

ACCIÓN DE ALGUNOS FUNGICIDAS EN LA CONSERVACIÓN DE MAÍZ Y TRITICALE*

PATRICIA LAPPE OLIVERAS**

MARTHA ZENTENO ZEVADA**

RESUMEN

El presente estudio fue realizado en el Laboratorio de Fitopatología, Departamento de Botánica del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México. El material utilizado fueron granos de maíz de las variedades Endospermo Duro, Opaco 2 y Tuxpeño y granos de Triticale de las variedades Iga, Bacum y Yoreme, proporcionados por el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT).

Las pruebas de almacenamiento fueron hechas en las siguientes condiciones: a) Almacenamiento en 97% de humedad relativa y 27°C. En esta prueba, el contenido de humedad de los granos en las seis variedades, fue primeramente ajustado a 20%. Después los granos fueron tratados con 1,700 ppm de Conservex, Propionato de sodio o Tecto 60. b) Almacenamiento en 85% de humedad relativa y 27°C, y 75% de humedad relativa y 27°C. Esta prueba se hizo solamente con Triticale de la variedad Yoreme, la cual fue tratada con 1,500, 2,000 y 3,000 ppm de Conservex o Propionato de sodio.

De los tres fungicidas utilizados en la primera prueba (a), el que controló mejor el desarrollo de hongos fue Tecto 60, ya que inhibió completamente el crecimiento de especies del género *Aspergillus* pero no del género *Penicillium*. Los otros dos fungicidas (Conservex y Propionato de sodio), permitieron el desarrollo de dichos hongos, por lo que se decidió probarlos a dosis más elevadas y en condiciones menos drásticas de almacenaje.

En la segunda prueba de almacenamiento (b), los dos fungicidas que inhibieron mejor el desarrollo de hongos, a 75% de humedad relativa y 27°C, fueron Propionato de sodio a 3,000 ppm y Conservex a la misma concentración.

Con el fin de corroborar los resultados obtenidos en el último muestreo de Triticale, almacenado durante 120 días a 75% de humedad relativa y a 27°C, se realizó la prueba de determinación de número de esporas de hongos por gramo de grano, habiéndose obtenido diferencias con respecto al testigo.

ABSTRACT

The present study was made in the Laboratorio de Fitopatología, Departamento de Botánica, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. The corn kernels used in this work belonged to the varieties Hard Endospermo, Opaco 2 and Tuxpeño, and the kernels of the Triticale varieties Iga, Bacum and Yoreme, all of them obtained from the Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT).

* Parte de la tesis presentada por la primera autora para obtener el título de Biólogo. Facultad de Ciencias, UNAM. Manuscrito recibido el 19 de febrero de 1979.

** Instituto de Biología, UNAM.

The storage tests were made in the following conditions: (a) Storage in 97% of relative humidity and 27°C. In this test the moisture content of the kernels of all six varieties was first adjusted to 20%. Then the kernels were treated with 1,700 ppm of Conservex, sodium propionate, or Tecto 60. (b) Storage in 85% of relative humidity, 27°C, and 75% of relative humidity and 27°C. This test was made only with the variety Yoreme of Triticale, which was treated with 1,500, 2,000 and 3,000 ppm of Conservex or sodium propionate.

Of the three fungicides used in the first test (a), the one which was best in stopping the development of fungi was Tecto 60, which completely stopped the development of species of *Aspergillus*, but not of genus *Penicillium*. The other two fungicides, Conservex and sodium propionate, were not effective at the doses first used, hence their concentration was increased and there were used less unfavorable conditions of storage.

In the second storage test (b), the two fungicides which best stopped fungus development at 75% of relative humidity and 27°C, were sodium propionate at 3,000 ppm, and Conservex at the same concentration.

In order to confirm the results in the last sampling test of Triticale, which was stored 120 days in 75% of relative humidity and 27°C, was conducted a test to determine the number of fungus spores per gram of kernel. The difference in number of spores, between treated and untreated kernels was considerable.

INTRODUCCIÓN

Desde el principio de la humanidad uno de los problemas más importantes relacionados con el crecimiento de la misma ha sido la alimentación, problema que vino a solucionarse en parte, con la invención de la agricultura. En la actualidad el 71% del aporte protéico mundial es de origen vegetal y más del total de la mitad de proteínas está dado por los cereales, por lo que éstos tienen una gran relevancia tanto actual como para el futuro (Borlaug, 1974).

En México, cuya población general posee una dieta basada en dichas gramíneas, la importancia del desarrollo, obtención y conservación de las mismas, adquiere proporciones agigantadas. En lo que respecta a la conservación, según estimaciones de la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura), un 5% de los granos cosechados se pierden durante el almacenamiento (tomado de Christensen y Kaufmann, 1969). Tomando como referencia la producción nacional en el año de 1974 (Silos *et al.*, 1975), las pérdidas en México fueron cerca de 400,000 toneladas de maíz, 46,000 toneladas de frijol y 140,000 toneladas de trigo. Dichas pérdidas fueron durante el almacenamiento, por lo que éste constituye uno de los principales problemas en la conservación de los granos.

Los factores involucrados en el deterioro de los productos agrícolas almacenados, pueden ser de dos tipos: físicos y biológicos. Entre los físicos se encuentran la humedad y la temperatura, que ocasionan diversos tipos de daño (Christensen y Kaufmann, 1969; Ramírez, 1974). Los biológicos son principalmente roedores, ácaros, insectos y hongos. Para todos ellos, exceptuando los hongos, existen medidas de combate prácticas y efectivas previniéndose así el deterioro de los productos almacenados. Los hongos que invaden a los productos agrícolas durante su transporte y almacenamiento, son los principales responsables de su disminución en calidad (Christensen y colaboradores, 1957, 1962, 1963, 1964, 1969). El combate

de los hongos que dañan granos y semillas en el almacén es un problema sumamente complejo. El tratamiento de granos y semillas con fungicidas ha sido probado desde hace tiempo (Moreno y Christensen, 1970), pero algunos compuestos que han sido efectivos contra los hongos, no han reunido los requisitos necesarios para ser utilizados en productos alimenticios, debido principalmente a su alto grado de toxicidad (Velázquez, 1975).

Debido a las grandes pérdidas que ocasionan anualmente los hongos, en diversos cereales almacenados, y a la alta toxicidad de algunos de los fungicidas que se han utilizado, se consideró conveniente:

1) Determinar la actividad protectora de varios fungicidas no tóxicos (Tecto 60, Conservex y Propionato de sodio), sobre granos de maíz y Triticale almacenados bajo diferentes condiciones de humedad y temperatura.

2) Establecer si la humedad (tanto la relativa como la contenida en el grano), tiene algún efecto sobre la actividad de dichos fungicidas.

3) Establecer la dosis mínima inhibitoria (DMI), capaz de controlar la micoflora de los granos almacenados.

4) Determinar cuál de las diferentes sustancias utilizadas proporciona protección por más tiempo, bajo circunstancias similares.

5) Establecer si las diferentes concentraciones empleadas de los diferentes fungicidas, producen deterioro en el embrión, impidiendo así su germinación.

6) Determinar si existe alguna selectividad de los diferentes fungicidas hacia las distintas especies de hongos.

7) Especificar cuál de los fungicidas empleados, es el más efectivo y por ende se acerca más a las características idóneas (fácil aplicación, baja toxicidad, poco precio y actividad protectora de mayor duración).

MATERIALES Y MÉTODOS

I) MAÍZ Y TRITICALE

Los granos de los cereales utilizados en este trabajo, fueron proporcionados por el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT).

En las pruebas llevadas a cabo con maíz, se emplearon las variedades Opaco 2, Tuxpeño y Compuesto de Endospermo Duro, las cuales se obtuvieron en octubre de 1975. En las pruebas realizadas con Triticale, también se utilizaron tres variedades: Iga, Bacum y Yoreme, las que fueron proporcionadas en enero de 1975 y en junio de 1976.

a) Pruebas de germinación

Para determinar el porcentaje de germinación del grano fue utilizado el método descrito por Christensen y López (1962), que consiste en colocar los granos entre dos toallas de papel absorbente húmedas, enrollándolas y guardándolas en bolsas de polietileno perforadas y a temperatura ambiente. En esta prueba se utilizaron 200 granos por muestreo, para cada uno de los tratamientos.

Para el maíz, el conteo de los granos germinados se llevó a cabo a los 4 y 7 días según recomendaciones de International Rules for Seed Testing (1966), mientras que para el Triticale, éste fue realizado al 5o. y 8o. día (Zenteno Z., 1975).

b) *Micoflora*

Para realizar la determinación del número y clase de hongos presentes en los granos, éstos fueron desinfectados superficialmente con una solución de hipoclorito de sodio al 2% durante un minuto, y posteriormente enjuagados con agua destilada esterilizada, procediendo de inmediato a sembrar 50 granos repartidos en dos cajas de Petri en el caso de Triticale y 50 granos en cuatro cajas de Petri para el maíz. Lo anterior se realizó en una cámara estéril, evitando así una posible contaminación.

Los medios de cultivo utilizados en las pruebas preliminares fueron: Extracto de Malta-agar (MA) y Malta-Sal-agar (MSA), ya que éste es un medio selectivo para los llamados "hongos de almacén" (Christensen, 1957). Las cajas ya sembradas fueron incubadas a 25°C, de 5 a 7 días, al cabo de los cuales se procedió a contar el número de granos invadidos por hongos, así como a la identificación de los mismos. Los hongos pertenecientes al género *Aspergillus* fueron identificados hasta especie, los del género *Penicillium* hasta sección, y los pertenecientes a otros grupos únicamente hasta género.

c) *Indetificación de especies*

Las cepas de hongos aisladas de los granos fueron conservadas en tubos de cultivo con medio de Czapek y a una temperatura de 25°C.

Para llevar a cabo la identificación de dichos hongos, se procedió a transferirlos a cajas de Petri con el mismo medio de cultivo. Estas cajas ya inoculadas se incubaron a una temperatura de 24 a 26°C, durante un periodo de 2 semanas. Transcurrido ese tiempo se procedió a tomar todos los datos necesarios para realizar la identificación hasta especie, en el género *Aspergillus*, siguiendo las claves elaboradas por Raper y Fennell (1965) y el diccionario de colores de Ridway (1912).

Para la identificación de algunos hongos, fue necesario hacer microcultivos, los que se elaboraron haciendo una modificación de la técnica de Ridell (1950), como sigue: De una caja de Petri con MSA, se cortaron cuadros de 1 cm por lado, los que fueron transferidos a otras cajas de Petri conteniendo el mismo medio de cultivo. Cada cuadro de agar fue inoculado en el centro, con el hongo en estudio, y enseguida se colocó sobre él un cubreobjetos esterilizado. Las cajas de Petri con los cuadros inoculados, fueron incubadas a 25°C y observadas diariamente, hasta que el crecimiento del hongo fue obvio. Entonces se procedió a remover el cubreobjetos para colocarlo sobre un portaobjetos, tiñéndolo antes con

una gota de lactofenol con azul algodón, realizando después las observaciones microscópicas necesarias para la identificación.

d) *Contenido de humedad*

El contenido de humedad de los granos, fue determinado empleando el método de secado en estufas, recomendado por la American Association of Cereal Chemists (1962), el cual consiste en pesar de 5 a 10 g de granos y colocarlos en cajitas de aluminio, previamente pesadas, sometiéndolos después a una temperatura de 103°C durante 72 horas, volviéndolas nuevamente a pesar después de transcurrido ese tiempo. El contenido de humedad se obtiene por diferencia de peso y se expresa en porcentaje en base a peso húmedo. El contenido de humedad de cada muestra se obtuvo por promedio de dos repeticiones.

II) FUNGICIDAS

a) *Thiabendazole, Tecto 60 o TBZ*

Esta es una sustancia que ha sido conocida desde 1961 como poderoso anti-helmíntico, y en la actualidad es muy utilizada en tratamientos de animales y del hombre. Muchos trabajos han sido realizados con Tecto 60 para demostrar sus poderes como antimicótico. La capacidad inhibitoria de TBZ sobre el desarrollo de los hongos, se debe a que interfiere en varios procesos metabólicos, como síntesis de proteínas, lípidos y aminoácidos, así como en la captación de alimentos (Allen y Gottlieb, 1970). Debido a las características físicas y químicas de sus moléculas, esta sustancia puede moverse a través de barreras biológicas hasta alcanzar los receptores del hongo patógeno y ejercer ahí su efecto terapéutico, por lo que es considerado como un fungicida de tipo sistémico (Weinke *et al.*, 1969).

b) *Acido propiónico y sus sales*

El ácido propiónico es miembro de la serie de ácidos alifáticos monocarboxílicos. Es un líquido claro, de olor penetrante y algo corrosivo. Hesseltine, en 1952, investigó el mecanismo fungistático de las sales del ácido propiónico, encontrando que en bajas concentraciones dichas sustancias son oxidadas por los microorganismos, pero que al incrementarse la dosis, el proceso respiratorio de dichos microorganismos se va reduciendo conforme se alcanza la concentración óptima del fungicida. La inhibición del crecimiento, por lo tanto, probablemente está asociada con una interferencia en el metabolismo normal de los carbohidratos.

Debido a su bajo costo y a su nula toxicidad, el uso de esta sustancia se ha incrementado últimamente, siendo sus principales aplicaciones en:

1) Industria alimentaria para prevenir el desarrollo de hongos y levaduras en pan, pasteles, cremas, tartas, etc.; en productos lácteos como queso fresco, queso fermentado, mantequilla y alimentos a base de queso; en extractos de malta, jarabes, jugos, frutas deshidratadas, verduras, jaleas y mermeladas, etc. (Ingram *et al.*, 1959; Clifton y Husa, 1954; Walford y Andersen, 1945; Handbook of Food Additives, 1972).

2) Conservación de granos y cereales con un alto contenido de humedad (Singh-Verma, 1973; Poisson y Cahagnier, 1973; Drysdale, 1973).

3) Conservación de alfalfa y forrajes ensilados (McCullough, 1975; Dunham, 1975).

4) Industria agropecuaria como estimulante del apetito de becerros y puercos lactantes (Horton y Holmes, 1975; Clarke *et al.*, 1973; Elliot *et al.*, 1965).

c) *Conservex*

Es un polvo blanco, cristalino, inodoro, sumamente soluble en agua y cuyos ingredientes activos son: benzoato de sodio, sorbato de potasio y propionato de sodio. Debido a que es inocuo y a su alto poder fungicida y algicida, ha sido oficialmente aceptado en varios países. Su uso no está restringido a ningún producto en especial, por lo que puede emplearse como agente conservador en:

- 1) Productos de panificación.
 - 2) Productos lácteos.
 - 3) Bebidas gaseosas, jarabes, jugos de frutas y verduras, vinos, cerveza.
 - 4) Alimentos en conserva, escabechados, salmueras.
 - 5) Pescados ahumados y embutidos.
 - 6) Mermeladas y jaleas.
 - 7) Papeles y materiales de envoltura y alimentos.
- (Handbook of Food Additives 1972; Pfizer, 1974).

d) *Fungicidas probados en el almacén*

En las pruebas realizadas a 97.5% de humedad relativa (HR) y a 27°C, las sustancias probadas fueron: Tecto 60, propionato de sodio y Conservex, a una dosis de 1,700 ppm del ingrediente activo.

La aplicación de los fungicidas se hizo a las 24 horas de haberse ajustado el contenido de humedad de los granos de maíz y triticale a un 20%, con el objeto de que ésta fuera lo más homogénea posible (García, 1971).

En las pruebas de almacén realizadas a 75 y 85% de humedad relativa y a 27°C con granos de triticale con un contenido de humedad entre 9 y 10%, fueron utilizados propionato de sodio y Conservex a dosis de 1,500, 2,000 y 3,000 ppm.

III) ALMACENAMIENTO

a) Almacenamiento a 97.5% de humedad relativa y 27°C

Una vez conocidas las condiciones originales de las tres variedades de maíz y triticale (contenido de humedad, porciento de germinación y micoflora) se procedió a elevar el contenido de humedad de las mismas a un 20% y a tratarlas con los diferentes fungicidas, espolvoreados.

El grano ya listo, fue colocado en pequeños recipientes de plástico los cuales, a su vez, fueron acomodados en cajas también de plástico transparente de 40 x 20 x 10 cm o de 20 x 20 x 10 cm, sobre un enrejado, de manera que no estuvieran en contacto con la solución saturada de sal contenida en el fondo de las cajas. La sal utilizada para alcanzar una humedad relativa de 97.5% fue KSO₄ (Winston y Bates, 1960).

Cada tratamiento se almacenó por duplicado y cada uno de ellos en cantidad suficiente para realizar las pruebas de germinación, contenido de humedad y micoflora del grano en cinco muestreos que se realizaron cada 30 días. Las cajas conteniendo los granos fueron selladas con cinta adhesiva para evitar la posible evaporación, y posteriormente puestas a incubación en 27°C.

b) Almacenamiento a 75 y 85% de humedad relativa y a 27°C

En estas pruebas el grano utilizado fue triticale de la variedad Yoreme. Una vez obtenidos los datos preliminares del material (contenido de humedad, germinación y micoflora de los granos), se procedió a tratarlos con las diferentes dosis del fungicida y después almacenarlos por duplicado en recipientes de plástico perforados, los cuales también fueron colocados sobre rejillas y dentro de cajas de plástico conteniendo una solución saturada de la sal adecuada. Para obtener la humedad relativa de 75%, la sal utilizada fue NaCl, y para 85% de humedad relativa la sal fue KCl (Winston y Bates, 1960). Los periodos en que fueron hechos los muestreos variaron de acuerdo con la humedad relativa a la que se almacenó el grano:

	1er. muestreo	2o. muestreo
85% de HR	30 días	60 días
75% de HR	60 días	120 días

c) Ajuste del contenido de humedad

Tanto los granos de maíz como los de triticale que se almacenaron a 96% de HR, fueron ajustados a un contenido de humedad de 20%, este porcentaje fue escogido debido a que se quería almacenar el grano en condiciones sumamente favorables para el desarrollo de los "hongos de almacén" y desfavorables para la

conservación del grano (Gutiérrez, 1975), para lo cual se utilizó la misma técnica que emplea dicho autor.

IV) VALORACIÓN DEL NÚMERO DE ESPORAS POR GRAMO DE GRANO

Esta prueba se llevó al cabo con granos de triticale almacenados a 75% de HR, para ello se pesaron 5 g de grano de cada uno de los tratamientos (por duplicado), se colocaron en un vaso de licuadora previamente esterilizado, y se le agregaron 500 ml de agua-agar al 0.12%; lo anterior se molió durante 1 minuto, y la suspensión obtenida fue transferida a un matraz Erlenmeyer esterilizado. La suspensión tenía una concentración de 1/100; para llevarla a 1/1000, se tomaron 5 ml de la suspensión original (con una pipeta esterilizada) que fueron transferidos a un frasco de dilución conteniendo 45 ml de agua-agar al 0.12%. Siguiendo la misma técnica de dilución se prepararon concentraciones de 1/10³, 1/10⁴, 1/10⁵ y 1/10⁶. A partir de la dilución 1/10³ en adelante, se tomó 1 ml de la suspensión de esporas, fue vaciado a una caja de Petri esterilizada, añadiendo posteriormente el medio de cultivo (MSA), a una temperatura de 50°C, y agitando bien la caja para distribuir uniformemente las esporas en suspensión. Para cada dilución se prepararon dos cajas de Petri, las cuales, una vez que el medio solidificó, fueron incubadas a 25°C. Cuando aparecieron las colonias de hongos, éstos fueron contados e identificados. El total de colonias de hongos, multiplicado por el factor de dilución, dio por resultado el número de esporas viables por gramo de grano (Moreno y Christensen, 1972; Bernier, 1973).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

I) RESULTADOS DEL ALMACENAMIENTO A 97.5% DE HUMEDAD RELATIVA Y 27°C

Los datos iniciales de las diferentes variedades de maíz y triticale utilizadas en esta prueba, se resumen en las Tablas 1 y 5. En las Tablas 2, 3 y 4, se muestran los resultados del almacenamiento durante un mes de las tres variedades de maíz cuyo contenido de humedad fue ajustado a 20% y tratadas con los tres fungicidas en estudio. El contenido de humedad aumentó con respecto al inicial, siendo el rango mayor el alcanzado en la variedad Endospermo Duro tratamiento testigo (23.8%) de contenido de humedad.

Por los resultados obtenidos en las condiciones de este experimento, se puede decir que los distintos tratamientos usados no tienen una acción sobre la germinación de los granos de las variedades Endospermo Duro y Opaco-2, ya que, en la primera ésta se conservó alta tanto en el testigo como en los diversos tratamientos, mientras que, en la variedad Opaco-2 la germinación decayó en todas las muestras. Lo anterior indica que existen factores en los distintos tipos de grano,

TABLA 1

CONTENIDO DE HUMEDAD, GERMINACION Y MICROFLORA INICIALES EN GRANOS DE MAIZ DE LAS VARIETADES OPACO-2, TUXPEÑO I NORMAL Y ENDOSPERMO DURO.

VARIEDAD	CONTENIDO DE HUMEDAD (%)	GERMINACION (%)	% DE GRANOS INVADIDOS POR HONGOS	
			<u>FUSARIUM SPP.</u>	<u>ALTERNARIA SPP. PENICILLIUM SPP.</u>
ENDOSPERMO DURO	9.7	100 %	12	0
OPACO-2	10.1	92 %	28	2
TUXPEÑO	9.5	100 %	22	0

TABLA 2

CONTENIDO DE HUMEDAD, GERMINACION Y MICROFLORA EN GRANOS DE MAIZ (ENDOSPERMO DURO) ALMACENADO DURANTE 50 DIAS A 27°C. 97.5% DE HUMEDAD RELATIVA Y TRATADOS CON DIFERENTES FUNGICIDAS.																		
TRATAMIENTO	CONTENIDO DE HUMEDAD (%)		GERMINACION (%)		% DE GRANOS INVADIDOS POR HONGOS													
	I.	F.	I.	F.	FUSARIUM SPP.	PENICILLIUM SPP.	A. FLAVUS.	A. TAMARII.	A. GLAUCUS.	A. VERSICOLOR.	A. RUBER.							
TESTIGO	20.7	23.8	100	84	12	2	2	21	0	27	0	25	0	46	0	31	0	17
PROPIONATO DE SODIO	19.8	22.0	100	84	12	1	2	36	0	6	0	4	0	57	0	0	0	28
TECTO-60	19.8	22.4	100	81	12	0	2	98	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CONSERVEX	20.8	22.6	100	87	12	7	2	0	0	90	0	6	0	35	0	2	0	1

TABLA 3

CONTENIDO DE HUMEDAD, GERMINACION Y MICOFLORA EN GRANOS DE MAIZ (OPACO-2), ALMACENADO DURANTE 30 DIAS A 27°C. 97.5% DE HUMEDAD RELATIVA Y TRATADOS CON DIFERENTES FUNGICIDAS.											
TRATAMIENTO	CONTENIDO DE HUMEDAD (%)	GERMINACION (%)	% DE GRANOS INVADIDOS POR HONGOS.								
	I. F.	I. F.	FUSARIUM SPP.	PENICILLIUM SPP.	A. FLAVUS.	A. GLAUCUS.	A. VERSICOLOR.	A. RUBER.	A. CANDIDUS.		
			I. F.	I. F.	I. F.	I. F.	I. F.	I. F.	I. F.	I. F.	I. F.
TESTIGO	20.0 21.7	92 33	28 48	0 15	0 85	0 16	0 3	0 3	0 3	0 0	0 0
PROPIONATO DE SODIO	19.9 21.8	92 31	28 7	0 11	0 49	0 55	0 9	0 15	0 42		
TECTO-60	20.1 21.6	92 43	28 0	0 89	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
CONSERVEX	20.2 21.6	92 36	28 4	0 11	0 99	0 6	0 1	0 2	0 1	0 0	0 1

TABLA 4

CONTENIDO DE HUMEDAD, GERMINACION Y MICOFLORA EN GRANOS DE MAIZ (TUXPEÑO I NORMAL), ALMACENADO DURANTE 30 DIAS A 27°C, 97.5% DE HUMEDAD RELATIVA Y TRATADOS CON DIFERENTES FUNGICIDAS.									
TRATAMIENTO	CONTENIDO DE HUMEDAD (%)	GERMINACION (%)	% DE GRANOS INVADIDOS POR HONGOS.						
	I. F.	I. F.	FUSARIUM SPP.	PENICILLIUM SPP.	A. FLAVUS.	A. GLAUCUS.	A. VERSICOLOR.	A. RUBER.	A. TAMARII.
			I. F.	I. F.	I. F.	I. F.	I. F.	I. F.	I. F.
TESTIGO	21.3 22.4	100 58	22 39	0 18	0 74	0 48	0 27	0 8	0 0
PROPIONATO DE SODIO	20.9 22.6	100 45	22 25	0 4	0 77	0 49	0 40	0 8	0 0
TECTO-60	21.1 22.1	100 71	22 0	0 90	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
CONSERVEX	21.7 22.5	100 73	22 0	0 31	0 79	0 46	0 15	0 4	0 10

responsables de la alta o baja germinación, independientemente de la acción del fungicida. Esto concuerda con lo encontrado por Moreno y Christensen (1970) y por Gutiérrez (1975) con respecto a la resistencia o susceptibilidad de las diferentes variedades de maíz en el almacén.

En la variedad Tuxpeño 1 Normal, los tratamientos 3 y 4 conservaron mejor la viabilidad del grano, ya que la germinación en ambos casos fue superior a la de los granos testigo.

Los hongos pertenecientes al género *Aspergillus* fueron inhibidos por Tecto 60, no así los del grupo *Penicillium*, que alcanzaron un desarrollo vigoroso.

En los otros tratamientos (Propionato de sodio y Conservex), fue la especie *Aspergillus flavus* la que en mayor porcentaje se presentó, aunque también alcanzaron una cifra elevada especies del grupo *A. glaucus*. En el caso de la variedad Endospermo Duro, *A. niger* se encontró en los granos testigo en un 4% y *A. candidus* invadió el 5% de los granos tratados con propionato de sodio. En el maíz Opaco 2, un 2% de los granos testigo tuvieron *A. niger* y *A. tamarii* en el 11%. En la variedad Tuxpeño 1 Normal, los hongos que aparecieron en menor cantidad fueron *A. niger* (4%) y *A. ochraceus*, ambos en el testigo.

Las tablas 6, 7 y 8 muestran los resultados obtenidos en las tres variedades de triticale (Bacum, Iga y Yoreme), a los 30 días de almacenamiento a 97.5% de HR y 27°C. A dichas variedades se les ajustó el contenido de humedad a 20% y fueron tratadas con los mismos fungicidas que el maíz. El contenido de humedad final aumentó, alcanzando un promedio de 23%. La germinación no se vio influida por los tratamientos, ya que ésta en todos ellos fue similar a la de los granos testigo, tanto en el inicio como al finalizar las pruebas. Los hongos que predominaron en estas condiciones fueron especies del grupo *A. glaucus* (*A. amstelodami* y *A. ruber*), lo cual no se esperaba, ya que según reporta Christensen en 1957, dichas especies sólo se desarrollaron en contenidos de humedad de 13.5-14.0%. Sin embargo, los resultados aquí obtenidos, concuerdan con lo encontrado por Zenteno y García (1975), por lo que se supone que probablemente la incidencia de las diferentes especies de *Aspergillus* no dependa únicamente de las condiciones de almacenamiento (temperatura y humedad), sino también de otros factores en el grano y de la presencia y cantidad de inóculo. En todos los casos las especies de *Penicillium* alcanzaron un porcentaje elevado.

Tecto 60 inhibió el desarrollo de los hongos del género *Aspergillus*, no así los del género *Penicillium* que estuvieron presentes en un 100% de las muestras. Los demás fungicidas no controlaron satisfactoriamente el desarrollo de hongos. En aquellos granos con crecimiento vigoroso de la especie *A. amstelodami*, no creció o fue inhibido el desarrollo de *A. ruber*, y por el contrario, cuando el primer hongo no creció ampliamente, fue *A. ruber* el predominante.

De los fungicidas empleados para tratar las diferentes variedades de maíz y triticale, empleadas en este estudio, ninguno inhibió por completo la micoflora. Tecto 60, en ambos materiales, controló a las distintas especies de *Aspergillus*, pero no tuvo efecto inhibitorio alguno en el desarrollo del género *Penicillium*.

Ni el propionato de sodio ni el Conservex protegieron satisfactoriamente a los granos, lo que pudo deberse a que las dosis de dichas sustancias fueron bajas, o

TABLA 5

CONTENIDO DE HUMEDAD, GERMINACION Y MICROFLORA INICIALES EN GRANOS DE TRITICALE DE LAS VARIETADES IGA, BACUM Y YOREME.					
VARIETADE	CONTENIDO DE HUMEDAD (%)	GERMINACION (%)	% DE GRANOS INVADIDOS POR HONGOS.		
			<u>FUSARIUM SPP.</u>	<u>PENICILLIUM SPP.</u>	<u>ALTERNARIA SPP.</u>
IGA	9.4	95 %	4	0	60
BACUM	9.3	100 %	0	2	76
YOREME	9.6	85 %	0	0	3

TABLA 6

CONTENIDO DE HUMEDAD, GERMINACION Y MICROFLORA EN GRANOS DE TRITICALE (IGA) ALMACENADOS DURANTE 30 DIAS, A 27°C, 97.5% DE HUMEDAD RELATIVA Y TRATADOS CON DIFERENTES FUNGICIDAS.																
TRATAMIENTO	CONTENIDO DE HUMEDAD (%)		GERMINACION (%)		% DE GRANOS INVADIDOS POR HONGOS.											
	I.	F.	I.	F.	ALTERARIA SPP.	PENICILLIUM SPP.	A. GLAUCUS.	A. RUBER.	A. FLAVUS.	A. CANDIDUS.	I.	F.				
TESTIGO	19.9	22.8	95	29	60	33	0	4	0	2	0	71	0	0	0	1
PROPIONATO DE SODIO	20.3	22.6	95	17	60	12	0	65	0	24	0	38	0	2	0	4
TECTO-60	20.8	22.6	95	17	60	4	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
CONSERVEX	20.9	23.0	95	8	60	51	0	1	0	67	0	20	0	1	0	1

TABLA 7

CONTENIDO DE HUMEDAD, GERMINACION Y MICOFLORA EN GRANOS DE TRITICALE (BACUM), ALMACENADOS DURANTE 30 DIAS A 27°C, 97.5% DE HUMEDAD RELATIVA Y TRATADOS CON DIFERENTES FUNGICIDAS.		% DE GRANOS INVADIDOS POR HONGOS.																
TREATAMIENTO	CONTENIDO DE HUMEDAD (%)	GERMINACION (%)																
	I. F.	I. F.	ALTERNARIA SPP.	PENICILLIUM SPP.	A. GLAUCUS.	A. RUBER.	A. OCHRACEUS.	A. CANDIDUS.	A. FLAVUS.	I. F.								
TESTIGO	20.9	23.5	100	8	76	15	0	72	0	19	0	3	0	7	0	8	0	14
PROPIONATO DE SODIO	20.6	24.0	100	5	76	23	0	82	0	42	0	1	0	4	0	11	0	1
TECTO-60	21.2	24.3	100	4	76	3	0	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CONSERVEX	20.6	24.1	100	8	76	6	0	27	0	11	0	88	0	0	0	2	0	0

TABLA 8

CONTENIDO DE HUMEDAD, GERMINACION Y MICROFLORA EN GRANOS DE TRITICALE (YOREME), ALMACENADOS DURANTE 30 DIAS A 27°C, 97.5% DE HUMEDAD RELATIVA Y TRATADOS CON DIFERENTES FUNGICIDAS.												
TRATAMIENTO	CONTENIDO DE HUMEDAD (%)		GERMINACION (%)		% DE GRANOS INVADIDOS POR HONGOS.							
	I.	F.	I.	F.	PENICILLIUM SPP.		A. GLAUCUS.		A. RUBER.		A. CANDIDUS.	
	I.	F.	I.	F.	I.	F.	I.	F.	I.	F.	I.	F.
TESTIGO	20.5	22.3	85	9	0	10	0	81	0	19	0	2
PROPIONATO DE SODIO	21.1	23.0	85	9	0	28	0	46	0	54	0	0
TECTO-60	20.8	23.0	85	13	0	99	0	0	0	0	0	0
CONSERVEX	20.8	23.9	85	8	0	9	0	17	0	84	0	1

a que dado el alto contenido de humedad de los granos, así como la alta humedad relativa en que fueron almacenados, hicieron que la concentración del principio activo se perdiera rápidamente y se presentara el desarrollo de hongos (Erkstrom, 1973).

En todas las Tablas se suprimieron aquellos hongos que se encontraron en muy bajo porcentaje y tan sólo en uno de los tratamientos.

II) RESULTADOS DEL ALMACENAMIENTO A 85% DE HUMEDAD RELATIVA Y 27°C

En esta prueba únicamente se utilizó Triticale de la variedad Yoreme. Dicho grano fue tratado con diferentes concentraciones de los fungicidas Conservex y Propionato de Sodio.

El primer muestreo se realizó a los 30 días de haber iniciado el almacenamiento y los resultados obtenidos se encuentran resumidos en la Tabla 9. El contenido de humedad en todos los tratamientos se elevó a un 18%, humedad en equilibrio para granos de triticale, a 85% de humedad relativa según Zenteno y García (1975). La germinación decreció en todas las muestras, siendo ésto más notorio en el tratamiento testigo, ya que de una germinación inicial de 92% bajo a 57%. La germinación más alta fue la del grano tratado con 1,500 ppm de Conservex. Se puede hacer notar que en el caso del propionato de sodio, fue en la concentración más alta en la que se obtuvo mayor germinación, y lo contrario sucedió en el caso de Conservex, lo cual puede deberse a que esta substancia tenga un efecto tóxico sobre el embrión de la semilla.

Con respecto a la micoflora, los distintos tratamientos presentaron una diferencia notable con el testigo, ya que éste, como podrá observarse en la Tabla 9 fue severamente atacado por hongos del grupo *A. glaucus*.

La Tabla 10 nos muestra los resultados del segundo muestreo realizado a los 60 días de almacenamiento. En todos los tratamientos hubo una reducción notable en el porcentaje de germinación, y una presencia considerable de *A. glaucus* y *A. ruber*, por lo que se concluye que los tratamientos no fueron efectivos.

III) RESULTADOS DEL ALMACENAMIENTO A 75% DE HUMEDAD RELATIVA Y 27°C

En esta humedad relativa se tomaron dos muestreos, a los 60 y a los 120 días.

A los 60 días, Tabla 11, la germinación se conservó bastante alta, entre 82 y 67%, y nuevamente se observa que la concentración máxima del propionato de sodio y la mínima de Conservex corresponden a la más alta germinación. El contenido de humedad del grano se elevó resultando de 15.0 a 15.5%, lo cual corresponde a la humedad en equilibrio reportada por Zenteno y García (1975) para granos de triticale almacenados en una humedad relativa de 75%. Los

TABLA 9

CONTENIDO DE HUMEDAD, GERMINACION Y MICROFLORA EN GRANOS DE TRITICALE (YORENIE), ALMACENADOS DURANTE 30 DIAS A 28°C, 85% DE HUMEDAD RELATIVA Y TRATADOS CON DIFERENTES FUNGICIDAS.

TRATAMIENTO	CONTENIDO DE HUMEDAD (%)		GERMINACION (%)		% DE GRANOS INVADIDOS POR HONGOS.							
	I.	F.	I.	F.	ALTERNARIA SPP.		PENICILLIUM SPP.		A. GLAUCUS.		A. RUBER.	
					I.	F.	I.	F.	I.	F.	I.	F.
1	10.8	17.8	92	57	4	0	1	0	0	43	0	47
2	10.8	17.9	92	66	4	11	1	0	0	0	0	0
3	10.8	18.0	92	71	4	0	1	0	0	0	0	0
4	10.8	18.0	92	73	4	0	1	6	0	0	0	0
5	10.8	18.0	92	80	4	0	1	0	0	0	0	0
6	10.8	18.2	92	74	4	0	1	0	0	7	0	0
7	10.8	18.3	92	63	4	0	1	0	0	0	0	0

TRATAMIENTOS: 1) TESTIGO.

2) 1500 PPM. DE PROPIONATO DE SODIO.

3) 2000 PPM. DE PROPIONATO DE SODIO.

4) 3000 PPM. DE PROPIONATO DE SODIO.

5) 1500 PPM. DE CONSERVEX.

6) 2000 PPM. DE CONSERVEX.

7) 3000 PPM. DE CONSERVEX.

TABLA 10

CONTENIDO DE HUMEDAD.GERMINACION Y MICOFLORA EN GRANOS DE TRITICALE (YOREME), ALMACENADOS DURANTE 60 DIAS A 28°C, 85% DE HUMEDAD RELATIVA Y TRATADOS CON DIFERENTES FUNGICIDAS.

TRATAMIENTO	CONTENIDO DE HUMEDAD (%)		GERMINACION (%)		% DE GRANOS INVADIDOS POR HONGOS.							
	I.	F.	I.	F.	<u>ALTERNARIA SPP.</u>		<u>PENICILLIUM SPP.</u>		<u>A. GLAUCUS.</u>		<u>A. RUBER.</u>	
					I.	F.	I.	F.	I.	F.	I.	F.
1	10.8	17.9	92	5	4	0	1	0	0	75	0	23
2	10.8	18.3	92	8	4	0	1	0	0	60	0	36
3	10.8	18.2	92	5	4	0	1	0	0	79	0	17
4	10.8	18.1	92	4	4	0	1	10	0	63	0	33
5	10.8	18.0	92	8	4	0	1	2	0	85	0	25
6	10.8	18.3	92	7	4	0	1	2	0	82	0	10
7	10.8	18.5	92	7	4	0	1	0	0	24	0	75

TRATAMIENTOS: 1) TESTIGO.

2) 1500 PPM. DE PROPIONATO DE SODIO.

3) 2000 PPM. DE PROPIONATO DE SODIO.

4) 3000 PPM. DE PROPIONATO DE SODIO.

5) 1500 PPM. DE CONSERVEX.

6) 2000 PPM. DE CONSERVEX.

7) 3000 PPM. DE CONSERVEX.

TABLA 11

CONTENIDO DE HUMEDAD, GERMINACION Y MICOFLORA DE GRANOS DE TRITICALE (YOREME), ALMACENADOS DURANTE 60 DIAS A 27°C, 75% DE HUMEDAD RELATIVA Y TRATADOS CON DIFERENTES FUNGICIDAS.

TRATAMIENTO	CONTENIDO DE HUMEDAD (%)		GERMINACION (%)		% DE GRANOS INVADIDOS POR HONGOS.					
	I.	F.	I.	F.	ALTERNARIA SPP.		PENICILLIUM SPP.		A. GLAUCUS.	
					I.	F.	I.	F.	I.	F.
1	10.8	15.1	92	72	4	0	1	30	0	0
2	10.8	15.2	92	74	4	0	1	0	0	1
3	10.8	15.3	92	77	4	0	1	2	0	0
4	10.8	15.5	92	82	4	25	1	0	0	4
5	10.8	15.0	92	80	4	0	1	0	0	2
6	10.8	15.0	92	74	4	11	1	1	0	0
7	10.8	15.4	92	67	4	0	1	0	0	6

TRATAMIENTOS: 1) TESTIGO.

2) 1500 PPM. DE PROPIONATO DE SODIO.

3) 2000 PPM. DE PROPIONATO DE SODIO.

4) 3000 PPM. DE PROPIONATO DE SODIO.

5) 1500 PPM. DE CONSERVEX.

6) 2000 PPM. DE CONSERVEX.

7) 3000 PPM. DE CONSERVEX.

hongos encontrados en este muestreo se presentaron en bajos porcentajes y corresponden a especies de los géneros *Alternaria*, *Penicillium* y *Aspergillus*.

En el segundo muestreo realizado a los 120 días (Tabla 12), hubo una baja global de la germinación, tanto en los granos tratados como en el testigo. La micoflora aumentó en el testigo y en los tratamientos correspondientes a las dosis mínimas de propionato de sodio, en cambio, con dosis más elevadas de dicha substancia sí se produjo una inhibición adecuada de los hongos. Comparativamente, con Conservex, se obtuvo una mejor respuesta, ya que aun en dosis pequeñas, dicha substancia evitó en forma satisfactoria el desarrollo de hongos.

Por los resultados obtenidos en los diferentes experimentos con triticale, se puede suponer que la pérdida de germinación del grano, se debe a procesos fisiológicos del grano, lo cual ha sido ya también observado por Zenteno y García (1975).

IV) RESULTADOS DE LA VALORACIÓN DEL NÚMERO DE ESPORAS POR GRAMO DE GRANO

Esta prueba se llevó al cabo con los granos de triticale de la variedad Yoreme almacenados durante 4 meses en una humedad relativa de 75%, y después de haber sido refrigerados durante una semana.

Los resultados obtenidos variaron con respecto a los de la prueba anterior (Tabla 12), en el sentido de que en esta prueba el hongo más abundante fue *A. restrictus*, que no había sido encontrado previamente, lo que pudo deberse a una serie de factores no esclarecidos en el presente trabajo.

En esta prueba se observa una diferencia notable entre el testigo y los diversos tratamientos en los que respecta a la presencia de hongos, ya que en el primero, el número de esporas viables por gramo de grano es muy elevado en comparación con el valor obtenido en los tratamientos (Tabla 13). De dichos tratamientos, el más efectivo fue el de Conservex a una concentración de 3,000 ppm; sin embargo, dicha substancia aun a dosis menores inhibió el desarrollo de algunas especies de *Aspergillus* y *Penicillium*.

CONCLUSIONES

1) De los tres fungicidas utilizados en las pruebas de almacenamiento a 97.5% de humedad relativa, Tecto 60 fue el que mejor controló el desarrollo de hongos en los granos, tanto de maíz como de triticale. Dicho fungicida inhibió el crecimiento de hongos del género *Aspergillus* y algunos del género *Penicillium*. Ni el propionato de sodio ni el Conservex a la concentración utilizada (1,700 ppm), presentaron efecto fungistático o fungicida alguno.

2) En la prueba de almacenamiento de granos de triticale en 85% de humedad relativa, tanto el propionato de sodio como el Conservex fueron efectivos durante

TABLA 12

CONTENIDO DE HUMEDAD, GERMINACION Y MICROFLORA DE GRANOS DE TRITICALE (YOREME), ALMACENADOS DURANTE 120 DIAS A 27°C, 75% DE HUMEDAD RELATIVA Y TRATADOS CON DIFERENTES FUNGICIDAS.

TRATAMIENTO	CONTENIDO DE HUMEDAD (%)		GERMINACION (%)		% DE GRANOS INVADIDOS POR HONGOS.							
	I.	F.	I.	F.	<u>A. GLAUCUS.</u>		<u>PENICILLIUM SPP.</u>					
					I.	F.	I.	F.				
1	10.8	15.9	92	28	0	63	0	18	1	3	0	1
2	10.8	15.5	92	31	0	23	0	6	1	0	0	0
3	10.8	15.7	92	28	0	24	0	11	1	1	0	0
4	10.8	15.7	92	21	0	6	0	0	1	1	0	1
5	10.8	15.7	92	41	0	3	0	3	1	2	0	0
6	10.8	15.8	92	31	0	4	0	0	1	0	0	0
7	10.8	15.7	92	29	0	0	0	0	1	0	0	0

TRATAMIENTOS: 1) TESTIGO.

2) 1500 PPM. DE PROPIONATO DE SODIO.

3) 2000 PPM. DE PROPIONATO DE SODIO.

4) 3000 PPM. DE PROPIONATO DE SODIO

5) 1500 PPM. DE CONSERVEX.

6) 2000 PPM. DE CONSERVEX.

7) 3000 PPM. DE CONSERVEX.

TABLA 13

NUMERO DE COLONIAS POR GRAMO DE TRITICALE (YOREME). ALMACENADO DURANTE 120 DIAS, A 27°C, 75% DE HUMEDAD RELATIVA Y TRATADOS CON DIFERENTES FUNGICIDAS.

TRATAMIENTO	GERMINACION (%)	NUMERO DE COLONIAS (EXPRESADO EN MILES).				
		<u>A. GLAUCUS.</u>	<u>A. AMSTELODAMI.</u>	<u>A. RESTRICTUS.</u>	<u>A. RUBER.</u>	<u>PENICILLIUM SPP.</u>
1	28	150	0	1950	0	1620
2	31	0	105	190	0	15
3	28	0	0	10.5	1.5	5
4	21	0	4.5	9.5	.7	3
5	41	0	0	11	1	0
6	31	0	0	3.5	0	0
7	29	0	0	1.5	0	0

TRATAMIENTOS: 1) TESTIGO.

2) 1500 PPM. DE PROPIONATO DE SODIO.

3) 2000 PPM. DE PROPIONATO DE SODIO.

4) 3000 PPM. DE PROPIONATO DE SODIO.

5) 1500 PPM. DE CONSERVEX.

6) 2000 PPM. DE CONSERVEX.

7) 3000 PPM. DE CONSERVEX.

(LAS CIFRAS EXPRESADAS SON EL RESULTADO PROMEDIO DE DOS REPETICIONES).

30 días, al término de los cuales se observó una franca invasión micótica de los granos.

3) En la prueba de almacenamiento en 75% de humedad relativa, ambos fungicidas (propionato de sodio y Conservex), a su concentración más elevada, usada en este trabajo (3,000 ppm, protegieron satisfactoriamente a los granos de triticale durante 4 meses, de ser invadidos por hongos.

4) Es evidente que tanto el contenido de humedad del grano como la humedad relativa bajo la cual es almacenado, guardan una relación al parecer inversamente proporcional, con la efectividad del fungicida.

5) La dosis mínima inhibitoria (DMI), sólo fue determinada para Conservex y propionato de sodio, en las pruebas de almacenamiento a 85 y 75% de HR a 27°C. En la primera prueba, dicha DMI, fue de 1,500 ppm para ambos fungicidas, siendo esta dosis protectora para un periodo de 30 días. En 75% de HR, la DMI de las dos substancias, a una concentración de 2,000 ppm, controló el crecimiento fungoso durante 2 meses, y en dosis de 3,000 ppm, durante 4 meses.

6) Al parecer ninguna de las dosis de los diferentes fungicidas empleadas, afectaron en forma importante la germinación de los granos, ya que ésta fue siempre similar a la de los testigos.

7) Por lo que se refiere a triticale, se deduce que la pérdida de germinación, probablemente no es debida al daño de los hongos, sino que se encuentra relacionada con otros factores no determinados en este estudio.

8) Tecto 60 es un fungicida que parece tener una actividad selectiva sobre especies del género *Aspergillus*, no así sobre algunas especies de *Penicillium* y *Alternaria* que mostraron resistencia a dicha substancia.

9) De los fungicidas empleados, los que demostraron ser más efectivos fueron Tecto 60 y Conservex. El primero de mayor potencia y por lo tanto requiriendo una menor dosis efectiva; el segundo, siendo más débil requerirá una mayor cantidad para su acción. Sin embargo, a pesar de esta aparente discrepancia, ambos son comercialmente prácticos, ya que la cantidad requerida de cada uno de ellos se nivela con el precio de los mismos.

LITERATURA CITADA

- ALLEN, M. P. y K. GOTTLIEB, 1970. Mechanisms of action of the fungicide thiabendazole 2 (thiazolyl) benzimidazole. *Appl. Microbiol.* 20 (6): 919-926.
- CHEMICAL RUBBER COMPANY, 1972. *Handbook of food additives*. 2a. ed. CRC Press. Nueva York, 875 p.
- AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS, 1962. *Cereal laboratory methods*. 7a. ed. American Association of Cereal Chemists. St. Paul, 528 p.
- BARTON, L. V., 1961. *Seed preservation and longevity*. Interscience. Nueva York, 216 p.
- BERNIER, C. C., 1973. Chemical control of fungi and bacteria in stored high moisture feed grains. *Annals Technol. Agric.* 22 (4): 587-593.
- BORLAUGH, N. E., 1974. La producción de alimentos a nivel mundial para el futuro. *Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. Traducciones y Sobretiros* No. 9. México, D. F., 7 p.
- CENTRO INTERNACIONAL DE MEJORAMIENTO DE MAÍZ Y TRIGO, 1972. *Informe anual sobre el mejoramiento de maíz y trigo*. CIMMYT. México, D. F., 152 p.
- CHRISTENSEN, C. M., 1957. Deterioration of stored grain by fungi. *Bot. Rev.* 23: 108-134.

- CHRISTENSEN, C. M. y H. H. KAUMANN, 1969. *Grain storage. The role of fungi in quality loss*. University of Minnesota Press. Mineápolis, 153 p.
- CHRISTENSEN, C. M. y L. C. LÓPEZ, 1962. Daños que causan en México los hongos a los granos almacenados. *Secretaría de Agricultura y Ganadería. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Folleto Técnico No. 44*, 29 p.
- , 1963. Pathology of stored seeds. *Proc. Int. Seed Testing Assoc.* 28 (4): 701-711.
- , 1964. Estudio sobre el almacenamiento de semillas de sorgo. *Agríc. Téc. México*. 2: 156-160.
- CLARKE, J. H., R. A. FROBISH, K. E. HARSHBARGER y R. G. BERRING, 1973. Feeding value of dry corn, ensiled high moisture corn and propionic acid treated high moisture corn with hay or haylage for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 56 (12): 1531-1539.
- CLIFTON, F. y W. HUSA, 1954. Antimolding agents for syrups. *J. Am. Pharm. Assoc.* 43: 438-440.
- COUTIÑO BELLO, B., 1969. *Estudio del efecto de ciertas condiciones de almacenamiento sobre la viabilidad de semillas de cebolla (Allium cepa) y coliflor (Brassica oleracea)*. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. U. N. A. M. México, D. F., 45 p.
- DRYSDALE, A. D., 1973. The use of propionic acid for moist preservation in Britain. *Annals Technol. Agric.* 22 (4): 615-619.
- DURHAM, D., 1975. Here's a look at several types of silage additives. *Hoards' Dairym.* 120 (15): 906-907.
- ELLIOT, J. M., D. H. OCHUE G. S. MAYER y J. K. LUSEI, 1965. Effect of acetate and propionate on the utilization of energy of growing fattening lambs. *J. Nutrition* 87: 233-238.
- ERKSTROM, N., 1973. Preservation of moist feed by treatment with organic acids. *Annals Technol. Agric.* 22 (4): 621-629.
- GARCÍA AGUIRRE, M. G., 1971. *Factores que afectan la germinación de semillas de girasol (Helianthus annuus L.) durante su almacenamiento*. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. U. N. A. M. México, D. F., 33 p.
- GUTIÉRREZ LOMBARDO, R., 1975. *Análisis comparativo de la germinación de semillas de maíz (Zea mays L.) almacenado bajo condiciones de alta humedad y temperatura*. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. U. N. A. M. México, D. F., 78 p.
- HESELITINE, W., 1952. Sodium propionate and its derivatives as bacteriostatics and fungistatics. *J. Pharm. Pharmacol.* 4: 577-581.
- HORTON, C. y W. HOLMES, 1975. Feeding value of whole and rolled propionic acid treated high moisture corn for beef cattle. *J. Anim. Sci.* 40 (4): 706-713.
- INGRAM, M. y F. S. OTTAWAY, 1959. The preservation action of acid substances in food. *Chem. Industry 1*: 154-163.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION, 1966. International rules for seed testing. *Proc. Int. Seed Testing Assoc.* 31. 152 p.
- MC CULLOUGH, M. E., 1975. Silage additives good or bad. *Hoards' Dairym.* 120 (10): 638-639.
- MORENO MARTÍNEZ, E. y C. M. CHRISTENSEN, 1970. Efecto de la humedad y hongos sobre la viabilidad de maíz almacenado. *Rev. lat.-amer. Microbiol.* 12 (2): 115-121.
- , 1972. Fungus flora of black and white pepper (*Piper nigrum* L.) *Rev. lat.-amer. Microbiol.* 14: 19-22.
- PFIZER INCORPORATED, 1974. *Food preservatives. Sorbistat, sorbistat-K, mycoban and sodium benzoate*. Pfizer Inc. Nueva York, 22 p.
- POISSON, J. B. CAHAGNIER, 1972. Aspect microbiologique de la conservation du maïs grain humide par l'acide propionique. *Annals Technol. Agric.* 21 (2): 99-121.
- , 1973. Problème de la stabilisation de la microflore des grains humides par les acides organiques. *Annals Technol. Agric.* 22 (4): 267-586.
- RAMÍREZ GENELI, M., 1974. *Almacenamiento y conservación de granos y semillas*. 2a. ed. CECSA. México, D. F., 108 p.
- RIDDEL, R. W., 1950. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. *Mycologia* 42: 265-270.
- REDWAY, R., 1912. *Color standards and nomenclature*. Public. por el autor. Washington, D. C., 43 p.
- SILOS, J. S., 1975. El sector agrícola. Comportamiento y estrategia de desarrollo. *Comisión Nacional Coordinadora del Sector Agropecuario. Nota Técnica No. 6*. 135 p.

- SINGH-VERMA, S. B., 1973. Die Bedeutung der Propionsäure in der Konservierung von Feuchgetreide und anderen Futtermitteln. *Annals Technol. Agric.* 22 (4): 663-674.
- VELÁZQUEZ MÉNDEZ, F., 1975. *Efecto de fungicidas sobre hongos durante el almacenamiento de granos de tres variedades criollas de maíz*. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. U. N. A. M. México, D. F., 33 p.
- WALDFORD, E. y A. ANDERSEN, 1945. Propionates control microbial growth in fruits and vegetables. *Food Industries Junio*. Pp. 172-184.
- WEINKE, K. E., J. L. LAUBER, B. W. GREENWALD y F. A. PREISER, 1969. Thiabendazole, a new systemic fungicide.
- WINSTON, P. W. y D. H. BATES, 1960. Saturated solutions for the control of humidity in biological research. *Ecology* 41: 232-237.
- ZENTENO-ZEVADA, M., 1975. Micoflora y germinación de granos de *Triticale* en pruebas de almacenamiento. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 9: 103-111.
- ZENTENO-ZEVADA, M. y G. GARCÍA-AGUIRRE, 1975. Efecto del thiabendazole en la micoflora de granos de *Triticale* en pruebas de almacenamiento. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 9: 113-129.