

MICROFLORA Y GERMINACION DE GRANOS DE *Triticale* EN PRUEBAS DE ALMACENAMIENTO

Por Martha Zenteno-Zevada*

INTRODUCCION

El cereal llamado *Triticale* es un género artificial formado por hombres de ciencia, mediante cruza de trigo con centeno. Actualmente se han producido dos "especies" de *Triticale*, hexaploide por cruza de trigo tetraploide con centeno, y *Triticale* octaploide por cruza de trigo hexaploide con centeno.

A partir del año de 1937 se ha hecho una gran cantidad de investigación encaminada a la obtención de *Triticale* comercial que pueda competir o aun superar a otros cereales como trigo, centeno, avena, etc. En América el primer programa de investigación y mejoramiento en *Triticale* se inició en la Universidad de Manitoba, Canadá, en el año de 1954. En México a partir de 1958, el Dr. Norman E. Borlaug ha tenido gran interés por los trabajos en este cereal y en el año de 1964 fue establecido un programa cooperativo sobre mejoramiento de *Triticale* entre Plant Science Department de la Universidad de Manitoba y el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), que continúa hasta la fecha (Zillinsky y Borlaug, 1971); desde 1968 el director del programa es el Dr. F. J. Zillinsky.

Al transformar *Triticale* en un cereal de importancia económica cuyas características lo hagan útil como alimento para los animales y el hombre, seguramente surgirá la necesidad de almacenar el grano por distintos períodos de tiempo y lo más probable es que se presenten problemas tal como sucede con otros granos y semillas.

En la literatura no existen trabajos respecto a la deterioración de *Triticale* en el almacén. Aparentemente el presente estudio es el primero de este tipo y tiene como objetivo recabar una información preliminar que suministre algunos datos sobre el comportamiento del mencionado grano en diferentes condiciones de almacenamiento, los que servirán como base para futuras investigaciones en problemas similares del mencionado cereal.

* Instituto de Biología, Departamento de Botánica, Laboratorio de Fitopatología. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

MATERIAL Y METODOS

Los granos de *Triticale* empleados en este estudio han sido proporcionados por el Centro Internacional para el Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). Las pruebas iniciales hechas en cada una de las muestras empleadas fueron: a) por ciento de germinación y b) micoflora.

En la determinación del por ciento de germinación fue utilizado el método que recomiendan Christensen y López (1962), que consiste en envolver los granos y semillas en toallas de papel humedecidas con agua, las cuales enseguida son enrolladas y guardadas dentro de bolsas de polietileno. Arregladas en esa forma se dejan a temperatura ambiente y se cuentan los granos germinados al cabo de 5 a 8 días. En estas pruebas se utilizaron 100 granos por repetición en cada variedad y muestreo.

La micoflora inicial fue determinada por el siguiente método: desinfección superficial del grano con hipoclorito de sodio al 2% durante un minuto, lavados enseguida con agua esterilizada, y después colocados en cajas de Petri con MSA (Malta 2%, sal 6% y agar 2%); para cada muestra se usaron 100 granos y los resultados son expresados en por ciento de granos invadidos por hongos, después de incubarlos durante 4 a 5 días a 25° C de temperatura.

Los granos fueron almacenados en 3 diferentes humedades relativas (HR), 75, 80 y 85%, para lo cual fueron empleadas soluciones sobresaturadas de cloruro de sodio (Na Cl), sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ y cloruro de potasio (K Cl), respectivamente (Winston y Bates, 1960). Cada solución fue colocada dentro de cajas de plástico transparente de $27 \times 38 \times 16$ cm.

Los granos fueron puestos en pequeños recipientes en forma de cazuelas también de material plástico transparente y con perforaciones, que estuvieron colocadas dentro de cada caja sobre una base de plástico, de manera que no estuvieran en contacto directo con la solución de sal. Para cada muestra se emplearon 2 recipientes (2 repeticiones) por tratamiento. Las cajas arregladas en la forma descrita fueron tapadas y selladas con cinta de plástico y metidas en una incubadora a 25°C. Se utilizó la flora natural del grano sin hacer inoculaciones con esporas de hongos.

En cada muestreo se determinó el por ciento de granos germinados y la micoflora, usando para dichas determinaciones las mismas técnicas descritas en las pruebas preliminares. Los períodos de tiempo para muestrear el material variaron de acuerdo con la humedad relativa utilizada; en la de 75% 77, 126 y 189 días; en 80% a los 56, 112 y 175 días y por último en 85% de humedad relativa a los muestreos fueron hechos a los 35, 77 y 105 días.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados aparecen en las Tablas 1, 2 y 3 y son un promedio de las 2 repeticiones en cada variedad usada; además de las variedades de *Triticale* fue utilizada una de trigo (Tobari) que sirvió como testigo.

En el tratamiento con humedad relativa de 75% (Tabla 1), desde el primer muestreo a los 77 días comenzó a descender la germinación así como los

TABLA 1

GERMINACION Y MICOFLORA EN GRANOS DE *Triticale* Y TRIGO ALMACENADOS EN 75% DE HUMEDAD RELATIVA Y 25°C DE TEMPERATURA

No.	Variedad Nombre	Germina- ción ori- ginal %	Germinación final %	Días de almace- namiento	<i>Alternaria</i> spp. orig. final		MICOFLORA %					
							<i>Fusarium</i> spp. orig. final		<i>A. glaucus</i> orig. final		<i>A. tamaritii</i> orig. final	
1	Bruin	96	87	77	51	21	4	2	0	70	0	2
3	Armadillo	80	72	77	43	3	6	0	0	63	0	0
4	Armadillo T "S"	88	78	77	38	10	5	2	0	37	0	0
6	Armadillo T "S"	98	89	77	43	8	3	9	0	35	0	0
10	Tobari (trigo)	100	96	77	36	12	9	8	0	6	0	0
11	Armadillo "S"	93	77	77	59	10	7	2	0	68	0	0
1333	Armadillo "S"	94	83	77	43	10	3	11	0	75	0	0
1	Bruin	96	55	126	51	2	4	0	0	97	0	0
3	Armadillo	80	51	126	43	2	6	0	0	88	0	0
4	Armadillo T "S"	88	55	126	38	2	5	2	0	80	0	0
6	Armadillo T "S"	98	44	126	43	3	3	2	0	94	0	0
10	Tobari (trigo)	100	96	126	36	9	9	2	0	62	0	0
11	Armadillo "S"	93	51	126	59	6	7	6	0	95	0	0
1333	Armadillo "S"	94	41	126	43	14	3	2	0	49	0	0
1	Bruin	96	32	189	51	0	4	0	0	98	0	0
3	Armadillo	80	34	189	43	0	6	0	0	98	0	0
4	Armadillo T "S"	88	27	189	38	0	5	0	0	98	0	0
6	Armadillo T "S"	98	40	189	43	0	3	0	0	96	0	0
10	Tobari (trigo)	100	90	189	36	0	9	0	0	64	0	0
11	Armadillo "S"	93	32	189	59	1	7	0	0	98	0	0
1333	Armadillo "S"	94	26	189	43	0	3	0	0	100	0	0

Según la prueba de Fisher fueron encontradas las siguientes diferencias: A los 77 días: no hay diferencia significativa al 1% ni al 5% entre variedades de *Triticale*, ni de éstas con trigo. A los 126 días: no hay diferencia significativa, 1% y 5%, entre variedades de *Triticale*, pero sí entre éstas y trigo. A los 189 días: lo mismo que a los 126.

TABLA 2

GERMINACION Y MICROFLORA EN GRANOS DE *Triticale* Y TRIGO ALMACENADOS EN 80% DE HUMEDAD RELATIVA Y 25°C DE TEMPERATURA

No.	Variedad Nombre	Germinación original %	Germinación final %	Días de almacenamiento	<i>Alternaria</i> spp. orig. final		MICROFLORA %					
							<i>Fusarium</i> spp. orig. final		<i>A. glaucus</i> orig. final		<i>A. tamarii</i> orig. final	
1	Bruin	96	82	56	51	34	4	2	0	55	0	0
3	Armadillo	80	69	56	43	19	6	0	0	63	0	0
4	Armadillo T "S"	88	73	56	38	36	5	0	0	64	0	3
6	Armadillo T "S"	98	72	56	43	24	3	4	0	63	0	0
10	Tobari (trigo)	100	89	56	36	31	9	4	0	33	0	0
11	Armadillo "S"	93	82	56	59	48	7	5	0	46	0	0
1333	Armadillo "S"	94	84	56	43	31	3	6	0	69	0	0
1	Bruin	96	31	112	51	0	4	1	0	100	0	0
3	Armadillo	80	31	112	43	2	6	0	0	100	0	0
4	Armadillo T "S"	88	34	112	38	3	5	1	0	100	0	4
6	Armadillo T "S"	98	33	112	43	5	3	0	0	100	0	16
10	Tobari (trigo)	100	49	112	36	1	9	1	0	100	0	0
11	Armadillo "S"	93	28	112	59	10	7	4	0	97	0	1
1333	Armadillo "S"	94	21	112	43	10	3	3	0	100	0	0
1	Bruin	96	2	175	51	0	4	0	0	100	0	2
3	Armadillo	80	7	175	43	0	6	0	0	100	0	1
4	Armadillo T "S"	88	3	175	38	0	5	0	0	100	0	1
6	Armadillo T "S"	98	7	175	43	0	3	0	0	100	0	0
10	Tobari (trigo)	100	25	175	36	0	9	1	0	100	0	1
11	Armadillo "S"	93	13	175	59	0	7	1	0	100	0	1
1333	Armadillo "S"	94	4	175	43	0	3	0	0	100	0	0

Según la prueba de Fisher fueron encontradas las siguientes diferencias. A los 56 días: no hay diferencia significativa entre variedades de *Triticale* ni de éstas con trigo. A los 112 días: lo mismo que a los 56 días. A los 175 días: sin datos.

TABLA 3

GERMINACION Y MICOFLORA EN GRANOS DE *Triticale* Y TRIGO ALMACENADOS EN 80% DE HUMEDAD RELATIVA Y 25°C DE TEMPERATURA

No.	Variedad Nombre	Germinación original %	Germinación final %	Días de almacenamiento	<i>Alternaria</i> spp. orig. final		MICOFLORA %					
					<i>Fusarium</i> spp. orig. final		<i>A. glaucus</i> orig. final		<i>A. tamarii</i> orig. final			
1	Bruin	96	89	35	51	26	4	6	0	21	0	0
3	Armadillo	80	66	35	43	25	6	4	0	31	0	0
4	Armadillo T "S"	88	78	35	38	19	5	8	0	29	0	0
6	Armadillo T "S"	98	77	35	43	13	3	4	0	57	0	0
10	Tobari (trigo)	100	97	35	36	31	9	6	0	12	0	0
11	Armadillo "S"	93	86	35	59	18	7	2	0	52	0	0
1333	Armadillo "S"	94	83	35	43	26	3	1	0	52	0	0
1	Bruin	96	56	77	51	21	4	0	0	74	0	0
3	Armadillo	80	38	77	43	8	6	0	0	87	0	0
4	Armadillo T "S"	88	46	77	38	22	5	2	0	78	0	0
6	Armadillo T "S"	98	33	77	43	28	3	0	0	76	0	0
10	Tobari (trigo)	100	73	77	36	27	9	4	0	75	0	0
11	Armadillo "S"	93	40	77	59	22	7	4	0	84	0	0
1333	Armadillo "S"	94	33	77	43	26	3	2	0	80	0	0
1	Bruin	96	40	105	51	3	4	19	0	86	0	4
3	Armadillo	80	24	105	43	3	6	14	0	100	0	0
4	Armadillo T "S"	88	27	105	38	0	5	13	0	99	0	16
6	Armadillo T "S"	98	34	105	43	2	3	11	0	100	0	13
10	Tobari (trigo)	100	53	105	36	5	9	7	0	91	0	0
11	Armadillo "S"	93	26	105	59	0	7	6	0	98	0	0
1333	Armadillo "S"	94	19	105	43	4	3	23	0	99	0	0

Según la prueba de Fisher fueron encontradas las siguientes diferencias. A los 35 días: no hay diferencia significativa entre variedades de *Triticale*; sí hay entre éstas y trigo. A los 77 días: lo mismo que a los 35. A los 105 días: sin datos.

hongos encontrados en la micoflora original y aparecieron colonias de *Aspergillus* del grupo *glaucus*, pudiéndose asimismo observar que el trigo conservó su alta germinación y presentó también pérdida de hongos originales y baja cantidad de hongos del grupo *A. glaucus*. En los segundo y tercer muestreos, a los 126 y 189 días, continúa la disminución en la germinación, y la micoflora original aumenta, así como el porcentaje de hongos del grupo *A. glaucus*, el que llega a ser de 100% en la var. 1333. Sin embargo, el trigo conserva su alta germinación hasta el final de la prueba, aunque la cantidad de hongos del grupo *A. glaucus* en el mismo es menor que en las variedades de *Triticale* y, como en éstas, la micoflora original ha desaparecido. A partir del segundo muestreo se presenta diferencia entre el por ciento de germinación de trigo 96% a los 126 días en comparación con las variedades de *Triticale* que fue de 41 a 55%; esta misma situación se conservó hasta el final de la prueba a los 189 días en que el trigo conserva una alta germinación de 90%, en cambio en las variedades de *Triticale* baja notablemente y oscila entre 26 y 40%.

En la prueba con humedad relativa de 80% (Tabla 2), se observan los mismos resultados que en el anterior tratamiento; pero en éste, la cantidad de hongos del grupo *A. glaucus* subió bruscamente a 100% a partir del segundo muestreo a los 112 días; aparecen también algunas colonias de *A. tamaritii* Kita y ya se encuentran pocos representantes de la micoflora original. En el tercer muestreo a los 175 días, la germinación es sumamente baja tanto en las variedades de *Triticale*, de 2 a 13%, como en la de trigo, aunque en éste es menos baja que en aquéllas, 25%.

Por lo que respecta a la humedad relativa de 85%, (Tabla 3), la baja en la germinación fue más rápida que en las otras humedades ensayadas, lo que se puede observar desde el primer muestreo a los 35 días, excepto el trigo que conserva alta germinación. La germinación en este muestreo, 35 días en 85% de humedad relativa, es muy semejante a la del primero a los 77 días en la humedad relativa de 75%, siendo del trigo 96% de germinación a los 77 días en humedad relativa de 75% y de 97% a los 35 días en humedad relativa de 85%, y los porcentajes de germinación para las variedades de *Triticale* de 72 a 89% en humedad relativa de 75% a los 77 días y de 66 a 89% a los 35 días en humedad relativa de 85%.

La micoflora original comienza a descender a los 35 días en humedad relativa de 85% y aparecen colonias del grupo *A. glaucus*. En los dos muestreos posteriores, a los 77 y 105 días baja más la germinación, aumentan los hongos del grupo *A. glaucus* y aparece *Aspergillus tamaritii*. Posiblemente por una contaminación, al hacer los aislamientos en el último muestreo, sube el por ciento de *Fusarium* spp.

Los resultados obtenidos en este trabajo se pueden resumir en una disminución de la germinación, así como de la micoflora inicial y aumento de los llamados "hongos de almacén", del género *Aspergillus*, al aumentar el tiempo de almacenamiento y la humedad relativa a que fueron sometidos. Estos resultados concuerdan con lo reportado por otros autores en diferentes ma-

teriales; por ejemplo López y Christensen (1962), en frijol encuentran una disminución en el por ciento de semillas y aumento de "hongos de almacén" en relación con el mayor contenido de humedad (en varias humedades relativas) y más largo tiempo de almacenamiento, Christensen y López (1965) presentan la misma relación en semillas de arroz sin pulir y Sánchez Domínguez *et al* (1971), estudiando almacenamiento de soya obtienen resultados similares.

Aparentemente no hubo diferencia notable en los resultados entre las variedades de *Triticale*, pero sí entre éstas y la de trigo. Esto se manifestaba en forma clara en la prueba de almacenamiento con humedad relativa de 75%. Es posible que sí existan diferencias a las condiciones de almacenamiento entre variedades de *Triticale*; pero sería conveniente probar un número mayor de dichas variedades para ponerlas en evidencia, como lo han hecho Moreno Martínez y Christensen (1971) en maíz.

El desarrollo de las diferentes especies de hongos que invaden a los granos y semillas durante el almacenamiento, está sujeto a la presencia de algunos factores entre los que se cuenta el contenido de humedad del producto, el que a su vez tiene un punto de equilibrio con la humedad relativa. Hay especies de *Aspergillus* que más a menudo invaden los productos almacenados, es el caso del grupo *A. glaucus* (Christensen, 1957), siendo estos los hongos que en abundancia, y casi en forma exclusiva fueron encontrados en las pruebas de *Triticale* que aquí se presentan. Sin embargo, en los tratamientos con humedad relativa de 80% a partir de los 112 días y en 85% a los 105 días, aparecen colonias de *Aspergillus tamaris*, especie que pertenece al grupo *Aspergillus flavus*, lo que indica que el contenido de humedad en el grano de *Triticale* fue incrementado en esas humedades relativas, ya que estos hongos requieren un contenido de humedad del sustrato (grano), al menos entre 18 y 19% o más alto, para prosperar (Christensen y Kaufmann, 1969), y de acuerdo también con los mismos autores, los hongos del grupo *A. glaucus* se encuentran presentes en trigo y maíz almacenados con un contenido de humedad de 14.5% a 17%.

Después de llevar a cabo los análisis estadísticos con la prueba de Fisher, de los datos obtenidos en por ciento de germinación de granos, se encontró que no hay diferencia significativa entre variedades de *Triticale*, ni entre éstas con el trigo, al 1% y 5%, en 75% de humedad relativa a los 77 días de prueba y en humedad relativa de 80% a los 56 y los 112 días. A los mismos niveles y con la misma prueba de Fisher no hay diferencia significativa en la germinación entre variedades de *Triticale* pero sí entre éstas con trigo, en 75% de humedad relativa a los 126 y 189 días y en 85% de humedad relativa a los 35 y a los 77 días. En el tercer muestreo de 80% y 85% de humedad relativa no se hicieron cálculos, debido a que la germinación fue ya demasiado baja.

Según los resultados obtenidos en estas pruebas, el trigo se comporta bien, almacenado en 75% de humedad relativa conservando un alto poder de germinación a los 189 días a pesar del alto contenido de hongos, no así las varie-

dades de *Triticale*, en las que se nota una diferencia notable respecto al trigo, que se acentúa a partir del segundo muestreo. Posiblemente otras variedades de *Triticale* posean esta característica del trigo, por lo que se sugiere probar un mayor número de las mismas.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Miguel Ulloa Sosa la lectura y sugerencias en el manuscrito, así como la traducción del resumen al inglés.

LITERATURA CITADA

- Christensen, C. M., 1957. Deterioration of stored grains by fungi. *The Botanical Review* 23 (2): 108-134.
- y H. H. Kaufmann, 1969. *Grain Storage*. University of Minnesota Press, Minneapolis.
- y L. C. López, 1962. Daños que causan en México los hongos de granos almacenados. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. INIA, S.A.G. Folleto Técnico N. 44.
- , — 1965. Relation of Moisture Content and Length of Storage to Changes in the Mycoflora and Germination Percentage of Rough Rice. *Phytopathology* 55: 953-956.
- López, L. C. y C. M. Christensen, 1962. Invasion of and damage to bean seed by storage fungi. *Plant Disease Reporter* 46: 85-789.
- Moreno-Martínez, E. y C. M. Christensen, 1971. Differences among Lines and Varieties of Maize in Susceptibility to Damage by Storage Fungi. *Phytopathology* 61: 1498-1500.
- Sánchez-Domínguez R., E. Moreno-Martínez y M. Zenteno-Zevada, 1971. Estudios sobre el almacenamiento de semilla de soya de la variedad Tropicana. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 5: 47-55.
- Winston, P. W. y D. H. Bates, 1960. Saturated solutions for the control of humidity in biological research. *Ecology* 41: 232-237.
- Zillinsky, F. J. y N. E. Borlaug, 1971. Transforming *Triticale* into a crop of economic significance. Research Bulletin No. 17, Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), México.

RESUMEN

Fueron almacenados granos de 6 variedades de *Triticale* y una variedad de trigo bajo la influencia de diferentes humedades relativas, con objeto de observar la pérdida de viabilidad de los granos y la variación en la micoflora. La micoflora y el porcentaje de germinación de los granos fueron determinados inicialmente y después de cada muestreo en los distintos tratamientos. En los tratamientos fueron utilizadas tres humedades relativas distintas: 75%, 80% y 85% y una sola temperatura de 25°C. En cada tratamiento se hicieron tres muestreos con distintos intervalos de tiempo. Desde el primer muestreo se observó disminución en la germinación de los granos, principalmente en las dos humedades relativas más altas; no hubo diferencia en los resultados entre las variedades de *Triticale* pero sí entre éstas y la de trigo. Al final de la prueba en 75% de humedad relativa a los 189 días de almacenamiento, el porcentaje de germinación en *Triticale* fue de 26% a 40% y en trigo de 90%. En 80% de humedad relativa, al final de la prueba a los 175 días, el porcentaje de germinación en *Triticale* fue muy bajo, de 2% a 13%, así como

en trigo, 25%. En la prueba con humedad relativa de 85%, en el tercer muestreo a los 105 días, la germinación fue entre 19% y 40% para *Triticale* y 53% para trigo. Por lo que respecta a la micoflora, los hongos que se encontraron originalmente, *Alternaria* spp. y *Fusarium* spp. de los llamados "hongos de campo", fueron disminuyendo conforme aumentaban los "hongos de almacén", que fundamentalmente estuvieron representados por especies del grupo *Aspergillus glaucus*, que en la mayoría de los granos llegaban al 100%.

SUMMARY

Grains of six *Triticale* varieties and of one wheat variety were submitted to storage tests with different relative humidities in order to see the variation of the grain mycoflora and loss of grain viability. The mycoflora and germination percentage of the grains were determined initially and after the treatments, which consisted of three relative humidities: 75%, 80%, and 85%, and one temperature: 25°C. For each treatment three samplings, at different time intervals, were made. From the first sampling, it was found that the germination of the grains decreased, mainly of those grains maintained at the two higher relative humidities; there was no difference among the *Triticale* varieties, although there was difference among these and the variety of wheat. After 189 days under 75% relative humidity, the germination of *Triticale* was from 26% to 40%, and 90% for wheat. After 175 days at 80%, the germination of *Triticale* was from 2% to 13%, and 25% for wheat. At 85% relative humidity, in the third sampling after 105 days, the germination of *Triticale* was from 19% to 40%, and 53% for wheat. With respect to the mycoflora, the fungi originally found in the *Triticale* and wheat grains, such as *Alternaria* spp. and *Fusarium* spp., of the so called "field fungi", were gradually decreasing as the "storage fungi", mainly represented by species of the *Aspergillus glaucus* group, increased to practically 100%.