



# Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Dirección de Investigación:

Subdirección de Programación y Evaluación



## Proyecto de Investigación 2018

Unidad:	Saltillo	División:	Agronomía	Departamento:	Fitomejoramiento
Programa de Investigación:	Maestría profesional en tecnología de granos y semillas				
Línea de investigación:	Poscosecha				
Título del proyecto:	<b>Atmósfera modificada por presión y nitrógeno para el control de <i>Sitophilus zeamais</i> y <i>S. oryzae</i> en semilla de maíz</b>				
Presupuesto solicitado (Máximo \$100,000)	\$8,000.00	El proyecto es:	Nuevo	Continuación	X
Tipo de investigación:	Básica	Aplicada	Tecnológica	X	e-mail del responsable arturomr@colpos.mx
Vinculación:	Si	No	X	Fonuos concurrentes:	
Cooperante(s):					
Entidad (es):	Coahuila, Estado de México	Municipio (s):	Saltillo		
Localidades:	Buenavista				
A realizar durante el año(s):	2018				
Participantes		Adscripción (Clave Depto.)	Expediente No.	Firma	
Responsable	Dr. Arturo Mancera Rico	FIT	4185	<i>Arturo Mancera</i>	
Colaborador:	Dra. Miriam Sánchez Vega	Parasitología	100069	<i>[Signature]</i>	
Colaborador:	Dr. Ernesto Cerna Chávez	Parasitología	3563	<i>[Signature]</i>	
Colaborador:	Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo	FIT	3268	<i>[Signature]</i>	
Colaborador:					
Colaborador:					
Colaborador:					
		Nivel estudios	Matrícula	Firma	
Tesista:					
Programa Docente:					
Tesista:					
Programa Docente:					
Tesista:					
Programa Docente:					
	Vo. Bo.		Autoriza		
Firma y sello	 				
Nombre	Dr. Alfonso López Benítez Jefe de Departamento		Dr. Valentín Robledo Torres Subdirector de Programación y Evaluación		

- Cada Jefe de Departamento deberá dejar copia para su archivo

## Protocolo para Proyecto de Investigación 2018

### 1.-Título del proyecto

**Atmósfera modificada por presión y nitrógeno para el control de *Sitophilus zeamais* y *S. oryzae* en semilla de maíz**

### 2.- Introducción

La protección de cultivos es una actividad importante, las plagas de almacén pueden llegar a ocasionar pérdidas en el nivel de la calidad de granos y semillas almacenadas. Una plaga típica en la semilla y grano de maíz almacenado es el gorgojo, *Sitophilus zeamays* y *Sitophilus oryzae*.

El acondicionamiento de semillas tiene el propósito de preparar la semilla de manera que se mantenga o incremente su calidad física, fisiológica y sanitaria hasta el momento de la siembra o hasta que la semilla haya germinado exitosamente. Lo anterior implica que la semilla podrá almacenarse por un periodo razonable, es decir, el periodo comprendido entre ciclos agrícolas, e incluso por varios años sin que se afecte su germinación o sufra ataques por plagas o enfermedades. Para ello, las actividades de acondicionamiento incluyen pero no se limitan a: secado, desgranado, desbarbado, desaristado, limpieza, clasificación, tratamiento y envasado. El control de las plagas de almacén se realiza mediante el tratamiento químico y la aplicación de fumigantes, adicionalmente se controla la humedad del almacén y de la semilla. Suelen emplearse productos químicos sintéticos tanto en el tratamiento como en la aplicación de fumigantes; no obstante, algunos sistemas de producción y regulaciones ambientales limitan el uso de los mismos.

Las semillas tienen baja tasa de respiración, mientras que los insectos de almacén suelen tener tasas de respiración superior para mantenerse activas o sobrevivir, siéndoles letales la carencia de oxígeno por periodos superiores a 5 días, que son los que se recomiendan para la aplicación de algunos fumigantes como las fosfinas, que van de 4 a 5 días, razón por la que el presente estudio tiene por objeto determinar la viabilidad de gorgojo y de semillas de maíz sometidas a 4 niveles de presión manométrica: 0 (control, parcialmente abierto), 0, -40 y -80 kPa y a 1 nivel de nitrógeno (99 %) por un periodo de 0, 2, 4, 5, 30 y 90 días.

### Objetivos

Determinar el porcentaje de mortalidad de gorgojo y la germinación bajo condiciones de hipoxia mediante depresión atmosférica y saturación de nitrógeno.

### Hipótesis

Mediante los tratamientos extremos propuestos, es posible fumigar y almacenar la semilla de maíz por un periodo de hasta 90 días

### 3.-Revisión de Literatura

Para el control de las plagas de almacén que se presentan durante el proceso de acondicionamiento antes del envasado y para prevenir su aparición durante su almacenaje, suele realizarse la fumigación y el tratamiento químico, donde se aplican insecticidas en forma gaseosa, líquida o polvos humectables. En la actualidad, sin embargo, estos métodos de control por sí solos no garantizan el control de las plagas debido al desarrollo de resistencia de diversas especies a los plaguicidas empleados, razón por la cual se ha desarrollado el manejo integrado de plagas (MIP). El desarrollo de productos químicos y biológicos con novedosos modos de acción es dinámico ya que las propuestas se renuevan constantemente (Whalon *et al.*, 2008). El manejo integrado de plagas incluye la combinación de diversos métodos: control químico, biológico, genético, físico, etc., con la finalidad de tener así un manejo integrado para evitar problemas de resistencia; no obstante se ha detectado un fenómeno conocido como resistencia cruzada, en el cual una población desarrolla resistencia a un 2do compuesto al que no ha sido expuesto luego de someterse a un 1er compuesto; impactando de ese modo en uno de los métodos más comúnmente empleados. Además de la resistencia a los plaguicidas, se tiene el reto de evitar el daño colateral del uso de los mismos al ser potenciales fuentes de contaminación sobre fuentes de agua en las que puedan llegar a escurrir o lixiviar dichos plaguicidas (Long *et al.*, 2005). Algunos sistemas de producción requieren disminuir o prescindir del uso de plaguicidas, tal como es el caso de la agricultura orgánica, en la que el uso de productos sintéticos es limitada (SAGARPA, 2017; FAO, 2017), lo cual

aplica también al tratamiento de semillas, lo que requiere la exploración de métodos diversos que sean amigables con el ambiente.

Las semillas son seres vivos que llevan a cabo procesos metabólicos a escala reducida en comparación con otros organismos, por lo que requieren para su supervivencia un abasto de nutrientes, agua, oxígeno y de permanecer a temperaturas con poca variación y dentro de un rango en función de su contenido de humedad. Son susceptibles, asimismo, a diversos plaguicidas, por lo que cuando estos se emplean, se considera el tiempo de exposición y la dosis letal sobre la semilla así como la residualidad de los mismos, procurando dejar un amplio margen para evitar daño a la semilla, y en el caso de granos almacenados para evitar daño al consumidor por intoxicación. Las semillas pueden ser almacenadas con contenidos de humedad tan bajos como 1.5 % (Gómez-Ocampo, 2006) a temperaturas tan bajas como -20 °C, y se cree que tienen una tasa de respiración inferiores a  $4 \mu\text{mol O}_2 \text{ min}^{-1}$  por gramo de materia seca, según la tasa de respiración en semillas de chícharo con humedad de 1.5 g de agua por gramo de materia seca (Walters C *et al.*, 2001). Bello y Bradford (2016) mencionan que en su experimento realizado para determinar la respiración en semillas de jitomate embebidas, el consumo de oxígeno llevó entre 60 y 140 h, donde es importante resaltar que la falta del mismo reduce la tasa de respiración y retrasa o impide la germinación. Svachulová *et al.* (1973), determinaron la respiración en semillas de cebada, encontrando que a 25 °C con una humedad de 20 % fue de  $0.2 \mu\text{L O}_2 \text{ h}^{-1}$  por cada 100 mg de materia seca de la semilla, mientras que a una humedad de 30 % la respiración fue 100 veces más alta; asimismo, señalan que el consumo de oxígeno está relacionado linealmente al contenido de humedad.

Por su parte, las plagas de almacén requieren usualmente temperaturas dentro de un margen reducido en comparación con el requerido por las semillas, y requieren de mayor disponibilidad de aire para realizar la respiración. Muchos de los insectos intercambian gases de manera cíclica y discreta (Lighton, 1996) y los gradientes de presión para la conducción al exterior de  $\text{CO}_2$  y  $\text{O}_2$  en pupa son de aproximadamente 4 a 6 y 15 a 18 kPa. Por otra parte, la emisión de  $\text{CO}_2$  en *tenebroid* y *scarabeid*, disminuyó a una presión 3 kPa de  $\text{O}_2$  (Lease *et al.* 2012), donde el flujo de  $\text{CO}_2$  fue de 0.02 y 0.06  $\mu\text{mol}$  por hora por mg de peso vivo en *tenebroid* y *scarabeid* (equivalentes a 0.33 y 5.51  $\mu\text{mol}$  por minuto por gramo de peso vivo). Cabe señalar que la presión atmosférica es de 101 kPa, por lo que los gradientes de presión manométrica para los casos mencionados equivalen a aproximadamente 2 a 18 % de la misma. Diversas especies de insectos están adaptadas para experimentar diapausa (Figura 1), lo que les permite sobrevivir a condiciones críticas de temperatura, sequía o carencia de alimento, así como a factores bióticos; durante ese periodo permanecen inactivos adaptándose a las condiciones ambientales. Asimismo, pueden afrontar las condiciones adversas a través de otras adaptaciones, tal es el caso de pupas de *Manduca sexta* que sobrevivieron a 5 días de inundación, en los que mantuvieron altas tasas de emisión de  $\text{CO}_2$  (Woods y Lane, 2016), si bien las larvas en el 5to instar sólo sobrevivieron a un máximo de 4 d.

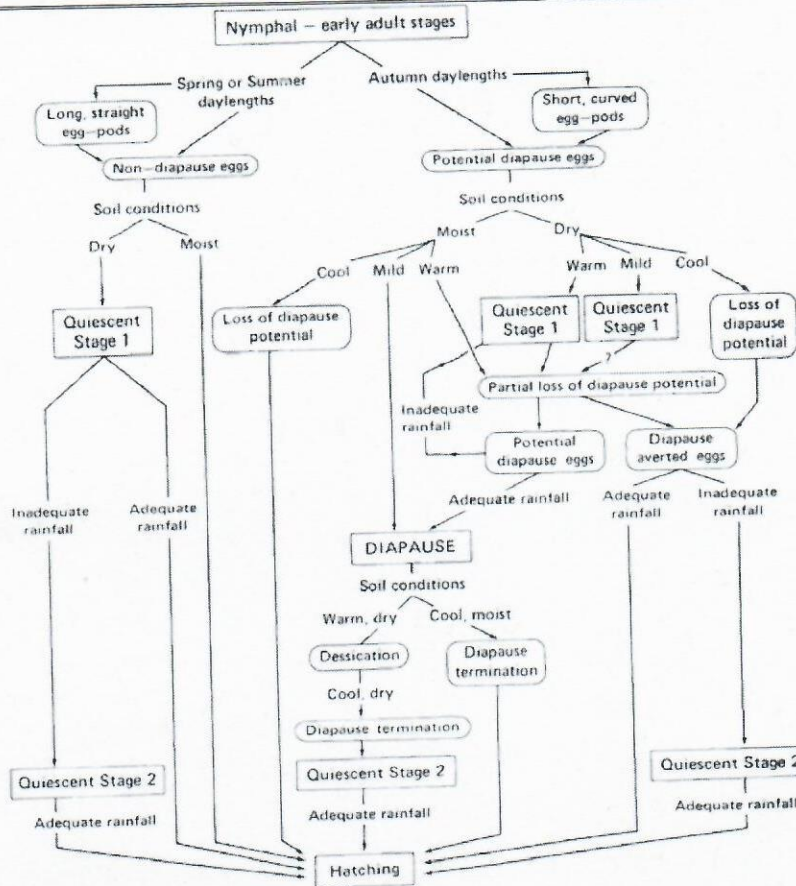


Figura 1. Rutas de desarrollo de huevos de *C. terminifera* en relación a la duración del día, temperatura y lluvia. Fuente: Taylor y Karban 1984.

La presión atmosférica juega un papel importante en los procesos respiratorios de los organismos, ya que de esta depende la presión de oxígeno y el esfuerzo de las contracciones del aparato respiratorio. A nivel del mar la presión atmosférica es de 101,325 Pa (1,013.25 milibar ó 1 atmósfera), donde la concentración de oxígeno es de 20.9 % y su presión parcial ( $PO_2$ ) es de 21.2 kPa; la presión atmosférica decrece con la altitud y por consiguiente la  $PO_2$ , aunque la fracción de  $O_2$  se mantiene constante por 100,000 m; la medicina de montaña reconoce tres regiones que reflejan la disponibilidad de oxígeno: gran altitud (1,500 a 3,500 m), muy alta altitud (3,500 a 5,000 m) y extrema altitud (superior a 5,000 m), mientras que una cuarta región se reconoce como "zona de muerte" (8,000 m) donde la presión atmosférica es de tan solo 356 milibares. Actualmente, existen equipos para el envasado al vacío capaces de empaquetar a casi un vacío absoluto (2 mbar) los productos alimenticios, con la finalidad de reducir la cantidad y actividad de microorganismos patógenos, si bien algunos de ellos no requieren de oxígeno para realizar sus actividades metabólicas. Es importante señalar que a medida que la presión atmosférica decrece, el punto de ebullición del agua también disminuye, con lo que es posible tener pérdida de humedad de los productos sometidos al vacío (Brecht, 2003).

Otra manera de privar de oxígeno a las plagas de almacén, y otras plagas en frutos, es mediante la sustitución de gases. El nitrógeno es uno de los gases más ampliamente utilizados en los productos agrícolas alimenticios debido a que es un gas inerte. En la atmósfera se encuentra en una concentración de 78 %, seguida por el oxígeno, cuya concentración es de 21 %. Para el control de algunas plagas se requiere una concentración de 99 %, con lo que es factible eliminar el 100 % de las plagas en un periodo de 3 días a una temperatura de 22 a 24 °C, no obstante, cuando la concentración de nitrógeno se reduce a 97-98 %, la mortalidad es de solo 10 % en un periodo de 10 días (Person y Sorenson, 1970; Agarwal *et al.* 2015). Asimismo, se están realizando estudios para utilizar el Ethyl formate ( $C_3H_6O_2$ ) en la fumigación de frutales (Agarwal *et al.*, 2015) que bien se puede adaptar a la fumigación de granos y semillas con costo de MX\$10.00 por tonelada, aproximadamente.

#### 4.- Procedimiento Experimental

##### **Colecta e identificación de insectos**

Se realizará una colecta de insectos de almacén, para lo cual será necesario visitar diversos almacenes de granos a nivel local (Saltillo), seleccionándose especies de *Sitophilus zeamais* y *S. oryzae*, las cuales se incluirán en el experimento.

##### **Preparación de las cámaras de evaluación**

Se utilizarán envases de vidrio resistentes a la presión (ensayo de presión) y envases de cierre hermético (ensayo de saturación de atmósfera con N). Los envases se prepararán de manera que pueda generarse el vacío y reemplazar el aire por nitrógeno, respectivamente, mientras que los envases utilizados en el control y en el alojamiento previo y posterior a los tratamientos, se acondicionarán de manera que tengan intercambio de aire con el exterior sin permitir la salida o ingreso de individuos.

##### **Equipo utilizado**

Para el ensayo de vacío se utilizará una bomba de vacío FJC 9281 equipada con manómetros y reguladores de presión. Para el ensayo de sustitución con nitrógeno se utilizará el tanque de nitrógeno equipado con su regulador para nitrógeno.

Se utilizarán envases de vidrio resistentes a la presión (ensayo de presión) y envases de cierre hermético (ensayo de saturación de atmósfera con N). Los envases se prepararán de manera que pueda generarse el vacío y reemplazar el aire por nitrógeno

##### **Tratamientos**

Para conocer el efecto del vacío sobre la viabilidad de insectos plaga y de las semillas, se estudiarán cuatro niveles de presión manométrica: 0 (control, parcialmente abierto), 0, -40 y -80 kPa, por un periodo de 0, 2, 4, 5, 30 y 90 d, la evaluación de la supervivencia en insectos y de la germinación se realizará luego de dos periodos de reposo: uno de 4 días y el otro correspondiente a dos ciclos de vida. La combinación de factores resulta en un total de 24 tratamientos, que serán evaluados en 3 repeticiones, resultando así en 72 unidades experimentales. Los tratamientos serán evaluados mediante un diseño experimental completamente al azar con dos factores de estudio para cada periodo de reposo.

Para conocer el efecto del nitrógeno sobre la viabilidad de insectos y semillas, se estudiará un nivel de concentración de nitrógeno de 99 % y un periodo de 0, 2, 4, 5, 30 y 90 días, la evaluación de la supervivencia en insectos y de la germinación se realizará luego de dos periodos de reposo: uno de 4 días y el otro correspondiente a dos ciclos de vida. La combinación de factores resulta en un total de 6 tratamientos que serán evaluados en tres repeticiones, resultando en 18 unidades experimentales. Para evaluar los tratamientos se utilizará un diseño experimental completamente al azar con un factor de estudio: periodo de almacenamiento con nitrógeno. Se realizará un análisis adicional al combinar con los dos niveles de presión 0 (abierto y cerrado).

El análisis estadístico consistirá en análisis de varianza y comparación de medias.

Cronograma de Actividades.

Programación del Gasto.

Actividad a realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Ensayos (\$2,000.00)			X	X								
Reproducción de colonias de insectos (\$2,000.00)			X	X	X							
Establecimiento de experimentos (\$2,000.00)					X	X	X	X				
Evaluaciones							X	X	X			
Preparación de un artículo para publicación y envío a revista arbitrada (\$2,000.00)										X	X	

#### 5.-Productos Esperados

Se publicará un artículo en revista indexada nacional o internacional de acuerdo a los resultados obtenidos  
Se publicará una artículo de divulgación en revista indexada nacional

## 6.-Literatura Citada

- Agarwal M, Ren Y, Newman J, Learmonth S. 2015. Ethyl Formate: A Potential Disinfestation Treatment for Eucalyptus Weevil (*Gonipterus platensis*) (Coleoptera: Curculionidae) in Apples. *Journal of Economic Entomology*, **108** (6), 2566-2571.
- Bello P, Bradford K J. 2016. Single-seed oxygen consumption measurements and population-based threshold models link respiration and germination rates under diverse conditions. *Seed Science Research*, **26**, 199-221.
- Brecht K J. 2003. Harvesting and handling techniques In: Postharvest physiology and pathology of vegetables, 2<sup>nd</sup> Edition. Edited by Bartz J A and Brecht K J. Marcel Dekker Inc., Florida USA.
- FAO. 2017. Substancias permitidas para la producción de alimentos orgánicos. Consultado en Internet (2017): <http://www.fao.org/docrep/005/Y2772S/y2772s0c.htm>
- Gómez-Ocampo C. 2006. Erosion of genetic resources within seed genebanks: the role of seed containers. *Seed Science Research*, **16**, 291-294.
- Lease H M, Klok C J, Kaiser A, Harrison J F. 2012. Body size is not critical for critical P<sub>O2</sub> in scarabaeid and tenebrionid beetles. *The Journal of Experimental Biology*, **215**, 2524-2533.
- Lighton R B J. 1996. Discontinuous gas exchange in insects. *Annual Review of Entomology*, **41**, 309-324
- Long R, Gan J, Nett M. 2005. Pesticide choice: best management practice (BMP) for protecting surface water quality in agriculture. University of California, division of agriculture and natural resources. Publication 8161. 8 p.
- Person N K, Sorenson J W. 1970. Use of gaseous nitrogen for controlling stored product insects in cereal grains. *American Association of Cereal Chemists*, **47**, 679-686.
- SAGARPA. 2017. Consejo Nacional de la Producción Orgánica. Consultado en Internet (2017): [http://www.cnpo.org.mx/doc\\_interes.html](http://www.cnpo.org.mx/doc_interes.html)
- Svachulová J, Gichner T, Velemínský J. 1973. Respiration in barley seeds treated with mutagenic methyl methanesulphonate and stored at different water contents. *Biologia plantarum (Praha)*, **15** (2), 140-143.
- Walters C, Pammenter N W, Berjak P, Crane J. 2001. Desiccation damage, accelerated ageing and respiration in desiccation tolerant and sensitive seeds. *Seed Science Research*, **11**, 135-148.
- Whalon M E, Mota-Sánchez D, Hollingworth R M. 2008. Global pesticide resistance in arthropods. CABI, Oxfordshire, UK.
- Woods H A, Lane J S. 2016. Metabolic recovery from drowning by insect pupae. *The Journal of Experimental Biology*, **219**, 3126-3136.