granos y semillas después de la cosecha, es decir, que los productos agrícolas son contaminados por hongos estando ya almacenados en graneros o silos, debido a que encuentran las condiciones favorables para su desarrollo, además de que sus esporas permanecen viables probablemente por períodos prolongados de tiempo (Christensen y Kaufmann, 1976).

Entre los hongos de almacén más frecuentes en granos y semillas están los géneros Aspergillus y Penicillium, éstos se caracterizan por su capacidad para desarrollarse en granos y semillas que tienen contenido de humedad bajo,

en equilibrio con humedades relativas del 70% al 90%, además de tener la habilidad de crecer en casi todos los tipos de sustratos y tener una amplia distribución (Christensen y Kaufmann, 1974; Christensen y Sauer, 1982).

Las humedades relativas que necesitan los hongos de almacén para su desarrollo se presentan en la tabla 4.

Se ha estudiado ampliamente al género Aspergillus y se sabe que está compuesto por varios grupos, los más comunes en granos y semillas almacenados son: A. restrictus; A. glaucus; A. candidus; A. versicolor; A. ochraceus y A. flavus.

Cada grupo está formado por diferentes especies, pero relacionadas entre sí por sus características morfológicas y ecológicas.

Aspergillus glaucus es el grupo que afecta con mayor frecuencia a granos y semillas, esto se debe a que las especies que lo forman pueden desarrollarse en contenidos de humedad del orden del 12.5% al 13.0% en oleaginosas y del 14.0% al 15.0% en cereales (Christensen y Kaufmann, 1974).

En cuanto al género Penicillium se han reconocido más de 60 especies que afectan a los granos (Wallace, 1973).

DAÑOS PRODUCIDOS POR LOS HONGOS DE ALMACEN Y SU CONTROL,

Durante el almacenamiento de los granos y semillas se producen diferentes tipos de daños, afectando su calidad; entre los principales daños se encuentran la pérdida de viabilidad de las semillas, ennegrecimiento o manchado de los granos, calentamiento, producción de micotoxinas, enmohecimiento

T A B L A 4

HUMEDADES RELATIVAS MINIMAS QUE
NECESITAN LOS HONGOS DE ALMACEN
PARA SU DESARROLLO

HONGO	HUMEDAD RELATIVA MINIMA (%)
<u>Aspergillus halophilicus</u>	68
<u>A. restrictus</u>	70
<u>A. glaucus</u>	73
<u>A. candidus</u>	80
<u>A. flavus</u>	85
<u>Penicillium spp</u>	85 - 90

Fuente: Christensen y Kaufmann, 1976.

y compactación, ocasionando todo ello incluso la pérdida total de los granos (Moreno y Christensen. 1970; Christensen y Kaufmann, 1974).

La pérdida del poder germinativo en las semillas ha sido objeto de especial estudio por parte de fitopatólogos, ya que anteriormente se pensaba que esta pérdida, era debida a la acción de los procesos fisiológicos en las semillas. Actualmente, por medio de diferentes técnicas se ha demostrado que son los hongos los que juegan un papel importante como causantes del deterioro de los granos (Moreno y Christensen, 1970; Christensen y Kaufmann, 1976; Sauer y Christensen, 1978).

El ennegrecimiento y manchado de los granos y semillas aparece debido a la acción de los hongos de almacén, provocando una pérdida en su calidad . Dentro del género Aspergillus las especies de A. candidus y A. flavus son capaces de elevar la temperatura de los granos y semillas hasta 50-55° C , cuando en la etapa de almacenamiento encuentran las condiciones favorables para su desarrollo. este calentamiento provoca el aumento en la humedad del grano, originando la aparición de bacterias termófilas que elevan aún más la temperatura, hasta llegar a los 70-75°C para después desencadenar reacciones químicas que continúan elevando la temperatura del grano; si este proceso persistiera, el grano llegaría a su combustión espontánea (Christensen y Kaufmann, 1976).

Los granos y semillas almacenados se pueden encontrar expuestos a la contaminación por las substancias tóxicas llamadas micotoxinas, siendo estos metabolitos secundarios producidos por los hongos y depositados en granos y se

millas. Los hongos que producen esta substancia son algunas cepas de Aspergillus flavus; A. ochraceus; A. versicolor y Penicillium urticae entre otros. Las especies A. flavus y A. parasiticus producen las micotoxinas llamadas aflatoxinas que son potentes substancias carcinógenas por lo que su desarrollo en granos y semillas conlleva un serio problema de sanidad (Stoloff, 1976; Hesseltine, 1976).

El control y combate de los hongos de almacén es esencial en el proceso de la conservación de los granos y semillas. La manera más segura de prevenir el desarrollo de éstos es almacenar los granos bajo condiciones de humedad y temperatura desfavorables para dichos hongos, pero esto no es fácil en regiones tropicales o subtropicales por motivos técnicos y económicos y es por ello que se están investigando nuevas alternativas de control.

Entre los métodos de investigación en almacenamiento se encuentran el almacenamiento hermético, almacenamiento en atmósferas controladas, la resistencia genética y el control químico (Moreno, 1984). Evidentemente esta última alternativa ha tenido una gran aceptación en años recientes, el aumento de productos químicos en el mercado ha impulsado a realizar trabajos de investigación, con el fin de determinar técnicas operacionales y las condiciones bajo las cuales el almacenamiento de los granos y semillas con alto contenido de humedad sea económicamente posible.

El empleo de productos químicos para controlar el ataque de hongos a granos destinados a la alimentación humana, no ha tenido éxito, ya que los productos utilizados tienen efectos tóxicos.

Los conservadores de granos y semillas más utilizados son los ácidos propiónico, acético y fórmico, empleados principalmente para preservar granos con alto contenido de humedad. Estos al ser aplicados al grano provocan la muerte del hongo, reduce el pH del grano y destruye la viabilidad de la semilla, además de ser altamente corrosivos, dañando los silos metálicos y produciendo olores y sabores desagradables. El grano tratado con estos ácidos puede usarse sólo como alimento para consumo animal (Hall, et al.. 1974; Sauer y Burroughs. 1974).

Para que un inhibidor químico pueda ser útil en la conservación de los granos destinados para el consumo humano y de animales domésticos, deberá tener varias características (Sauer y Burroughs, 1974);

- a) Prevenir la putrefacción y deterioro del grano durante su almacenamiento.
- b) Debe ser efectivo dentro de rangos amplios de humedad y temperatura.
- c) No deberá producir problemas de toxicidad o sabor desagradable.
- d) Su costo deberá ser lo más bajo posible, para asegurar que su empleo sea lo más práctico.
- e) Que sea fácil y seguro y que requiera un mínimo de equipo especial para su aplicación y almacenamiento.

El uso de ácidos orgánicos para inhibir el desarrollo de hongos en el almacén es limitado, ya que muchos de los inhibidores empleados requieren de suficiente

te agua libre para su funcionamiento, lo cual no es posible bajo las condiciones normales de almacenamiento (Moreno y Christensen, 1970).

Respecto al uso de inhibidores químicos, existen investigaciones de diversos autores que muestran resultados satisfactorios en algunos casos sobre la efectividad de dichos productos. A continuación se mencionan algunos de los trabajos que destacan el uso de diversos productos químicos utilizados como inhibidores de hongos en granos y semillas almacenados. En primer lugar tenemos a Deyoe, Rao y Knake (1973) quienes encontraron que en semillas de maíz y sorgo con contenidos de humedad del 20-30%, tratadas con ácidos propiónico, acético, sórbico, sales de ácido propiónico y mezclas de éstos con otros ácidos, pueden mantenerse en buenas condiciones libres de hongos por periodos de seis a ocho meses. También observaron la pérdida total de germinación a los 30 días de ser aplicada a las semillas una dosis de ácido propiónico y propionato de sodio al 1% y ácido sórbico al 0.1%.

Song (1973) evaluó la efectividad de los productos químicos ácido propiónico y ácido fórmico como inhibidores de hongos en granos con alto contenido de humedad, empleando como criterio de evaluación el incremento en la temperatura. Observó que la temperatura de los granos con 0.3% de ácido propiónico permaneció estable durante dos semanas al igual que los granos que tenían 1% de ácido fórmico. Los granos tratados con 0.6% de ácido propiónico mantuvieron constante la temperatura, durante más de 18 semanas; además, observó un acelerado incremento en la temperatura de los granos no tratados.

Fusarium, Aspergillus y Penicillium fueron básicamente los géneros encon-

trados en las muestras donde se incrementó la temperatura.

En un estudio realizado en Inglaterra, Drysdale (1973) destaca la importancia que ha tenido en los últimos años. el empleo del ácido propiónico en la preservación del grano almacenado en las granjas para la alimentación del ganado.

Menciona las ventajas que se obtienen de este tratamiento como son: un almacenamiento sencillo, ausencia de tóxicas y de hongos y su valor nutricional. Sin embargo. este sistema desde su introducción en 1968, ha tenido una lenta aceptación en parte por la complejidad que surge de la necesidad de contar con un aplicador y del producto mismo, el investigador predice que la proporción de grano tratado con ácido propiónico aumentará en el futuro.

Sauer y Burroughs (1974). mediante el uso de varios ácidos orgánicos y mezclas de estos en semillas de maíz y sorgo, con un contenido de humedad del 18-24%, demostraron que el ácido propiónico fue el más efectivo y estable como inhibidor de hongos, siguiendo en orden. los ácidos isobutírico, acético y fórmico; mientras que las sales de ácidos fueron menos efectivas. Por otra parte los autores encontraron que ácido sórbico tuvo una alta actividad inhibidora cuando se aplicó en solución, no resultando así cuando se aplicó como polvo seco.

Posteriormente Sauer, et al. (1975) citan pruebas de la eficacia del metileno bis propanato que tuvo un comportamiento igual o ligeramente mejor que el ácido propiónico como preservadores de granos. Estos fueron aplicados a semillas de maíz y sorgo con contenidos de humedad de 23% y 29%; encontrando que en el contenido de humedad del 23% permanecieron libres de hongos hasta

por ocho meses, con una tasa de aplicación del 0,9%, mientras que el maíz con 29% de humedad y la misma tasa de aplicación, no se protegió más de ocho meses.

En otro estudio, Lappe (1977) realizó un trabajo con semillas de maíz y triticale tratadas con tecto-60 y almacenadas en una humedad relativa de 97%, de mostrando que el desarrollo de los hongos fue inhibido por el tecto-60, no así con el propianato de sodio y el conservex. Así mismo el triticale fue también almacenado en una humedad relativa de 85% encontrándose que el propianato de sodio y el conservex a los 30 días de su aplicación, sí tenía efecto protector , reduciéndose su actividad a los 60 días. Además observó que las diferentes dosis empleadas de los fungicidas no alteraron de manera importante la viabilidad de las semillas.

En 1979, Heredia trabajó con semillas de sorgo tratadas con diferentes dosis de thiabendazole y almacenadas en humedades relativas de 75%, 80% y 85%, observando que la semilla se vió afectada en su viabilidad en todas las humedades relativas de almacenamiento. Además se encontró que el thiabendazole inhibió el desarrollo de hongos cuando la semilla fue almacenada en humedades relativas de 75 y 80%; sin embargo, en 85% de humedad relativa el género Aspergillus versicolor no fue inhibido por ninguna de las dosis utilizadas.

Por otra parte Moreno y Vidal (1981) trataron con diferentes fungicidas (Benomyl, Captan, Captafol, Chlorothalonil, Carbendazín plus maneb, Dichlofluanid y Thiabendazole) semilla de maíz y las almacenaron en una humedad relativa de 85% a 26-27°C durante 102 días, las semillas tratadas mantuvieron su

poder germinativo entre 82 y 93% mientras que la semilla de trigo presentó 14%.

En un estudio realizado por Ramírez y Moreno (1982) evaluaron la efectividad de dos productos químicos (Benomyl y Captan) como inhibidores de hongos en granos y semillas. estos fungicidas fueron aplicados en seco y en húmedo a semillas de maíz almacenadas en una humedad relativa de 85% a 27°C durante 180 días.

El fungicida Benomyl aplicado en polvo fue el inhibidor de hongos que mejor protegió a la semilla. ya que la germinación a los 120 días fue de 64% mientras que en la semilla tratada en húmedo, su germinación fue de 53%. Sin embargo, con el fungicida Captan no hubo diferencia entre los métodos de aplicación, ya que los porcentajes de germinación resultaron no ser significativamente diferentes.

En otro estudio Moreno et al. (1985) realizaron dos experimentos con el fin de evaluar el efecto de diferentes aplicaciones de fungicidas sobre la viabilidad de las semillas de maíz almacenadas. En el primer experimento utilizaron semilla híbrida H-412 ajustada a 16.0% de contenido de humedad y tratada con los fungicidas Captan, Benomyl, Captafol, Carbendazín-maneb, Chlorothalonil y Thiabendazole con una tasa de aplicación de 750 y 1125 ppm de ingrediente activo. En el segundo experimento, la semilla utilizada fue VS-524 ajustada a 12.5% de contenido de humedad. se trataron con los mismos fungicidas pero su tasa de aplicación fue de 125 y 750 ppm. Ambos experimentos se realizaron en 85% de humedad relativa y 26°C. En el análisis estadístico de los

dos experimentos no hubo diferencias significativas entre las tasas de aplicación, pero sí hubo diferencias entre los tratamientos. Las semillas no tratadas tuvieron germinaciones menores que las tratadas. Con relación a la micoflora, las semillas no tratadas fueron altamente invadidas por hongos de almacén, a diferencia de las semillas tratadas con fungicida. La invasión por hongos tuvo un efecto claramente nocivo sobre la viabilidad de las semillas.

Recientemente Venegas (1988) evaluó el efecto de diferentes dosis de los fungicidas Lucta-mold; Luprosil-sal; Mold-curb; Myco-curb; Myco-stat y Ram - mold sobre la viabilidad de la semilla de sorgo almacenada en humedades relativas de 75% y 85%, encontrando que en la humedad relativa de 75% ninguno de los tratamientos conservó la viabilidad de la semilla por un período mayor de 120 días. Comprobó además que el fungicida myco-curb fue el único que inhibió el desarrollo de los hongos siguiendo en orden luprosil-sal que a los 60 - días también tuvo un efecto inhibitorio. Por otra parte, en la humedad relativa de 85% encontró que a los 60 y 90 días el fungicida luprosil-sal mantuvo la germinación de la semilla arriba del 75% en todas las dosis probadas y además inhibió completamente el desarrollo de los hongos. Es importante mencionar que los fungicidas lucta-mold; mold-curb y myco-curb tuvieron un efecto fitotóxico para la semilla.

Posteriormente Alemán (1988) evaluó la efectividad de varios productos químicos: Lucta-mold; Luprosil-sal; Myco-curb; Myco-stat y Ram-mold como inhibidores de hongos en la preservación de alimento balanceado en una humedad relativa de 85% a 26° C. Para ello realizó una prueba de almacenamiento cuya

variable respuesta fue el número de propágulos por gramo de alimento evaluado por medio del método de diluciones seriadas, así mismo, utilizo las técnicas in vitro de inhibición del crecimiento radial y germinación de esporas con el fin de establecer rangos efectivos de dosis para cada inhibidor. Encontrando que el luprosil-sal fue el único producto químico capaz de inhibir moderadamente la población fúngica del alimento balanceado en la prueba de almacenamiento. En los ensayos in vitro encontró que myco-curb y myco-stat fueron los fungicidas más consistentes y efectivos, utilizando dosis mayores que las empleadas en la prueba práctica. Concluyó que el problema de los inhibidores químicos evaluados es una inadecuada incorporación del ingrediente activo al sustrato.

En virtud de las múltiples pérdidas de granos y semillas durante su almacenamiento, surge la necesidad de experimentar nuevos métodos que ofrezcan mejores alternativas en el aspecto técnico y económico para la conservación del grano.

Por ello el presente trabajo tiene como objetivo principal probar la acción protectora de seis inhibidores químicos en la pérdida de viabilidad de la semilla de maíz almacenada en una humedad relativa de 85% a 26°C, condiciones éstas que favorecen el desarrollo de los hongos de almacén.

MATERIALES Y METODOS

Semilla de maíz.

El maíz utilizado en este trabajo fue de la variedad V-525, proveniente de San Rafael, Veracruz; sembrado y cosechado en el ciclo primavera - verano de 1985.

Para determinar el estado general de la semilla se hicieron pruebas iniciales, que consistieron en la determinación del contenido de humedad, del porcentaje de germinación y micoflora. Posteriormente se procedió a su almacenamiento.

Contenido de humedad.

El contenido de humedad fue determinado por el método de secado en estufa a 103°C que consistió en pesar de 4 a 5 g de semilla en cajas de aluminio, previamente limpias y pesadas. Terminado lo anterior se prosiguió a colocar las cajas de aluminio en la estufa ya calibrada a 103 ± 2°C durante un período de 72 horas (tiempo recomendado para el maíz por la American Association of Cereal Chemists, 1969). Al término de este período, las cajas se taparon y fueron colocadas en un desecador por un espacio de 30 a 40 minutos, con el fin de que las cajas se enfriaran y pudieran ser pesadas sin ganar humedad. El contenido de humedad fue calculado por diferencia de peso, basándose en el peso húmedo de la muestra mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ C. H. } = \frac{A}{PH} \times 100$$

en donde

% C.H. = Contenido de humedad %,

A = Pérdida de agua en gramos.

PH = Peso original húmedo de la muestra.

Germinación.

La prueba de germinación se llevó a cabo colocando 100 semillas de maíz entre toallas húmedas de papel absorbente las cuales se enrollaron e incubaron a 26°C; al cuarto y séptimo día se realizó el registro del porcentaje de germinación, como especifica la International Seed Testing Association (ISTA, 1976).

En la prueba inicial se utilizaron 400 semillas y en el experimento se utilizaron 100 semillas de cada repetición en cada uno de los muestreos.

Micoflora.

La prueba de micoflora consiste en la determinación del número y clases de hongos presentes en el interior de la semilla. Como primer paso las semillas se desinfectaron superficialmente con una solución de hipoclorito de sodio al 2%, agitándose durante un minuto y medio antes de ser sembradas, posteriormente las semillas fueron colocadas en cajas de Petri, conteniendo el medio de cultivo Malta Sal Agar (MSA): 2% extracto de malta, 6% cloruro de sodio y 2% agar; este es un medio selectivo para los hongos de almacén, por su alto contenido de cloruro de sodio convirtiéndolo en un medio hipertónico (Christensen y Kaufmann, 1976).

Fueron sembradas veinticinco semillas por repetición de cada tratamiento, todo lo anterior fue realizado dentro de una campana estéril.

El periodo de incubación fue de 5 a 7 días a una temperatura de 26°C, para luego proceder a contar el número de semillas invadidas por hongos y a la identificación de los mismos hasta nivel de especie siguiendo la clave de Raper y Fennel (1965).

Inhibidores y dosis.

Fueron utilizados seis inhibidores en el experimento, aplicados estos a la semilla por el método en húmedo (Slurry) que consiste en colocar en un matríz Erlenmeyer de 1000 ml los 300 g de semilla más el inhibidor y 2.1 ml de agua destilada. agitando hasta lograr una aplicación homogénea en todas las semillas (Neergard 1979) : la dosificación empleada fue la recomendada por las casas productoras (tabla 5). Cada inhibidor utilizado presenta las siguientes características:

LUCTA-MOLD.- Constituido por mezcla de ácidos orgánicos, polioles y sus productos de reacción en proporción sinérgica. Es un polvo fluido, ligero e impalpable. Insoluble en agua y no higroscópico, no tiene olor picante y es un inhibidor de amplio espectro.

LUPROSIL-SAL.- Compuesto de propianato de calcio. Es un polvo fino y blanco y presenta amplio espectro de actividad.

MOLD-CURB.- Compuesto por ácido acético, ácido propiónico, ácido fórmico. cloro, benzoato de sodio. cascarilla de arroz y aceite de trigo como vehículo. Presenta un color canela y un olor ligeramente picante, es soluble en agua.

MYCO-CURB.- Constituido por ácido propiónico, ácido acético, ácido sórbico, ácido benzoico, fosfato de amonio hidratado, hidroxianisol butilado mono - di - esteres de 1, 2 - propanediol, benzoato de propil y acetato de propil. Es un líquido de color rojizo y su olor es floral o frutal.

MYCO-STAT.- Acido sórbico 150 g y vehículo c.b.p. en 1000 g.

RAM-MOLD.- Mezcla de ácidos orgánicos y sus productos de reacción - (ácido propiónico, ácido benzoico, etc.) 20 % y excipientes 80 %.

Finalmente se realizaron seis tratamientos experimentales, además del tratamiento testigo al que, por supuesto, no se le aplicó ningún inhibidor.

T A B L A 5

DOSIS DE APLICACION DE LOS INHIBIDORES EN LA SEMILLA DE MAIZ

TRATAMIENTOS	GRAMOS POR 300 GRAMOS DE MUESTRA
LUCTA-MOLD	0.3
LUPROSIL-SAL	2.1
MOLD-CURB	0.3
MYCO-CURB	0.45*
MYCO-STAT	0.15
RAM-MOLD	0.9
TESTIGO	0.0

* La presentación de este inhibidor es en forma líquida y su aplicación fue en ml.

Almacenamiento de la semilla.

El diseño experimental utilizado en este trabajo fue el de Parcelas Divididas con cuatro repeticiones (Little y Hills, 1985; Reyes, 1981). Una vez realizadas las pruebas iniciales se procedió a almacenar el maíz. la cantidad de semilla utilizada en este proceso fue de 8.4 kilogramos ordenándose en 28 unidades experimentales, de 300 g cada una, a las cuales se les asignó aleatoriamente tratamiento y repetición.

Una vez hecho el tratamiento, la semilla tratada fue almacenada, en recipientes de plástico con perforaciones, éstos a su vez fueron distribuidos al azar dentro de una cámara de humedad que contenía una solución saturada de cloruro de potasio (KCl) para mantener una humedad relativa de 85 % (Winston y Bates, 1960) y de esta forma mantener un contenido de humedad apropiado para el desarrollo de los hongos, así como también para la realización de los procesos fisiológicos normales de la semilla. Finalmente las cajas fueron selladas con el propósito de evitar la evaporación y colocadas en un cuarto de incubación a 26°C durante 90 días. Los muestreos se efectuaron a los 30, 60 y 90 días, determinando en cada uno de ellos el contenido de humedad, germinación y micoflora.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los datos iniciales de la semilla utilizada fueron los siguientes: 8.7% de contenido de humedad, 96% de germinación, sin presentar invasión por hongos de almacén (tabla 6).

El contenido de humedad de la semilla se mantuvo entre 14.6% y 15.2% durante todo el periodo de almacenamiento, siendo éste de 90 días (tabla 9, 11, 13).

El análisis de varianza de los datos de germinación durante todo el periodo de almacenamiento que fue de 90 días, mostró diferencias altamente significativas ($\alpha < 0.01$) entre tratamientos en el tiempo de almacenamiento y en la interacción tiempo x tratamientos (tabla 7) por lo que se procedió a realizar el análisis de varianza de los datos de germinación en cada uno de los tiempos de muestreos 30, 60 y 90 días.

El análisis de varianza de los datos de germinación a los 30 días de almacenamiento presentó diferencias significativas ($\alpha < 0.05$) entre tratamientos (tabla 8); por lo que se procedió a efectuar una prueba de rango múltiple de Duncan para el contraste de medias de los tratamientos (tabla 9). Esta prueba mostró que los tratamientos Testigo, Myco-stat, Myco-curb y Ram mold fueron estadísticamente iguales entre sí, observando que los niveles de germinación se mantuvieron entre 95% y 89% ; no se detectaron diferencias entre los tres últimos y los tratamientos Luprosil-sal y Mold-curb, siendo el nivel de germinación de estos dos últimos de 88%; sin embargo, si hubo dife

rencias de estos dos últimos con el tratamiento Testigo. Los tratamientos Testigo y Myco-stat fueron los únicos estadísticamente diferentes al tratamiento Lucta-mold presentando este último un porcentaje de germinación de 84%.

El porcentaje de invasión por hongos de almacén a los 30 días de almacenamiento, mostró que los tratamientos Myco-curb y Myco-stat inhibieron completamente el desarrollo de hongos. Los tratamientos Testigo, Lucta-mold, Mold-curb, Ram-mold y Luprosil-sal aunque no inhibieron completamente el desarrollo de Aspergillus glaucus el porcentaje de semillas invadidas fue muy por abajo de 3% a 10%; con los datos anteriores podemos inferir que la semilla era vigorosa por lo que su germinación se mantuvo arriba de los límites requeridos por el Sistema Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS); el uso de los inhibidores Myco-stat, Myco-curb y Ram-mold durante este tiempo, aparentemente es innecesario: ahora bien, los resultados sugieren que Mold-curb y Lucta-mold afectaron la viabilidad de la semilla de maíz ya que presentaron porcentajes de germinación estadísticamente menores al Testigo.

El análisis de varianza de los datos de germinación a los 60 días de almacenamiento, mostró diferencias altamente significativas (<0.01) entre tratamientos (tabla 10), por lo que se realizó una prueba de rango múltiple de Duncan para contrastar las medias de los tratamientos (tabla 11). Esta prueba mostró que todos los tratamientos a excepción de Luprosil-sal fueron estadísticamente iguales entre sí incluyendo al Testigo. El tratamiento Luprosil-sal presentó el promedio de germinación más alto de 89% mientras que los tratamien -

los Myco-stat, Ram-mold, Myco-curb, Testigo, Mold curb y Lucta-mold man tuvieron su porcentaje de germinación de 47% a 69%, muy por abajo de los niveles mínimos requeridos por SNICS para la certificación de semillas.

Respecto a la micoflora presente en la semilla de maíz a los 60 días de almacenamiento (tabla 11), se observó que únicamente el tratamiento Luprosil-sal presentó un porcentaje de invasión por hongos de almacén por abajo del 18%, no así los tratamientos Mold-curb, Myco-stat, Myco-curb, Ram-mold, - Lucta-mold y Testigo que presentaron una invasión por Aspergillus glaucus de 58% a 78%. Las semillas de los tratamientos Lucta-mold, Ram-mold y Myco - curb fueron las que mayor porcentaje de invasión por hongos presentaron con 75%, 74% y 73% respectivamente.

El análisis de varianza de los datos de germinación de la semilla alma cenada 90 días, mostró diferencias altamente significativas ($\alpha 0.01$) entre - tratamientos (tabla 12) por lo que se aplicó la prueba de rango múltiple de Duncan para el contraste de medias (tabla 13). Esta prueba mostró que el tra tamiento Luprosil-sal, que presentó el promedio de germinación más alto de 66%, fue superior a los restantes tratamientos Testigo, Myco-stat, Myco-curb, Lucta-mold; Ram-mold y Mold-curb; resultando todos estos tratamientos esta dísticamente iguales entre sí; sin embargo, el 66% de germinación del trata - miento Luprosil-sal que protegió más al grano representa un porcentaje muy bajo para poderlo considerar con una buena calidad.

A los 90 días de almacenamiento se observó un mayor porcentaje de se millas invadidas por hongos de almacén, de 30% a 98%. El tratamiento Lupro-

sil-sal presentó un porcentaje de invasión bajo, mientras que los tratamientos Testigo, Lucta-mold, Ram -mold, Mold-curb, Myco-curb y Myco-stat presentaron un desarrollo de hongos elevado de 75% a 98%.

Las semillas de maíz a través de todo el período de almacenamiento de 90 días, mostraron una considerable pérdida de germinación, la cual se debe seguramente a la presencia de los hongos invadiendo la semilla y a un posible efecto fitotóxico del inhibidor. La interacción existente entre estos dos factores con toda seguridad determinó la rapidez de la pérdida de la germinación de la semilla almacenada bajo estas condiciones.

Con relación a los inhibidores usados a excepción del tratamiento Luprosil-sal, se puede decir que bajo las condiciones experimentales de este trabajo, no tienen ningún efecto protector para evitar que la semilla pierda su poder germinativo.

Por otro lado, los resultados mostraron que la actividad del inhibidor Luprosil-sal es mejor que los otros inhibidores protegiendo y retardando la pérdida de germinación de la semilla durante los períodos de 30 y 60 días de almacenamiento, ya que a los 90 días su porcentaje de germinación se ve disminuido hasta una 66%, es decir, que a los 90 días este inhibidor ya no protege de igual forma la germinación de la semilla.

El porcentaje de invasión por hongos en las semillas tratadas con Luprosil-sal aumentó conforme transcurría el período de almacenamiento, esto puede deberse a dos causas; la primera es que el inhibidor controle parcialmente el desarrollo de los hongos de almacén y la segunda es que a medida -

que pasa el tiempo de almacenamiento el inhibidor sufre cierta degradación lo que permite el desarrollo de los hongos.

En general el tratamiento que presentó la mayor invasión por hongos de almacén es el Testigo, sin embargo, con respecto al porcentaje de germinación no es diferente estadísticamente del resto de los tratamientos a excepción del tratamiento Luprosil-sal. El comportamiento del tratamiento Testigo, en cuanto a la rápida pérdida de la germinación, pone de manifiesto la importancia de los hongos de almacén en el deterioro biológico de la semilla, aunado al efecto del contenido de humedad que juega un papel importante en la pérdida de germinación.

T A B L A 6

DATOS INICIALES DE CONTENIDO DE HUMEDAD, GERMINACION
Y MICOFLORA DE SEMILLAS DE MAIZ

CONTENIDO DE HUMEDAD*	GERMINACION**	MICOFLORA***
%	%	%
8.7 %	96 %	0

- * Contenido de humedad promedio de cuatro repeticiones.
 ** Germinación promedio de cuatro repeticiones de 100 semillas cada una.
 *** Porcentaje de semillas invadidas por hongos de almacén. promedio de cuatro repeticiones de 25 semillas cada una.

T A B L A 7

ANALISIS DE VARIANZA GENERAL DE LA SEMILLA DE MAIZ ALMACENADADURANTE 90 DIAS EN UNA HUMEDAD RELATIVA DE 85% A 26°C

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F CALCULADA	F REQ. 0.05	F REQ. 0.01
PARCELAS DE TRATAMIENTOS	27	9720.96				
REPETICIONES (R)	3	438	146			
TRATAMIENTOS (C)	6	6846.96	1141.16	8.43**	2.66	4.01
ERROR A (RXC)	18	2436	135.3			
TIEMPO (T)	2	64378.17	32189.08	227.61**	3.23	5.18
INTERACCION (T / C)	12	4585.33	382.11	2.70**	2.00	2.66
ERROR B (RXCXT)	42	5940	141.42			
TOTAL	83	84624.96				

** Altamente significativo.

T A B L A 8

ANALISIS DE VARIANZA DE LOS DATOS DE GERMINACION ALOS 30 DIAS EN UNA HUMEDAD RELATIVA DE 85% A 26° C

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F CALCULADA	F REQ 0.05 0.01
TRATAMIENTO	6	272.21	45.3690	2.7635*	2.57 3.81
ERROR	21	344.75	16.41		
TOTAL	27	616.964			

* Diferencias significativas.

T A B L A 9

CONTENIDO DE HUMEDAD, GERMINACION Y MICOFLORA DE SEMILLASDE MAIZ TRATADAS CON DIFERENTES INHIBIDORES Y ALMACENADASDURANTE 30 DIAS, EN 85% DE H.R. A 26°C

TRATAMIENTO	CONTENIDO DE* HUMEDAD %	GERMINACION** %	MICOFLORA*** %
TESTIGO	14.6	95 a****	10
MYCO-STAT	14.7	91 a b	0
MYCO-CURB	14.7	89 a b c	0
RAM-MOLD	14.6	89 a b c	4
LUPROSIL-SAL	14.8	88 b c	3
MOLD-CURB	14.7	88 b c	7
LUCTA-MOLD	14.8	84 c	8

* Contenido de humedad promedio de cuatro repeticiones.

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

*** Microflora promedio de cuatro repeticiones de 25 semillas cada una, invadidas por A. glaucus.

**** Números con letra diferentes son significativamente diferentes (Duncan, 0.05).

T A B L A 10

ANALISIS DE VARIANZA DE LOS DATOS DE GERMINACION ALOS 60 DIAS EN UNA HUMEDAD RELATIVA DE 85% A 26°C

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F CALCULADA	F REQ 0.05 0.01
TRATAMIENTOS	6	5525.21	920.86	4.38**	2.57 3.81
ERROR	21	4414.5	210.21		
TOTAL	27	9939.71			

** Diferencias altamente significativas.

T A B L A 11

CONTENIDO DE HUMEDAD, GERMINACION Y MICOFLORA DE SEMILLASDE MAIZ TRATADAS CON DIFERENTES INHIBIDORES Y ALMACENADASDURANTE 60 DIAS, EN 85% DE H. R. A 26°C

TRATAMIENTO	CONTENIDO DE* HUMEDAD %	GERMINACION** %	MICOFLORA*** %
LUPROSIL-SAL	15.1	89 a****	18
MYCO-STAT	15.0	69 b	69
RAM-MOLD	15.2	61 b	74
MYCO-CURB	15.1	53 b	73
TESTIGO	15.0	50 b	78
MOLD-CURB	15.0	48 b	58
LUCTA-MOLD	15.2	47 b	78

* Contenido de humedad promedio de cuatro repeticiones.

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

*** Micoflora promedio de cuatro repeticiones de 25 semillas cada una, invadidas por A. glaucus.

**** Números con letra diferentes son significativamente diferentes (Duncan, 0.05).

T A B L A 12

ANALISIS DE VARIANZA DE LOS DATOS DE GERMINACION ALOS 90 DIAS EN UNA HUMEDAD RELATIVA DE 85% A 26°C

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBER TAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F CALCULADA	F REQ 0.05 0.01
TRATAMIENTOS	6	9485.42	1580.90	46.80**	2.57 3.81
ERROR	21	709.25	33.773		
TOTAL	27	10194.67			

** Diferencias altamente significativas.

T A B L A 13

CONTENIDO DE HUMEDAD, GERMINACION Y MICOFLORA DE SEMILLAS
DE MAIZ TRATADAS CON DIFERENTES INHIBIDORES Y ALMACENADAS
DURANTE 90 DIAS, EN 85% DE H.R. A 26°C

TRATAMIENTO	CONTENIDO DE*		GERMINACION**	MICOFLORA***
	HUMEDAD	%	%	%
LUPROSIL-SAL	14.9		66 a****	30
TESTIGO	14.8		19 b	98
MYCO-STAT	14.8		17 b	75
MYCO-CURB	14.8		14 b	82
LUCTA-MOLD	14.9		13 b	97
RAM-MOLD	14.9		13 b	91
MOLD-CURB	14.9		12 b	91

* Contenido de humedad promedio de cuatro repeticiones.

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

*** Micoflora promedio de cuatro repeticiones de 25 semillas cada una, invadidas por A. glaucus.

**** Números con letra diferente son significativamente diferentes (Duncan, 0.05).

CONCLUSIONES

ESTA TESIS
SALIR DE LA
NO DEBE
SIBLIOTECA

30 días de almacenamiento.

Los resultados obtenidos sugieren que los tratamientos Luprosil-sal Mold-curb y Lucta-mold, afectaron la germinación de la semilla de maíz, ya que estadísticamente se encontraron diferencias entre los tratamientos, aun que para fines prácticos realmente no existen diferencias entre los tratamientos ya que el Sistema Nacional de Inspección y Certificación de Semillas marca un porcentaje de germinación de 85% como el mínimo requerido para propósitos agrícolas.

Se observó un ligero efecto de los inhibidores en el desarrollo de los hongos de almacén durante este tiempo de almacenamiento.

60 días de almacenamiento.

De los inhibidores probados, Luprosil-sal fue el único que mantuvo la germinación de la semilla de maíz por arriba del mínimo requerido para propósitos agrícolas. Ninguno de los inhibidores restantes protegió la germinación de las semillas.

El único producto que inhibió el desarrollo de los hongos de almacén fue Luprosil-sal.

90 días de almacenamiento.

Luprosil-sal fue el único de los inhibidores que mantuvo la germinación más alta que el Testigo, aunque ninguno de los productos evaluados en este trabajo mantuvo la germinación de la semilla por arriba del 85% requerido para propósitos agrícolas.

Ninguno de los inhibidores evitó el desarrollo de los hongos de almacén, sin embargo, entre ellos se observaron diferencias en el grado de inhibición de los hongos.

Conclusiones generales.

El tratamiento que mejor protegió la germinación de la semilla de maíz y que además inhibió el desarrollo de los hongos de almacén durante todo el tiempo de almacenamiento fue el Luprosil-sal.

Los inhibidores Lucta-mold, Mold-curb, Myco-curb, Myco-stat y Ram-mold no sirvieron para mantener la germinación ni para inhibir el desarrollo de los hongos de almacén.

LITERATURA CITADA

- Alemán, V.V. 1988. Evaluación de inhibidores comerciales de hongos en alimento balanceado. Tesis Profesional, Escuela Nacional de Agricultura, Chapingo. México 167 pp.
- American Association of Cereal Chemists. 1969. Cereal Laboratory Methods. St. Paul, 528 pp.
- Christensen, C. M. y H.H. Kaufmann. 1974. Micoflora. In. Christensen, C.M. (ed.) Storage of cereal grain their products. American Association of Cereal Chemists, St. Paul. 2a. ed. pp 158-192.
- Christensen, C.M. y H.H. Kaufmann. 1976. Contaminación por hongos en granos almacenados. Pax-México, 200 pp.
- Christensen, C.M. y D.B. Sauer. 1982. Micoflora. In. Christensen, C.M. (ed.) Storage of cereal grain their products. American Association of Cereal Chemists, St. Paul. 3a. ed. pp 219-240.
- Cronquist, A. 1981. Introducción a la Botánica. Ed. Continental, S.A. México, D.F. 848 pp.
- Delouche, J.C., R.R. Matthes, G.M. Douherty y A.A. Boyd. 1973. Storage of seed in subtropical and tropical regions. Seed Sci of Technol. 1; 671-700.
- Deyoe, C.W., C.S. Rao y R.P. Knake. 1973. Preservation of high moisture corn using organic acids. Ann. Technol. Agric. 22: 605-614.
- Drysdale, A.D. 1973. The use of propionic acid for moist grain preservation in Britain. Ann. Technol. Agric. 22: 615-619.

- Font Quer, P. 1973. Diccionario de Botánica. Ed. Labor, S.A. España, 1244 pp.
- Hall, G.E., L.D. Hill., E.E. Hatfield y A.H. Jensen. 1974. Propionic - acetic acid for high - moisture corn preservation. Trans. ASAE 17: 379--382, 387.
- Heredia. A.P. 1979. Efecto de thiabendazole en la conservación de grano de sorgo almacenado a diferentes humedades relativas. Tesis Profesional. Fac. de Ciencias U.N.A.M. 52 pp.
- Hesseltine. C.W. 1976. Conditions Leading to Mycotoxin Contamination of Foods and Feeds: In. Rodricks, J.V. (ed.) Mycotoxins and Other Fungal Related Food Problems. American Chemical Society, Washington. 1-22.
- International Seed Testing Association. 1976. International rules for seed Testing. Proc. Int. Seed. Test. Ass. 31: 1-152.
- Lappe, O.P. 1977. Acción de algunos fungicidas en la conservación de maíz y triticale. Tesis Profesional. Fac. de Ciencias, U.N.A.M. 112 pp.
- Little, T.M. y F.J. Hills. 1985. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Ed. Trillas, México, D.F. 270 pp.
- Moreno, M.E. 1984. Los problemas de la conservación de los granos y semillas en México. Ciencia y Desarrollo, CONACYT 58: 9-17.
- Moreno, M.E. y C.M. Christensen. 1970. Efecto de la humedad y hongos sobre la viabilidad del maíz almacenado. Rev. Lat. Amer. Microbiol. 12: 115-121 pp.

- Moreno, M.E., L. Mandujano, L. Mendoza y G. Valencia. 1985. Use of fungicides for corn seed viability preservation. Seed Science & Technol., 13: 235-241.
- Moreno, M.E. y G. Vidal. 1981. Preserving the viability of stored maize seed with fungicides. Plant Disease. 65: 260-261.
- Neergard, P. 1977. Seed Pathology. The MacMillan Press, LTD, Great Britain. Vol.1 pp 600.
- O'Kelly, E. y R.H. Forster. 1983. La elaboración y almacenamiento de los cereales por las familias rurales. FAO. Boletín de Servicios Agrícolas de FAO. 136 pp.
- Productora Nacional de Semillas. 1982. Origen, Desarrollo y Proyección de Productora Nacional de Semillas. PRONASE, SARH, México, D.F. 134 pp.
- Ramírez, G.J. y M.E. Moreno. 1982. Aplicación en húmedo y en seco de fungicidas en la conservación de semilla de maíz almacenada. Bol. Soc. Mex. Micol. 17: 67-70.
- Raper, K.B. y D.I. Fennel. 1965. The genus Aspergillus. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 686.
- Reyes, C.P. 1981. Diseño de experimentos aplicados. Ed. Trillas, México, D. F. 344 pp.
- Rzedowski, J. 1983. Vegetación de México. Ed. Limusa, México, D.F. 432 pp.
- Sánchez, S.O. 1980. La flora del Valle de México. Ed. Herrero, México, D.F. 519 pp.

- Sauer, D.F. y R. Burroughs. 1974. Efficacy of various chemicals as grain - mold inhibitors. Trans. ASAE, 17: 557-559.
- Sauer, D.F., T.O. Hodges, R. Burroughs y H.H. Converse. 1975. Comparison of propionic acid and methylene bis propionate as grain preservatives. Trans. ASAE, 18: 1162-1164.
- Sauer, D.F. y C.M. Christensen. 1978. Germination percentage, storage fungi, isolate from, and fat acidity values of export corn. Phytopathology 58: 1156-1359.
- Secretaría de Agricultura y Recursos y Hráulicos. 1988. Sistema Integral de - Información. Avance en la producción Agropecuaria y Forestal. No.16 SARH.
- Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 1975. Normas para la Certificación de Semillas. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas. Dirección General de Agricultura, 91 p.
- Song, L. 1973. Materials with propionic acid as a preservative for fodder barley. Ann. Technol. Agric. 22: 675-683.
- Stoloff, L. 1976. Ocurrance of Mycotoxins in Foods and Feeds In; Rodricks, J. V. (ed.) Mycotoxin and Other Fungal Related Food Problems. American Chemical Society, Washington. pp. 23-50.
- Venegas, C.L. 1988. Evaluación de fungicidas para conservar la viabilidad del sorgo durante su almacenamiento. Tesis Profesional. Fac. de Ciencias. U.N.A.M. 41 pp.

Wallace. H.A.H. 1973. Fungi. and other organisms associates with stored -
grain. In. Sinha, R.N. y W.E. Miur. (eds.) Grain storage. Part of
a system. Avi. Publishing. Westport. pp. 23-50.

Winston. P.W. y D.H. Bates. 1960. Saturated solutions for the control of hu -
midity in biological research. Ecology. 41: 232-237.