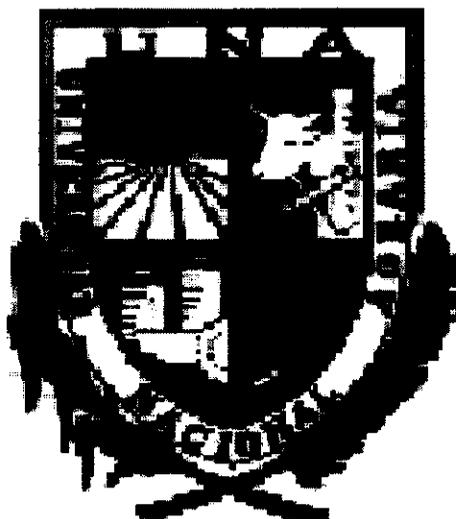


**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE AGRONOMIA
ESCUELA DE SANIDAD VEGETAL**



**Evaluación de dióxido de carbono (CO₂) obtenido de
diferentes fuentes naturales para el control de
Sitophilus zeamais Motschulsky
(Coleoptera:Curculionidae) aplicado en silos metálicos.**

TRABAJO DE DIPLOMA

**Para obtener el grado de Ingeniero Agrónomo con
especialidad en Sanidad Vegetal.**

PRESENTA

MIGUEL ERNESTO LACAYO CHAVEZ

Managua, Nicaragua

Junio de 1997

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE AGRONOMIA
ESCUELA DE SANIDAD VEGETAL**

TRABAJO DE DIPLOMA

Evaluación de dióxido de carbono (CO₂) obtenido de fuentes naturales para el control del *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera : Curculionidae) aplicado en silos metálicos.

Autor : Br. Miguel Ernesto Lacayo Chávez.

**Asesor (es) : Ing. Carlos Gómez Calderón.
Ing. Jorge Ulises Díaz B.**

Managua, Nicaragua

1996

DEDICATORIA

A Dios por haberme dado la oportunidad de vivir hasta este momento.

A mis padres Jorge y Ana María, por haberme brindado todo el apoyo para iniciar y culminar mi carrera profesional de Ingeniería Agronómica con especialidad en Sanidad Vegetal.

A mis hermanos por darme el apoyo, la confianza y el ejemplo para terminar mis estudios.

AGRADECIMIENTO

A Dios, mi Familia por toda la ayuda recibida para terminar mi trabajo de diploma.

A mis asesores: Ing Agr Carlos Gómez y Ing Agr Ulises Díaz por la valiosa colaboración para realizar las diferentes etapas del trabajo tanto en el laboratorio, análisis estadístico y redacción del trabajo de diploma, así como todas las sugerencias durante este período.

A todo el personal del Programa Postcosecha de Nicaragua, en especial al Msc. Guillermo Gutiérrez por sus sugerencias realizadas durante todo el proceso de trabajo.

A la Agencia Suiza para la Cooperación y el Desarrollo por el financiamiento para el desarrollo de este trabajo de Diploma.

INDICE

	Pág.
I. INTRODUCCION:	1
II. REVISION BIBLIOGRAFICA	4
III. OBJETIVOS:	12
IV. MATERIALES Y METODOS:	13
4.1. UBICACION DEL ENSAYO.	13
4.2. METODOLOGIA:	13
4.2.1. ETAPA I: Evaluación de productos naturales para la producción de Dióxido de Carbono (CO ₂) a partir del proceso de fermentación.	13
4.2.2. ETAPA II: Determinación del porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz en maíz almacenado en silos metálicos de 4 qq. con y sin salida de aire, utilizando las fuentes productoras de CO ₂ evaluadas en la primer etapa.	15
4.2.2.1. Montaje de biodigestores.	16
4.2.2.2. Conexión biodigestor - silo metálico.	16
4.2.2.3. Determinación del porcentaje de dióxido de carbono en el interior del silo metálico.	16
4.2.2.4. Determinación del porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz.	17
4.2.2.5. Medición del contenido de humedad del grano.	17
4.3. Análisis de datos.	17
V. RESULTADOS Y DISCUSION.	18
5.1. RESULTADOS:	18
5.1.1. ETAPA I: Evaluación de productos naturales para la producción de dióxido de carbono (CO ₂) a partir del proceso de fermentación en biodigestores.	18
5.1.2. ETAPA II: Determinación del porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz en maíz almacenado en silos metálicos de 4 qq. con y sin salida de aire, utilizando las fuentes productoras de CO ₂ evaluadas en la primer etapa.	22

5.1.2.1. Pruebas en silos metálicos de 4 qq sin salida de aire:	22
a) Período de exposición de seis días.	22
b) Período de exposición de ocho días.....	23
c) Período de exposición de diez días.	23
5.1.2.2. Pruebas en silos metálicos de 4 qq con salida de aire:	25
a) Período de exposición de seis días.	25
b) Período de exposición de ocho días.....	26
c) Período de exposición de diez días.	27
5.1.3. Secado del grano para los tratamientos:	29
5.1.3.1. Humedad del maíz antes del proceso de secado:	29
5.1.3.2. Secado del grano por el método natural.	30
5.1.3.3. Porcentaje de humedad del grano de maíz después de ser tratado con dióxido de carbono:	30
5.2 DISCUSION:	31
VI. CONCLUSIONES	33
VII. RECOMENDACIONES	34
BIBLIOGRAFIA:	35

INDICE DE CUADROS

Cuadro N°		Página
1	Tratamientos evaluados para la producción de dióxido de carbono a partir de fuentes naturales por el proceso de fermentación.....	13
2	Tratamientos evaluados para la determinación de la mortalidad del gorgojo del maíz con dióxido de carbono a partir de fuentes naturales por el proceso de fermentación.....	15
3	Análisis de varianza de los datos obtenidos del porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz en un período de exposición de seis días en silos metálicos sin salida de aire.	22
4	Resultados obtenidos de las pruebas realizadas en silos metálicos sin salida de aire con de banano, maíz y caña de azúcar con 0.5 y 0.0% de levadura como fuente productora de CO ₂ por la prueba de rango múltiple de Duncan ($\alpha = 0.05$) en un período de exposición de seis días.....	22
5	Análisis de varianza de los datos obtenidos del porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz en un período de exposición de ocho días en silos metálicos sin salida de aire.	23
6	Resultados obtenidos de las pruebas realizadas en silos metálicos sin salida de aire con de banano, maíz y caña de azúcar con 0.5 y 0.0% de levadura como fuente productora de CO ₂ por la prueba de rango múltiple de Duncan con un ($\alpha = 0.05$) en un período de exposición de ocho días.....	23
7	Análisis de varianza de los datos obtenidos del porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz en un período de exposición de diez días en silos metálicos sin salida de aire.	23
8	Resultados obtenidos de las pruebas realizadas en silos metálicos sin salida de aire con de banano, maíz y caña de azúcar con 0.5 y 0.0% de levadura como fuente productora de CO ₂ por la prueba de rango múltiple de Duncan ($\alpha = 0.05$) en un período de exposición de diez días.	24

9	Análisis de varianza de los datos obtenidos del porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz en un período de exposición de seis días en silos metálicos con salida de aire.....	25
10	Resultados obtenidos de las pruebas realizadas en silos metálicos sin salida de aire con de banano, maíz y caña de azúcar con 0.5 y 0.0% de levadura como fuente productora de CO ₂ por la prueba de rango múltiple de Duncan ($\alpha = 0.05$) en un período de exposición de seis días.....	26
11	Análisis de varianza de los datos obtenidos del porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz en un período de exposición de ocho días en silos metálicos con salida de aire.....	26
12	Resultados obtenidos de las pruebas realizadas en silos metálicos sin salida de aire con de banano, maíz y caña de azúcar con 0.5 y 0.0% de levadura como fuente productora de CO ₂ por la prueba de rango múltiple de Duncan ($\alpha = 0.05$) en un período de exposición de ocho días.	27
13	Análisis de varianza de los datos obtenidos del porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz en un período de exposición de diez días en silos metálicos con salida de aire.....	27
14	Resultados obtenidos de las pruebas realizadas en silos metálicos sin salida de aire con de banano, maíz y caña de azúcar con 0.5 y 0.0% de levadura como fuente productora de CO ₂ por la prueba de rango múltiple de Duncan ($\alpha = 0.05$) en un período de exposición de diez días.	27
15	Porcentaje de humedad del grano de maíz antes del proceso de secado con una temperatura del grano de 28°C.	29
16	Porcentaje de humedad del grano de maíz determinado por el método del horno.....	30
17	Porcentaje de humedad del grano de maíz después de ser tratado con dióxido de carbono en silos metálicos de 4 qq.	30

INDICE DE FIGURAS

Figura N°		Página
1	Cinética de crecimiento de la producción de dióxido de carbono por el proceso de fermentación de banano con 0.5% de levadura a T° de $25 \pm 2^\circ\text{C}$	18
2	Cinética de crecimiento de la producción de dióxido de carbono por el proceso de fermentación de banano sin levadura a T° de $25 \pm 2^\circ\text{C}$	19
3	Cinética de crecimiento de la producción de dióxido de carbono por el proceso de fermentación de maíz con 0.5% de levadura a T° de $26 \pm 2^\circ\text{C}$	19
4	Cinética de crecimiento de la producción de dióxido de carbono por el proceso de fermentación de maíz sin levadura a T° de $26 \pm 2^\circ\text{C}$	20
5	Cinética de crecimiento de la producción de dióxido de carbono por el proceso de fermentación de caña de azúcar con 0.5% de levadura a T° de $26 \pm 2^\circ\text{C}$	21
6	Cinética de crecimiento de la producción de dióxido de carbono por el proceso de fermentación de caña de azúcar sin levadura a T° de $27 \pm 2^\circ\text{C}$	21
7	Porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz a diferentes períodos de exposición y porcentajes de dióxido de carbono obtenido de banano, maíz y caña de azúcar con levadura en silos metálicos de 4 qq sin salida de aire.	24
8	Porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz a diferentes períodos de exposición y porcentajes de dióxido de carbono obtenido de banano, maíz y caña de azúcar en silos metálicos de 4 qq sin salida de aire.	25
9	Porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz a diferentes períodos de exposición y porcentajes de dióxido de carbono obtenido de banano, maíz y caña de azúcar con levadura en silos metálicos de 4 qq con salida de aire.	28
10	Porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz a diferentes períodos de exposición y porcentajes de dióxido de carbono obtenido de banano, maíz y caña de azúcar en silos metálicos de 4 qq con salida de aire.	29

INDICE DE ANEXOS

Anexo N°		Página
1	Metodología para el cultivo del gorgojo del maíz (<i>Sitophilus zeamais</i> Motschulsky)	37
2	Método químico para determinar el porcentaje de dióxido de carbono (CO ₂) en una muestra de gas	42
3	Medición de la humedad del grano con SAMAP-O-TEST	45
4	Materiales	47
5	Método del horno o estufa para determinar el porcentaje de humedad del grano de maíz	48
6	El Silo Metálico	49
7	Succionador- Capturador de insectos	50

RESUMEN

La preocupante situación por el uso excesivo de productos químicos en granos almacenados, ha llevado a la búsqueda de métodos efectivos no químicos para prevenir las pérdidas ocasionadas por los insectos. Entre estos métodos tenemos el uso de atmósferas modificadas (AM) el cual ha sido utilizado en otros países con buenos resultados. Este método consiste en la descomposición o fermentación de materiales vegetales como sustrato para la generación de CO_2 (dióxido de carbono) en un biogenerador, conectado a silos metálicos u otros depósitos de granos herméticos donde el gas es transferido pasivamente al depósito de granos.

Nos propusimos identificar fuentes naturales para la producción de CO_2 y determinar la eficacia del método de atmósferas controladas en el control del *Sitophilus zeamais* Motsch. Para el estudio se realizaron dos etapas: Identificación de fuentes naturales para la producción de CO_2 a partir del proceso de fermentación, donde se probaron caña de azúcar, banano y maíz, utilizando para cada material tratamientos con y sin levadura comercial en concentración de 0.5% y 0% respectivamente de la cantidad total del material a fermentar en el biodigestor. Se determinó el momento inicial, máximo y final de la producción de CO_2 . El tipo de biogenerador utilizado para todos los ensayos consistió de un depósito plástico de 18 l. de capacidad, donde se colocaron los materiales a fermentar. Se utilizó un indicador de agua. La variable a medir fue la emisión de burbujas en un período de tres minutos a intervalos de dos horas. Se determinó el porcentaje de mortalidad del *S. zeamais* en silos metálicos de 4qq. con maíz utilizando la AM. El silo metálico fue llenado con maíz hasta las 5/6 partes de su capacidad total; las jaulas que se utilizaron fueron recipientes plásticos de 1L de capacidad con maíz-grano y 100 gorgojos del maíz adultos en su interior, colocadas a tres diferentes profundidades dentro del silo metálico. El porcentaje de CO_2 contenido en el silo metálico se midió con el método bioquímico, del Hidróxido de Sodio (NaOH). El índice de mortalidad se evaluó a los 6, 8 y 10 días. Los mejores resultados en producción de gas se obtuvieron con el banano, con un rendimiento promedio de 91.9 y 52.6 burbujas por tres minutos a intervalos de dos horas en un período de 40 horas. Con un porcentaje mayor al 25% de CO_2 en el interior del silo metálico (atmósfera interna) y más de 6 días de exposición se obtuvo la mortalidad del gorgojo del maíz superior al 95%; concluyendo que la mortalidad del gorgojo del maíz estará en dependencia del porcentaje de CO_2 en el interior del silo metálico.

I. INTRODUCCION:

Los granos básicos (maíz, arroz, frijol) constituyen la fuente principal de alimentos de centroamérica; estos son producidos en mayor parte por los pequeños y medianos productores quienes invierten grandes esfuerzos (sociales y económicos) para producir los granos básicos, los cuales pueden ser cosechados de una a tres veces al año. Sin embargo, es necesario almacenar estos granos básicos por un período de 6 a 12 meses o más tiempo para alimentación humana, animales vacunos, porcinos y otros (Andrews y Quezada, 1989).

Es conocido que las pérdidas postcosecha de granos básicos constituyen una fuga de alimentos ya producidos, por lo que su prevención es tan importante como la producción misma. Para enfrentar esta problemática es necesario conocer bien los sistemas de manejo de la producción después de la cosecha tanto a nivel comercial como a nivel tradicional. Estas pérdidas están vinculadas a fenómenos sociales, físicos y biológicos. En los sociales tenemos las prácticas culturales, las cuales están determinadas por creencias tradicionales más que por su utilidad práctica. En los físicos tenemos que los granos son susceptibles al medio que los rodea, donde actúan y determinan sus actividades respiratorias de temperatura y humedad. Entre otros factores tenemos la falta de infraestructuras o instalaciones en mal estado, malas condiciones atmosféricas (alta humedad y temperatura), lo que favorece el desarrollo de microorganismos, así como insectos que causan grandes pérdidas (Mora, 1994).

Los principales causantes de pérdidas en los productos almacenados son los insectos; existen aproximadamente 300 especies de insectos que atacan granos almacenados entre las que se encuentran unas 18 especies de importancia económica primaria, de las cuales 12 especies son del orden Coleoptera. Entre estas se encuentra el gorgojo del maíz, ***Sitophilus zeamais*** Motschulsky que ataca los granos en el campo y en el almacén. (King y Saunders, 1984).

Los insectos son los principales agentes de daño en granos almacenados y generalmente para su control es indispensable el uso de productos químicos entre los cuales se encuentran insecticidas residuales (pirimifos-metil) y productos fumigantes (Fosfamina).

Debido a la preocupante situación por el alto desarrollo de resistencia provocado por el uso excesivo de plaguicidas, las malas aplicaciones de los plaguicidas y la presencia de residuos químicos en los productos almacenados, se han evaluado diferentes métodos alternativos de control no químicos, tal como la aireación, la que es utilizada para modificar la temperatura y el contenido de humedad del grano; uso de variedades resistentes y atmósferas controladas; siendo tácticas efectivas de manejo para controlar plagas insectiles de granos almacenados (Mora, 1990).

En Nicaragua a partir de 1995, el Programa Postcosecha del INTA buscó otra alternativa para el control de plagas insectiles de granos almacenados en silos metálicos por medio de atmósferas controladas produciendo el gas con materiales vegetales que estén al alcance y disposición del pequeño y mediano productor y la utilización de instrumentos accesibles para facilitar en un futuro la transferencia de la tecnología.

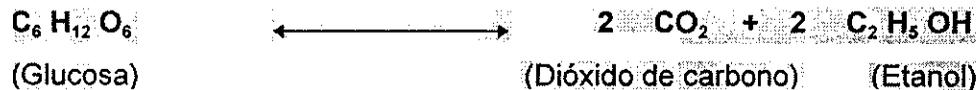
En los países desarrollados los cuales tienen más experiencia en la utilización del método de atmósferas controladas, han experimentado con diferentes especies de insectos plagas en granos almacenados obteniendo resultados satisfactorios, además de ventajas como la reducción del uso de productos químicos, evitar la residualidad de estos en los productos almacenados, menos contaminación del ambiente, menor peligro de intoxicación humana por el mal manejo de agroquímicos (Mora, 1990).

El método de control de plagas en productos almacenados conocido como atmósferas modificadas consiste en la producción de atmósferas de alta concentración de dióxido de carbono y baja concentración de oxígeno creando un ambiente letal para todas las plagas insectiles en el interior del depósito de productos almacenados (Bond, 1986).

El dióxido de carbono utilizado en este método puede ser utilizado a partir de gas envasado en cilindros metálicos de diferentes capacidades con un costo relativamente alto, no siendo accesible para pequeños y medianos productores quienes almacenan sus granos en pequeñas cantidades en silos metálicos de 4, 8, 18 y 30qq. El dióxido de carbono también puede ser producido de materiales vegetales como son el banano fruta, el maíz grano y la caña de azúcar por medio del proceso de descomposición o fermentación; estos materiales vegetales en su composición química tienen altas cantidades de azúcares disponibles para la producción del gas (Mora, 1990).

El proceso de fermentación es un proceso metabólico que se caracteriza por la degradación incompleta de los hidratos de carbono. Consiste en la hidrólisis del azúcar a anhídrido carbónico y etanol al resguardo de oxígeno libre (Jørgensen - Hansen, 1959).

El resultado final de la fermentación alcohólica fue expresado por J.L.Gay-Lussac a principios del siglo XIX; ahora se conoce como la **ecuación de Gay-Lussac**:



Los organismos capaces de producir fermentación alcohólica son levaduras y algunas bacterias. Sin embargo, la fermentación alcohólica más importante es producida por bacterias del género **Saccharomyces**. Los hidratos de carbono que se pueden fermentar, por lo general son aquellos que contienen tres átomos de carbono o un múltiplo de los mismos (Jørgensen - Hansen, 1959).

Debido a la búsqueda de una alternativa de control no química y de costos relativamente bajos se diseñó el sistema de atmósferas controladas, adaptándolo a las condiciones de los pequeños y medianos productores del país; tomando en cuenta que los materiales utilizados en su gran mayoría están disponibles en sus hogares o de un costo relativamente bajo, así que también pueden ser utilizados para otras actividades diarias que el agricultor ejecuta.

Con los resultados obtenidos en este trabajo de investigación se pretende tener una visión de que este sistema diseñado sea una posible alternativa no química para el control de plagas insectiles de granos almacenados en estructuras herméticas de almacenamiento de granos a nivel de pequeños y medianos productores y así reducir el uso de productos fumigantes (fosfamina), los cuales si no se realiza un buen manejo al momento de la aplicación podría conllevar a intoxicaciones humanas y animales.

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

El uso generalizado de las atmósferas controladas para el control de insectos es mayormente sobre los cereales y productos similares. En este caso se modifican las atmósferas sacándoles el aire vital, y/o añadiéndoles niveles elevados de dióxido de carbono (Bond, 1986).

El almacenamiento de cereales en recintos herméticamente cerrados o en pozos impermeables al aire permite la acumulación de CO₂ como resultado de la respiración tanto del producto como del insecto que pueda haber (Vayssière, 1948; Bailey, 1955; Kruger, 1960; Hyde, 1962; Monro, 1980).

Las técnicas de la atmósfera controlada son ampliamente utilizadas en los depósitos de productos perecederos tales como frutas, verduras y flores, para retardar el proceso de maduración y reducir el deterioro causado por los microorganismos. Estas también controlarán los insectos en estos productos (Morgan y Gaunce, 1975; Aharoni y otros, 1981; Bond, 1986).

El principio de almacenamiento en atmósferas modificada se ha empleado durante mucho tiempo, por ejemplo en depósitos herméticos. En los últimos años se ha desarrollado un número de procedimientos para reemplazar la atmósfera normal de un depósito con el objeto de controlar los insectos plagas. En muchos casos las prácticas de uso de atmósferas modificadas para el control de insectos es semejante a la fumigación. Cuando se utiliza dióxido de carbono se aplica como fumigante y funciona de forma similar (Bond, 1986).

Los procedimientos de la atmósfera controlada constituyen un sustituto apropiado para la fumigación de algunos productos porque los gases implicados no dejan residuos dañinos y a menudo las atmósferas proveen condiciones mejores que en el almacenamiento normal. En algunos casos los dos procedimientos pueden ser utilizados de forma complementaria para incrementar la eficacia del tratamiento; el dióxido de carbono aumenta la toxicidad de un número de fumigantes para los insectos (Jones, 1938; Kashi y Bond, 1975; Bond, 1986).

Monro, 1980 describe que los sistemas de atmósferas controladas dependen o de la eliminación de oxígeno para asfixiar los organismos o de la introducción del dióxido de carbono para que accione directamente matándolos. En estos tratamientos las nuevas atmósferas se mantienen durante un período adecuado para matar a los organismos de todos sus niveles y no deberían tener efectos adversos sobre los productos. Para lograr buenos resultados con este tratamiento se necesita :

- ◆ Estructura de almacenamiento capaz de contener el gas (hermética).
- ◆ Fuente de gas adecuado o un medio para generar la atmósfera necesaria.
- ◆ Método para mantener la atmósfera durante el período de tiempo requerido.
- ◆ Sistema de ventilación para evacuar la atmósfera alterada después del tratamiento.

El dióxido de carbono ha sido ocasionalmente utilizado como agente para matar insectos y ácaros en granos almacenados. Atmósferas controladas altas en dióxido de carbono, nitrógeno y bajas en oxígeno son fumigantes convenientes porque no producen residuos químicos sobre los alimentos (Jay, 1971; Banks, 1979; Bond, 1986).

Los insectos mueren generalmente más rápido con dióxido de carbono que con una carencia de oxígeno. Una concentración de 60% de dióxido de carbono se controló al 95% de la mayoría de los insectos que atacan los cereales, después de una exposición de 4 días a 27°C o más; sin embargo, para una total mortalidad se precisan mayores períodos de exposición. Banks (1979) sugirió que un nivel inicial que exceda el 70% de dióxido de carbono y mantenido sobre 35% durante 10 días es apropiado para un control total de los insectos a temperaturas sobre 10°C (Jay, 1971; Banks, 1979; Bond, 1986).

En sistemas herméticos la humedad puede condensarse en ciertos puntos y producir problemas especialmente en cereales con más del 12% de humedad. La atmósfera alta en CO₂ o baja en oxígeno puede inhibir la formación de toxinas y hongos, así como preservar la germinación bajo condiciones de humedad en el depósito. Sin embargo, puede ocurrir putrefacción una vez que la atmósfera modificada es evacuada, a menos que, el cereal se seque o se procese en un período corto de tiempo. Al almacenar cereales con contenidos de humedad mayores al 16% y utilizar el sistema de atmósferas modificadas éstos pueden sufrir manchas , el cual es difícil de remover (Banks, 1981; Bond, 1986).

La fumigación para eliminar infestaciones de insectos en productos almacenados ha sido la técnica química de mayor control por muchos años. Recientemente por factores ambientales y de seguridad se ha reducido grandemente el número de fumigantes disponibles para el control de insectos. Consecuentemente un objetivo primordial de recientes investigaciones, ha sido maximizar la eficiencia de los fumigantes para reducir la cantidad de químicos utilizados. Anteriormente las investigaciones sobre mezclas de fumigantes con otros componentes volátiles fue conducidas por Le Goupil (1932) y Pratt (1935). Algunos estudios han considerado mezclas de fumigantes con gases no reactivos como el CO₂ y el nitrógeno, estos estudios fueron hechos para determinar si el CO₂ mezclado con fumigantes podría incrementar el efecto de toxicidad de estos productos por satisfacción de la propiedad sorptiva o si el CO₂ podría estimular la respiración, resultando en el incremento de la toxicidad de algunos fumigantes (Monro, 1980; Bond, 1986).

El dióxido de carbono es un fumigante más efectivo que el nitrógeno porque estimula la respiración del insecto desplazando al oxígeno (Bell, 1980; White, 1992). El incremento en la concentración de CO₂, humedad relativa y temperatura constante usualmente produce un aumento en la mortalidad con una reducción en el tiempo de exposición. La eficiencia del CO₂ es reducida por la disminución de la temperatura e incremento en la humedad relativa (Spratt, 1985; White, 1992). Atmósferas conteniendo niveles de dióxido de carbono de 10 a 30%, bajos niveles de oxígeno (0.5 a 2.6%) y un balance de nitrógeno producido por combustión de hidrocarburos son también efectivos en el control de insectos en productos almacenados (White, N; Jayas, D. 1991).

Todas las plagas existentes de almacenes impermeables al aire morían si la concentración de O₂ se reducía al 2% aproximadamente (Monro, 1980).

Exposiciones de adultos del gorgojo de la harina *Tribolium castaneum* (Herbst) y larvas de la palomilla bandeada del trigo *Plodia interpunctella* (Hübner) a atmósferas de 100% de nitrógeno y 100% de CO₂. El tiempo necesario para matar un 95% de la población del gorgojo de la harina y de las larvas de la palomilla bandeada, respectivamente fue 9.4 y 21.2 horas en el caso del nitrógeno y 11.9 y 24.1 horas en el caso del CO₂ (Monro, 1980).

En otras investigaciones con estos dos gases se utilizaron columnas de trigo en depósitos semejantes a silos durante siete días consecutivos. Como insectos de prueba se utilizaron

larvas de *Trogoderma glabrum* (Hbst.) contenidas en jaulas que se introdujeron en el grano. Cuando la velocidad de flujo de cada gas era 100 milímetros por minuto se redujo la concentración de O₂ a 1 ó 2 % en un día. En estas condiciones ocurrió una mortalidad del 100% de las larvas en la exposición de siete días al CO₂, en el caso del nitrógeno la mortalidad fue sólo de 44%. Se llegó a la conclusión de que la purga de CO₂ es más prometedora que la de nitrógeno como medio para combatir los insectos en depósitos de granos (Monro, 1980).

Leesch, (1992); demostró que el CO₂ fue un factor que incrementó la toxicidad del Bromuro de metilo y otros fumigantes para la plaga *Tribolium castaneum* (Hbst.). Para el Bromuro de metilo, el CO₂ tiene su mayor efecto en concentraciones menores del 40%.

Mueller (1993); realizó experimentos con una combinación de fosfamina (65-100 ppm), calor (32-37°C.) y dióxido de carbono (4-6%), la fumigación se llevó a cabo por un período de 24 horas. Utilizaron para los bioensayos cuatro especies de insectos de granos almacenados en todos sus estados de vida; *Sitotroga cerealella* (Olivier), *Tribolium castaneum* (Herbst), *Trogoderma variable* (Herbst) y *Sitophilus oryzae* (Lin.); fueron colocados en recipientes plásticos de 250 mililitros. Los insectos fueron recobrados desde las 20 horas hasta las 48 horas después de iniciada la fumigación. Todos los estados insectiles evaluados murieron en las primeras 20 horas de iniciada la fumigación. Todas las jaulas utilizadas en el bioensayo fueron incubadas por 30 días en una cámara de crecimiento y no se observó actividad después de este período, mientras el control sobrevivió durante el período de tiempo establecido.

Paster, et al, (1991); realizaron un proyecto experimental donde utilizaron recipientes plásticos de 25 litros de capacidad como biogenerador para la producción de CO₂ a los que equiparon con un tubo de 53 milímetros de diámetro. El substrato utilizado fue afrecho de trigo (Wheat brand) en cantidad de 5 kilogramos para cada biogenerador con 35% de humedad. El CO₂ producido en el biogenerador fue transferida a través del tubo conectado al depósito plástico conteniendo doscientos kilogramos de trigo con 12.8 % de humedad y colocando a diferentes profundidades tres jaulas con adultos de *Tribolium castaneum* (Herbst) con edad entre 7 y 10 días de emergencia, realizando tres repeticiones. Midieron las condiciones ambientales (T° y H°) en un termohigrógrafo cerca del depósito de granos. Los niveles de CO₂ fueron medidos con un analizador infrarrojo de gas Riken modelo RI-

550 A y el contenido de O₂ por un detector paramagnético portable. Las muestras de gases fueron retiradas del depósito a intervalos de 24 horas a través de los tubos instalados a tres profundidades en el depósito. Después de 24 horas la actividad de la microflora produjo en el biogenerador gas con una composición de 25.3% de CO₂ y 1.5% de O₂ y al transferirlo al depósito de granos fue de 18.8% de CO₂ y 4.7% de O₂. A los 9 días la relación CO₂:O₂ en el depósito fue de 13.8:8.3. Un tiempo de exposición de cinco días, una concentración de gas de 22% de CO₂ y 5% de O₂ causó un 95% de mortalidad de *Tribolium castaneum* (Herbst).

Calderón, Paster, Menasherov y Mora, (1991), realizaron pruebas sobre control de insectos con agricultores en las localidades de Río Frío, región Brunca (Brisas y Volcán) y en la región Huetar (Guácimo y Jiménez), utilizando para producir CO₂ (caña de azúcar cortada en pequeños pedazos sumergida en agua y banano desbaratado, en cantidades de diez kilogramos mezclado con diez litros de agua). Le adicionaron levadura en concentración del 0.5% del peso del sustrato. Como biogenerador utilizaron un recipiente plástico de treinta y ocho litros de capacidad con un tubo de polietileno conectado en la tapa de este. A través de este tubo fluía el gas hacia el depósito de granos, los cuales eran barriles metálicos de doscientos litros de capacidad. Colocaron en pequeñas jaulas cincuenta adultos del gorgojo del maíz con maíz de sustrato, colocadas abajo y en el centro dentro de los depósitos de granos. En las pruebas realizadas en la zona de Río Frío; el CO₂ en los barriles fue del 88% al inicio, disminuyendo la concentración al 33% después de 36 días. Se obtuvo una mortalidad total de la población de insectos durante este período de tiempo. En las regiones Huetar y Brunca, ambos sustratos resultaron efectivos en la biogeneración de gas. Después de seis días en los depósitos de granos hubo una concentración aproximada al 80% de CO₂ el cual persistió después de cuatro semanas de almacenamiento, presentando una mortalidad del 100% del gorgojo del maíz en el maíz almacenado.

Mora, (1994); realizó varios ensayos con el gorgojo del maíz para probar el efecto del CO₂ producido en biogeneradores en el tratamiento de maíz infestado en forma natural, utilizando baldes plásticos de 38 litros de capacidad (como biogeneradores) y caña de azúcar como sustrato en cantidades de 10 y 15 kilogramos, agua y 0.4% de levadura realizando dos repeticiones. Los biogeneradores se conectaron a silos soldados y

estañones. Se midió la concentración del CO₂ y O₂ antes y después del tratamiento con los biogeneradores y a cada momento de muestreo: a la una, dos y tres semanas después. Al vaciar los depósitos herméticos se tomaron cinco muestras de cinco kilogramos cada una para la evaluación de la infestación. Se obtuvo como resultado que hubo un 100% de mortalidad del gorgojo del maíz en los silos y estañones tratados. Durante los diez días de generación se alcanzó un máximo de 92% de CO₂ en los estañones y 86% de CO₂ en los silos. La concentración de CO₂ en los estañones al final de las tres semanas fue de un 63%.

Mora, (1994); probó el efecto del CO₂ comercial sobre insectos colocados en pequeñas bolsas en silos de metal y estañones. La velocidad de pérdida de gases se evaluó llenando la estructuras hasta tener cerca de un 90% de CO₂ y midiendo la concentración dentro de los depósitos al inicio y después de 6, 12, 24 y 48 horas de haber sido llenados. Los depósitos se llenaron con maíz blanco con 14% de humedad hasta 2/3 de su capacidad total. Se utilizó baldes de 38 litros de capacidad como biogeneradores y de substrato caña de azúcar y agua en relación 1:1 con 0.5% de levadura. Se llenaron pequeñas bolsas de telas con 50 gramos de maíz y 50 adultos vivos de *Sitophilus zeamais* (Motsch.) colocándolas en la mitad y fondo de los depósitos. Después de conectar los biodigestores a los depósitos de granos por un período de cinco días. Se midió la concentración de CO₂ todos los días durante doce días. Como resultado se obtuvo que después de 48 horas, la concentración de CO₂ disminuyó a 50% en los silos. En las pruebas con biogeneradores en sólo dos días la concentración de CO₂ aumentó a más del 60% en los estañones y silos; al terminarse el tratamiento con los biogeneradores, los estañones tenían en promedio 80% de CO₂ y 3.2% de O₂ y los silos 58% de CO₂ y 7.3% de O₂. En los silos con concentraciones de CO₂ superiores al 30% y concentraciones de O₂ cerca del 10%, a los seis días se obtuvo una mortalidad del 100%, al igual que a los doce días de exposición. Para el caso de los estañones con concentraciones de CO₂ superiores del 50% y concentraciones de O₂ cerca del 10% a los 6 y 12 días se obtuvo una mortalidad del 100%.

Whiting, et al, (1992); determinaron que concentración de 5% de CO₂ es la más efectiva para el control de plagas lepidópteras *Epiphyas postvittana* (Walker) y *Cydia pomonella* (L.), cuando combinó con 0.4% de O₂ a temperaturas de 20°C. El adulto de *Tetranychus urticae* (Kock) en estado de diapausa, murieron más rápidamente cuando la concentración de CO₂ fue arriba del 20%.

Whiting; Van Den Heuvel, (1992); realizaron investigaciones del efecto de atmósferas controladas sobre *Tetranychus urticae* (Kock) en estado de diapausa. Los insectos fueron expuestos a tratamientos diarios de atmósferas controladas a diferentes temperaturas para determinar el tiempo letal en que alcanzara el 50% (TL₅₀), 99% (TL₉₉) de mortalidad. A temperaturas de 20°C en concentraciones de O₂ de 0.4% combinada con concentraciones de CO₂ de 20% se disminuyó el TL₉₉ a 113 horas. Con un incremento en la temperatura a 40°C en el mismo tratamiento, disminuyó significativamente el TL₉₉ a 15.5 horas. La reducción sustancial en el tiempo para matar a *T. urticae* (Kock) en tratamientos con atmósferas controladas, podría ser causado por el aumento de la temperatura y la parcial reactivación del período de diapausa del estado adulto.

Lidster et al, (1981); investigaron el efecto de atmósferas controladas en la mortalidad de huevos de *Aculus schelechtendali* (Nal) y *Panonychus ulmi* (Kock) en manzanas. Luego de 27 semanas de exposición y la combinación de atmósferas con un rango de concentraciones de O₂ (0.5-3%) y de CO₂ (0-5%) a 2.8°C no encontraron huevos viables de las especies. Sin embargo a una mezcla constante de 3% de O₂ y 5% de CO₂ hubo sobrevivencia de huevos.

White y Jayas, (1991); realizaron experimentos para el control de insectos y ácaros con dióxido de carbono en trigo almacenado a bajas temperaturas. Evaluaron el CO₂ en concentraciones de 15 a 50% y el trigo tenía una temperatura entre 12-15°C, con un contenido de humedad del 14.8% por un período de 84 días. Utilizaron depósitos soldados y no soldados. Se infestó el grano al inicio del experimento con adultos de *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens); además el grano contenía infestaciones naturales de baja densidad de *Tribolium castaneum* (Hbst.), *Ahasverus advena* (Waltl) y ácaros *Tarsonemus granarius* (Lindquist), *Paratriophtydeus coineau* (André), *Lepidoglyphus destructor* (Schrank) y *Aeroglyphus robustus* (Banks); dejándolos por un período de 5

semanas para su desarrollo y multiplicación a temperaturas de $30 \pm 2^\circ\text{C}$. Se adicionó el CO_2 desde un cilindro a 9 depósitos a los 0, 7, 14 y 28 días. En los depósitos sellados a los 14 días. En este estudio se concluyó que en depósitos con CO_2 por un período de 6 días es tan efectivo como el de 14 días, manteniendo la concentración de CO_2 cerca del 50% y con temperaturas entre $12\text{-}15^\circ\text{C}$. Virtualmente todos los artrópodos fueron controlados en 42 días bajo estas condiciones, cuando el CO_2 permaneció superior del 15%.

White, Jayas, y Sinha, (1992); utilizaron concentraciones de dióxido de carbono cerca del 20% y concentraciones de O_2 entre el 5 y 10% para el control de poblaciones de *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) en depósitos con trigo a temperaturas de $25 \pm 3^\circ\text{C}$. Cuando las temperaturas disminuyeron de 21 a 7°C ., el 99.6% de la población de *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) murieron en un período de tiempo de 12 semanas y el nivel de CO_2 disminuyó de 20 a 9% y el nivel de O_2 aumentó de 16 a 19.5%.

El empleo de CO_2 para combatir los insectos en los almacenes de alimentos puede llegar a ser interesante en el futuro, siempre que los gastos generales que su uso propone puedan ser equivalentes o menores a los del empleo de gases tóxicos. Probablemente no se formarían residuos químicos que pudiesen provocar peligro alguno para el consumidor. Este último aspecto constituye una ventaja, especialmente cuando una cierta cantidad de grano se ha fumigado ya con sustancias químicas en cantidades que dejan residuos que llegan o se aproximen a las cuantías tolerables (Monro, 1980).

III. OBJETIVOS:

1. Generar información sobre la utilización del dióxido de carbono (CO₂) producido de fuentes naturales para el control del *Sitophilus zeamais* Motschulsky, en maíz almacenado en silos metálicos de 4 quintales de capacidad.
2. Evaluar banano fruta, maíz grano y caña de azúcar como fuente productora de dióxido de carbono.
3. Determinar la eficacia del dióxido de carbono como método de control del gorgojo del maíz en silos metálicos de 4qq.

IV. MATERIALES Y METODOS:

4.1. UBICACION DEL ENSAYO.

El presente trabajo se desarrolló desde julio de 1995 a mayo de 1996, en el laboratorio del Programa Postcosecha de Granos Básicos del Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA), Managua, Nicaragua.

4.2. METODOLOGIA:

El trabajo se realizó en dos etapas . En la etapa I se evaluaron el banano, maíz y caña de azúcar como fuente generadora de CO₂ por medio del proceso de fermentación con niveles de 0.0 y 0.5% de levadura, realizando tres repeticiones para cada producto. En la segunda etapa se determinó el porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz en silos metálicos, utilizando dióxido de carbono obtenido de los productos vegetales: banano, maíz y caña de azúcar con 0 y 0.5% de levadura, en diferentes períodos de exposición.

4.2.1. ETAPA I: Evaluación de productos naturales para la producción de Dióxido de Carbono (CO₂) a partir del proceso de fermentación.

Se evaluaron tres fuentes naturales: caña de azúcar, banano y maíz. A este último se le adicionó dulce en cantidad de 0.5 kilogramos por biodigestor. Para cada producto natural se evaluaron tratamientos con levadura en concentraciones de 0.0 y 0.5% del peso total de la materia a fermentar en el biodigestor. Se realizaron tres repeticiones para cada uno.

Los tratamientos evaluados en esta etapa se presentan a continuación (cuadro 1).

Cuadro 1. Tratamientos evaluados para la producción de dióxido de carbono a partir de fuentes naturales por el proceso de fermentación.

TRATAMIENTOS	DESCRIPCION
1	Banano fruta con 0.5% de levadura
2	Banano fruta con 0.0% de levadura
3	Maíz grano con 0.5% de levadura y 0.5 Kg de dulce
4	Maíz grano con 0.0% de levadura y 0.5 Kg de dulce
5	Caña de azúcar con 0.5% de levadura
6	Caña de azúcar con 0.0 % de levadura

Para los seis tratamientos evaluados en esta etapa se utilizó como biodigestor un depósito cilíndrico de polietileno (balde) con su respectiva tapa con capacidad de 18 litros aproximadamente. En la tapa se hizo un orificio donde se insertó una manguera de polietileno con un diámetro de 10 milímetros, sellando con pegamento silicone el área de contacto de la tapa con la manguera por arriba y abajo de esta para evitar algún escape del gas producido.

En el biogenerador se colocaron los materiales para la fermentación. El banano, la caña de azúcar y el maíz se agregaron por separado en cantidades de 6.4, 6.8 y 7.3 kilogramos respectivamente, sumergidos en agua (Mora, 1990). El biodigestor se dejó sin tapa por un período de 24 horas (inoculación natural) para absorber levaduras del medio ambiente con el fin de acelerar el proceso de fermentación.

Después de este período se adicionó la levadura (0.0 y 0.5%) según el tratamiento. Al sellar el recipiente, se agregó en la ranura de la tapa del biodigestor “cebo de candela” ejerciéndole presión para obtener una mayor hermeticidad y evitar escape de gas.

Para determinar el momento inicial de la producción de CO₂ se colocó el extremo libre de la manguera en un recipiente plástico con agua; al haber producción y emisión de gases en el biodigestor éstos fluían por el extremo libre de la manguera formando burbujas en el interior del recipiente. Se realizaron conteos de burbujas emitidas por un período de tres minutos cada dos horas, tomando la primera lectura dos horas después de sellar el biogenerador y colocar el extremo libre de la manguera en el recipiente con agua para conocer el momento inicial, máximo y final de la producción de gas.

Momento Inicial: Primeras burbujas en el recipiente.

Momento Máximo: Cuando la emisión de burbujas en tres minutos es la mayor cantidad producida en el proceso de fermentación.

Momento Final: Emisión de burbujas en tres minutos es menor o igual a la inicial.

El diseño utilizado fue un diseño completamente al azar (DCA); con tres repeticiones para cada tratamiento evaluado en esta etapa.

4.2.2. ETAPA II: Determinación del porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz en maíz almacenado en silos metálicos de 4 qq. con y sin salida de aire, utilizando las fuentes productoras de CO₂ evaluadas en la primer etapa.

Los tratamientos evaluados en esta etapa se presentan a continuación (cuadro 2).

Cuadro 2. Tratamientos evaluados para la determinación de la mortalidad del gorgojo del maíz con dióxido de carbono a partir de fuentes naturales por el proceso de fermentación.

TRATAMIENTOS	DESCRIPCION	PERIODOS DE EXPOSICION (DIAS)
TRATAMIENTO SIN SALIDA DE AIRE		
1	Banano con 0.5% de levadura	6, 8 y 10
2	Banano con 0.0% de levadura	6, 8 y 10
3	Maíz con 0.5% de levadura	6, 8 y 10
4	Maíz con 0.0% de levadura	6, 8 y 10
5	Caña de azúcar con 0.5% de levadura	6, 8 y 10
6	Caña de azúcar con 0.0% de levadura	6, 8 y 10
TRATAMIENTO CON SALIDA DE AIRE		
1	Banano con 0.5% de levadura	6, 8 y 10
2	Banano con 0.0% de levadura	6, 8 y 10
3	Maíz con 0.5% de levadura	6, 8 y 10
4	Maíz con 0.0% de levadura	6, 8 y 10
5	Caña de azúcar con 0.5% de levadura	6, 8 y 10
6	Caña de azúcar con 0.0% de levadura	6, 8 y 10

El maíz utilizado para llenar los silos metálicos fue secado hasta que el grano alcanzó el contenido de humedad del 14% y después fumigado con fosfuro de aluminio según dosis y recomendaciones del Programa Nacional Postcosecha, para eliminar posibles infestaciones del grano.

Los silos metálicos fueron llenados con maíz hasta 5/6 de su capacidad total.

En el interior del silo metálico se colocaron tres jaulas con 100 gorgojos del maíz a diferentes profundidades, a 30 y 60 cm de la boca de entrada y en el fondo del silo metálico. La tapa superior e inferior del silo metálico fueron selladas con cinta adhesiva para evitar la salida de gases. Se conectó el biodigestor por medio del extremo libre de la manguera de polietileno al tubo de cobre de la tapa superior del silo metálico. Las jaulas utilizadas consistían en recipientes plásticos de 1 litro de capacidad con tapas de rosca, conteniendo aproximadamente una libra de maíz en grano, el cual fue infestado con 100

gorgojos provenientes del cultivo del laboratorio (anexo 1), con edad entre los quince y veinte días después de su emergencia. Para evitar el escape de los insectos y que el gas penetrara en el interior del frasco, en las tapas de los recipientes se hizo un orificio en la parte superior formando un círculo y en el centro se colocó un cuadro de tela fina.

4.2.2.1. Montaje de biodigestores.

Se procedió a montar los biodigestores utilizando los tratamientos evaluados en la etapa anterior y todas las actividades realizadas para la producción de dióxido de carbono.

4.2.2.2. Conexión biodigestor - silo metálico.

En la tapa superior del silo metálico se hicieron dos orificios en donde se insertaron y se soldaron dos tubos de cobre de 15 centímetros de longitud y 10 milímetros de diámetro, para conectar la manguera proveniente del biodigestor y para el escape de aire respectivamente.

La manguera del biodigestor se conectó al silo metálico formando una vuelta hacia abajo en forma de "U" por donde el gas se trasladó pasivamente hacia el silo metálico. Antes de conectar la manguera al silo metálico se le agregaron 50 mililitros de agua aproximadamente, la que se acumuló en la vuelta en forma de "U" con el objetivo de absorber la humedad que traía el gas proveniente del biodigestor.

4.2.2.3. Determinación del porcentaje de dióxido de carbono en el interior del silo metálico.

Para medir el porcentaje de CO₂ en el interior de la estructura de almacenamiento se realizó por medio del método químico del Hidróxido de Sodio (NaOH) utilizado en el proyecto UNI-DINOT* (Osejo, 1993). Al momento en que se desconectó el biodigestor y se selló el tubo de conexión del silo metálico se midió el porcentaje de dióxido de carbono dentro del silo metálico (anexo 2).

En el caso de los tratamientos con salida de aire, se selló la salida de aire a las 6 horas después de haberse conectado el biodigestor al silo metálico, realizando después la medición de CO₂. Después se hicieron mediciones cada dos días durante el período de tiempo establecido en cada bioensayo (6, 8 y 10 días respectivamente).

4.2.2.4. Determinación del porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz.

Se evaluaron tres períodos de exposición, a los 6, 8 y 10 días. Después de haber terminado el período de exposición al gas, se procedió a abrir los silos metálicos, retirando las jaulas del interior de éstos, se abrieron las jaulas, tamizando para separar el grano de los insectos, se contó los insectos vivos y muertos para determinar el porcentaje de mortalidad. Se realizó esta actividad para todas las repeticiones evaluadas.

Cada vez que finalizó un bioensayo, el maíz fue sacado del silo metálico y puesto en contacto con el aire ambiental para eliminar el CO₂ que pudo quedar en el interior de esta estructura de almacenamiento.

4.2.2.5. Medición del contenido de humedad del grano.

Se determinó la humedad del grano con que se llenaron los silos metálicos antes y después de cada bioensayo para conocer si hubo aumento en la humedad en el período de conexión del biodigestor al depósito de almacenamiento durante la inyección del gas. La medición del porcentaje de humedad del grano se realizó con el aparato SAMAP-O-TEST (anexo 3).

4.3. Análisis de datos.

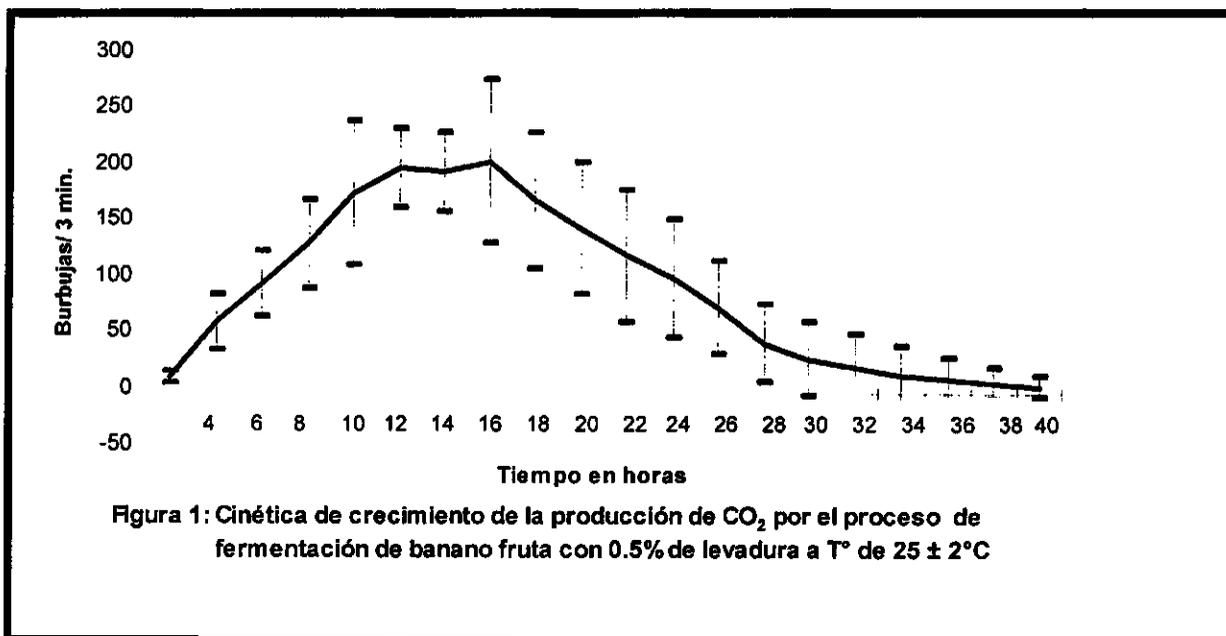
El análisis de datos fue realizado en el centro de computo de la Escuela de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional Agraria (ESAVE - UNA). El diseño utilizado en esta etapa fue un diseño completamente al azar (DCA) con tres repeticiones. Se utilizó el programa SAS; Se realizó análisis de varianza según los períodos de exposición, a los 6, 8 y 10 días por separado, en los tratamientos con y sin salida de aire. Por la confiabilidad de los datos se analizaron los datos según la prueba de rango múltiple de Duncan ($\alpha = 0.05$).

V. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1. RESULTADOS:

5.1.1 ETAPA I: Evaluación de productos naturales para la producción de dióxido de carbono (CO₂) a partir del proceso de fermentación en biodigestores.

El producto vegetal con mejores resultados en la producción de CO₂ en biodigestores fue el banano-fruta con levadura. Este producto inició su producción de dióxido de carbono a las dos horas después de sellar el biodigestor. Su punto inicial promedio fue de 13 burbujas en tres minutos de conteo, llegando a obtener su punto máximo de producción de CO₂ a las 16 horas con un promedio de 205 burbujas por tres minutos de conteo. Después de este período de tiempo la producción de gas comenzó a decrecer (Figura 1).



En el tratamiento banano-fruta sin levadura, la velocidad de producción de CO₂ fue más lenta y en menor cantidad con respecto al tratamiento banano-fruta con levadura, iniciando a las dos primeras horas su producción y crecer lentamente durante las siguientes 14 horas, teniendo su punto máximo a las 16 horas de iniciado el proceso con un promedio de 93 burbujas emitidas en tres minutos y comenzando a disminuir a partir de la 30^{va} hora (Figura 2).

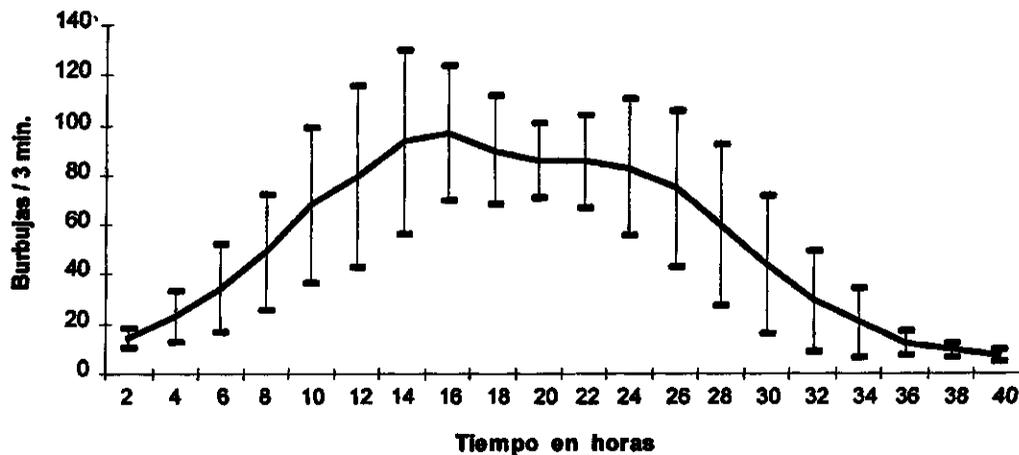


Figura 2. Cinética de crecimiento de la producción de CO₂ por el proceso de fermentación de banano con 0.0% de levadura a T de 25 ± 2°C.

En los tratamientos de maíz-grano (con y sin levadura), la producción fue menor en tiempo y cantidad de CO₂ en comparación con los tratamientos de banano-fruta. El tratamiento de maíz-grano con levadura presentó su punto máximo de producción de CO₂ entre las 6 y 8 horas después de iniciado el proceso con una cantidad promedio de 112 burbujas en el período de tiempo comprendido, extendiéndose la producción de gas a 36 horas (Figura 3)

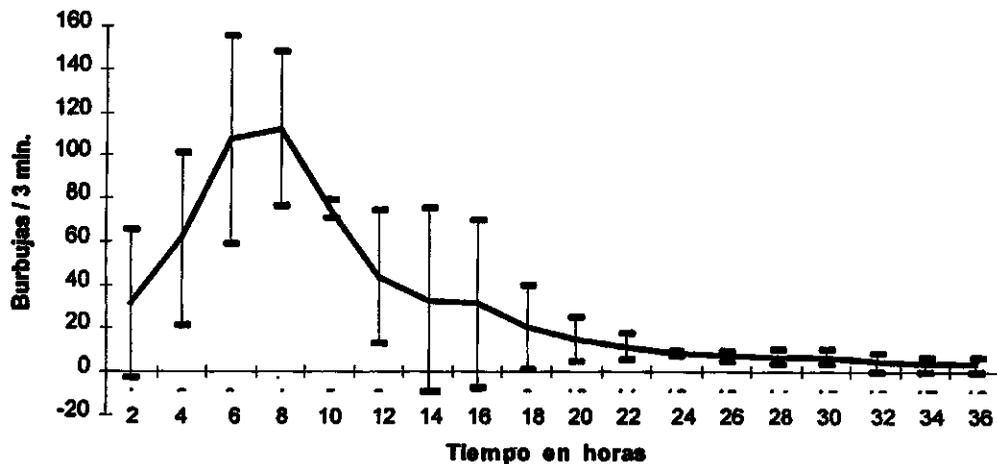
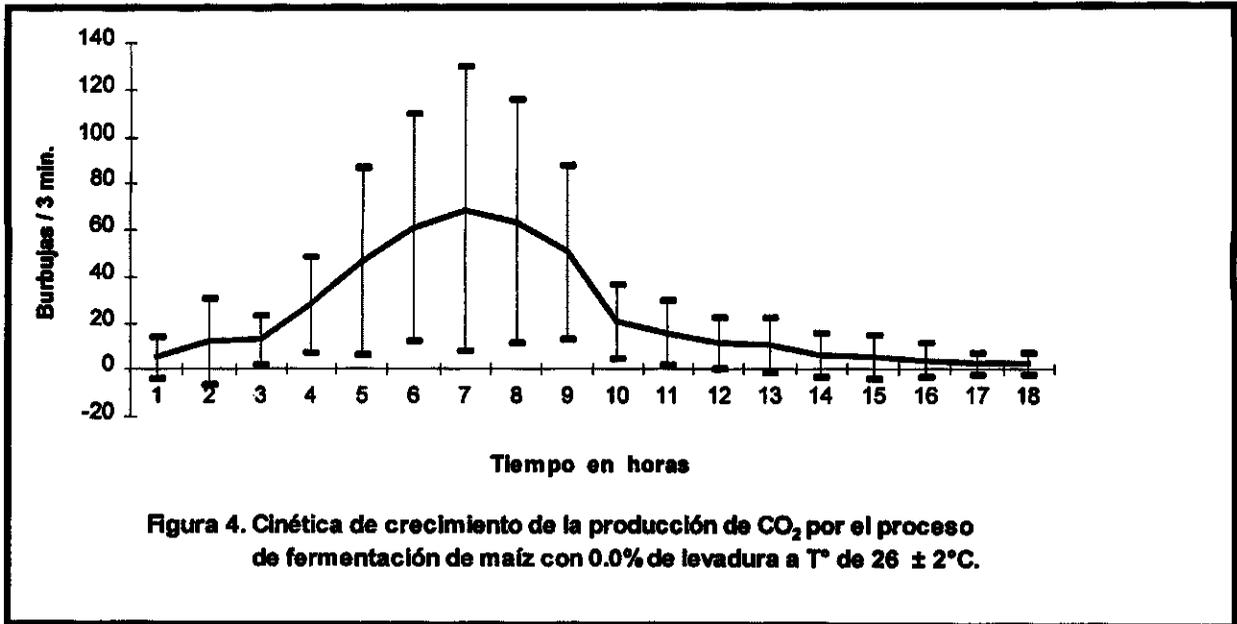


Figura 3. Cinética de crecimiento de la producción de CO₂ por el proceso de fermentación de maíz con 0.5% de levadura a T° de 26 ± 2°C.

En el tratamiento maíz-grano sin levadura, su punto máximo de producción de gas fue a las 14 horas con una producción de CO₂ de 68 burbujas en el tiempo estipulado. Después de este período de tiempo, la producción de CO₂ tiende a disminuir rápidamente y a las 22 horas del proceso presentó la cantidad de 15 burbujas por el período de tiempo de conteo, manteniéndose hasta las 36 horas con cantidad menor a las 10 burbujas en tres minutos (Figura 4).



En el tratamiento caña de azúcar con levadura, el período de tiempo de producción de CO₂ es de aproximadamente 66 horas. Su mayor producción de gas en los tres minutos de tiempo fue a la 4^{ta} hora con la cantidad promedio de 55 burbujas y manteniéndose casi constante desde la 6^{ta} hora hasta la 60^{va} hora con cantidades promedios entre 20-30 burbujas por espacio de tres minutos de tiempo. (Figura 5).

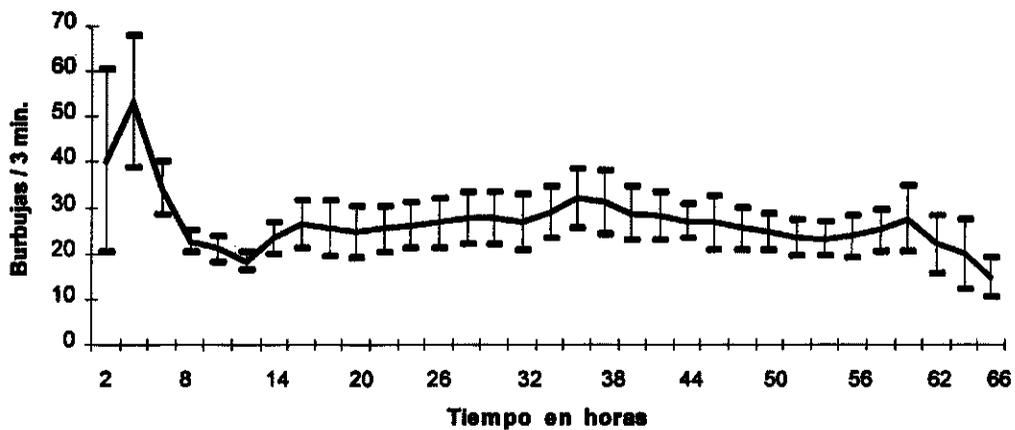


Figura 5. Cinética de crecimiento de la producción de CO₂ por el proceso de fermentación de caña de azúcar con 0.5% de levadura a T° de 26 ± 2°C.

En el tratamiento caña de azúcar sin levadura la cantidad de gas producida fue relativamente menor que con el producto caña de azúcar con levadura. La producción inicial promedio de gas se dio a partir de la segunda hora con una cantidad de 3 burbujas y alcanzando su punto máximo de gas producido entre las 46 y las 50 horas con una cantidad promedio de 8 burbujas en el tiempo de conteo (Figura 6).

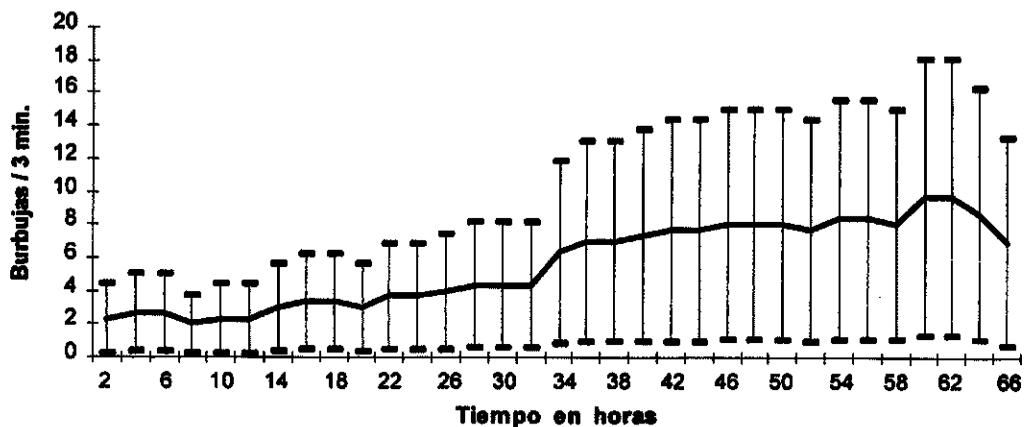


Figura 6. Cinética de crecimiento de la producción de CO₂ por el proceso de fermentación de caña de azúcar con 0.0% de levadura a T° de 27 ± 2°C.

5.1.2 ETAPA II: Determinación del porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz expuesto a CO₂ en silos metálicos de 4qq.

5.1.2.1. Pruebas en silos metálicos de 4 qq sin salida de aire:

a) Período de exposición de seis días.

En base a los datos obtenidos con el análisis estadístico se encontró diferencia significativa entre los tratamientos evaluados (cuadro 3).

Cuadro 3. Análisis de varianza de los datos obtenidos del porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz en un período de exposición de seis días en silos metálicos sin salida de aire.

Fuente de variación	G.L.	S.M.	C.M.	Fc	Pr>F
Tratamientos	5	33127.6111	6625.5222	544.6	0.0001
Error	12	146.0000	12.16667		
Total	17	33273.6111			

C. V. (%) = 6.546960 R² = 0.995612

No hubo diferencia significativa en los tratamientos caña de azúcar y maíz con levadura pero si con los demás tratamientos evaluados. El mejor tratamiento fue caña de azúcar y maíz con levadura y el de menor producción de CO₂ fue banano con de levadura (cuadro 4).

Cuadro 4. Resultados obtenidos de las pruebas realizadas en silos metálicos sin salida de aire con banano, maíz y caña de azúcar con y sin de levadura como fuente productora de CO₂ por la prueba de rango múltiple de Duncan en un período de exposición de seis días.

Tratamientos	Porcentajes (%)	
	Mortalidad	Dióxido de carbono
Caña de azúcar con 0.5% de levadura	100 A*	43
Maíz con 0.5% de levadura	96 AB	35
Caña con 0.0% de levadura	91.6 B	30
Maíz con 0.0% de levadura	17 C	12
Banano con 0.0% de levadura	12.7C	10
Banano con 0.5% de levadura	2.3 J	12

* Números seguidos de letras iguales no son significativamente diferentes por la prueba de rango múltiple de Duncan ($\alpha = 0.05$).

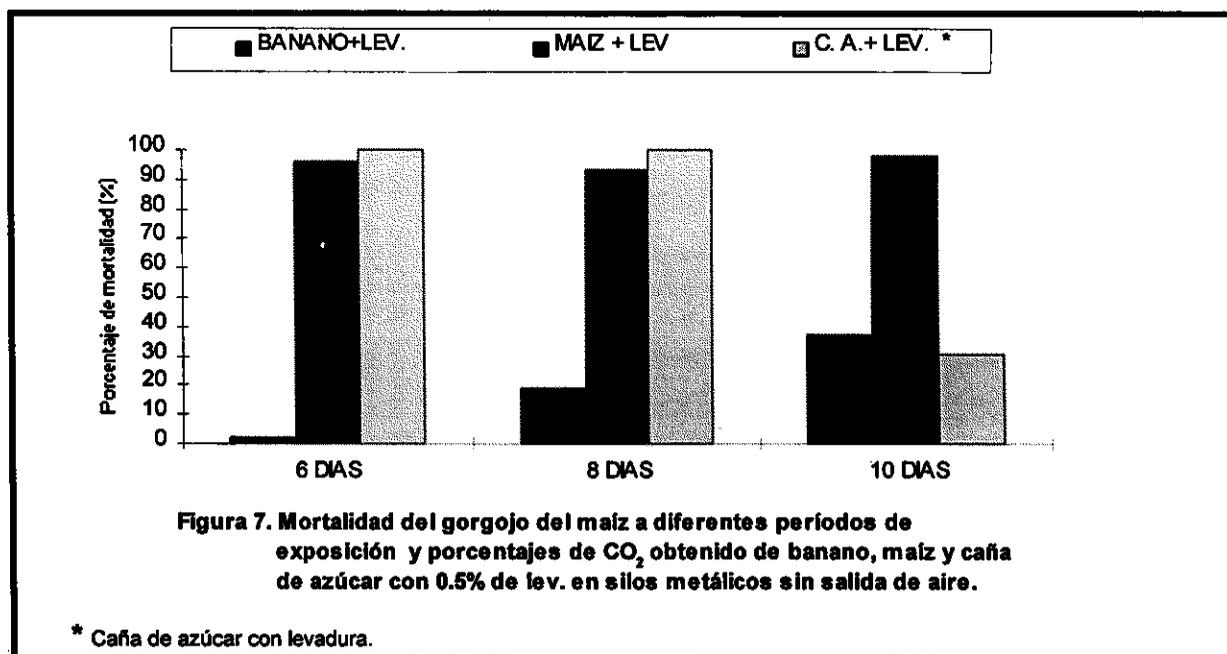
No hubo diferencia significativa en los tratamientos caña de azúcar y maíz con levadura pero si con los demás tratamientos evaluados. El mejor tratamiento fue caña de azúcar y maíz con levadura y el de menor producción de CO₂ fue maíz sin levadura (cuadro 8).

Cuadro 8. Resultados obtenidos de las pruebas realizadas en silos metálicos sin salida de aire con banano, maíz y caña de azúcar con y sin levadura como fuente productora de CO₂ por la prueba de rango múltiple de Duncan en un período de exposición de diez días.

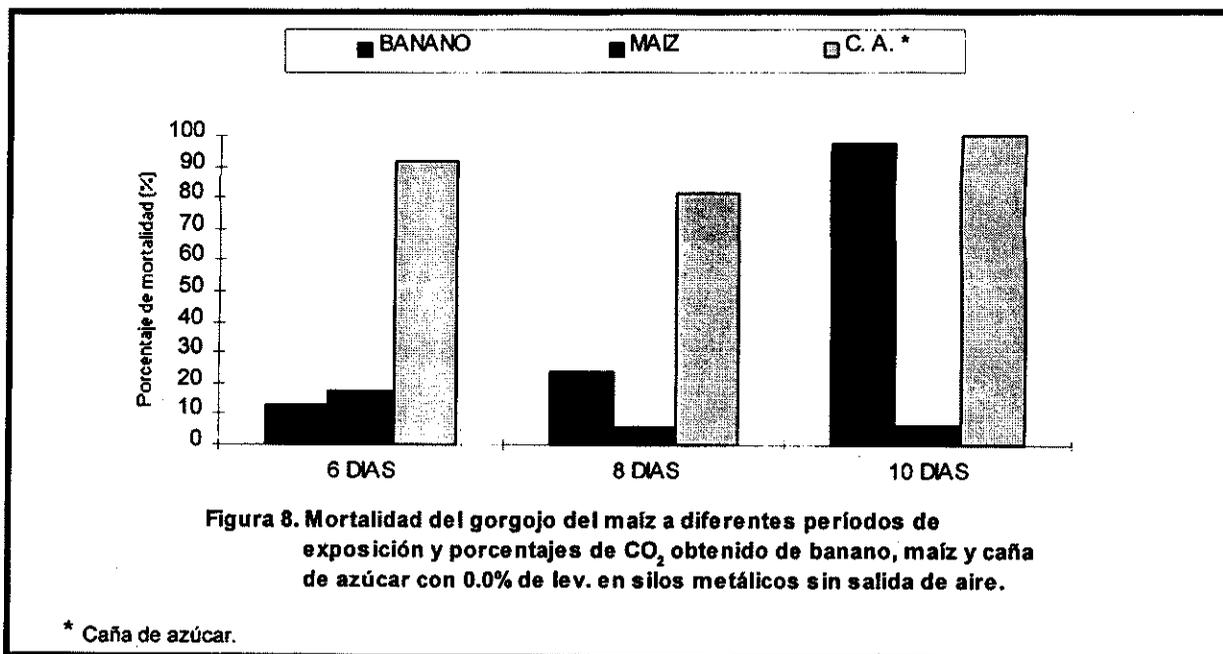
Tratamientos	Porcentajes (%)	
	Mortalidad	Dióxido de carbono
Caña de azúcar con 0.0% de levadura	100 A*	36
Maíz con 0.5% de levadura	98 A	25
Banano con 0.0% de levadura	97.3 A	25
Banano con 0.5% de levadura	37.3 B	12
Caña de azúcar con 0.5% de levadura	30.3 C	10
Maíz con 0.0% de levadura	6.6 D	10

* Números seguidos de letras iguales no son significativamente diferentes por la prueba de rango múltiple de Duncan ($\alpha = 0.05$).

En los tratamientos con levadura, el porcentaje de dióxido de carbono producido por cada producto vegetal por el proceso de fermentación fue diferente. Se presentó diferencia en la mortalidad del gorgojo del maíz en los diferentes periodos de exposición. Los productos caña de azúcar y el maíz cuando produjeron el 25% de dióxido de carbono, se obtuvo el 96% de mortalidad en un período de exposición mayor a 6 días. La mayor mortalidad del gorgojo del maíz en el bioensayo con banano-fruta fue a los 10 días de exposición en el silo metálico con un 37.3% y un 13% de dióxido de carbono (Figura 7).



En los tratamientos sin levadura, con caña de azúcar se obtuvo el 91.6% de insectos muertos con promedio del 30% de CO₂ después de seis días de exposición. Con el banano se produjo 25% de gas y en 10 días de evaluación se obtuvo un 97% de mortalidad del insecto. Con cantidades menores del 13% de dióxido de carbono producido por banano y maíz se obtuvo menos del 30% de insectos muertos en un período de exposición de 10 días dentro de los silos metálicos (Figura 8).



5.1.2.2. Pruebas en silos metálicos de 4 qq con salida de aire:

a) Período de exposición de seis días.

En base a los datos obtenidos con el análisis estadístico se encontró diferencia significativa entre los tratamientos evaluados (cuadro 9).

Cuadro 9. Análisis de varianza de los datos obtenidos del porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz en un período de exposición de seis días en silos metálicos con salida de aire.

Fuente de variación	G.L.	S.M.	C.M.	Fc	Pr>F
Tratamientos	5	30705.8333	6141.16667	665.91	0.0001
Error	12	110.66667	9.22222		
Total	17	30816.5000			

C. V. = 4.911285

R² = 0.996409

No hubo diferencia significativa en los tratamientos caña de azúcar y maíz con levadura pero si con los demás tratamientos evaluados. El mejor tratamiento fue caña de azúcar y maíz con levadura y el de menor producción de CO₂ fue banano con levadura (cuadro 10).

Cuadro 10. Resultados obtenidos de las pruebas realizadas en silos metálicos con salida de aire con banano, maíz y caña de azúcar con y sin levadura como fuente productora de CO₂ por la prueba de rango múltiple de Duncan en un período de exposición de seis días.

Tratamientos	Porcentajes (%)	
	Mortalidad	Dióxido de carbono
Caña de azúcar con 0.5 % de levadura	100 A*	49
Maíz con 0.5 % de levadura	98.3 A	35
Banano con 0.0 % de levadura	90.7 B	30
Caña de azúcar con 0.0 % de levadura	72.3 C	25
Maíz con 0.0 % de levadura	6.7 D	11
Banano con 0.5 % de levadura	3.0 D	10

* Números seguidos de letras iguales no son significativamente diferentes por la prueba de rango múltiple de Duncan ($\alpha = 0.05$).

b) Período de exposición de ocho días.

En base a los datos obtenidos con el análisis estadístico se encontró diferencia significativa entre los tratamientos evaluados (cuadro 11).

Cuadro 11. Análisis de varianza de los datos obtenidos del porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz en un período de exposición de ocho días en silos metálicos con salida de aire.

Fuente de variación	G.L.	S.M.	C.M.	Fc	Pr>F
Tratamientos	5	13365.1666	2673.0333	601.43	0.0001
Error	12	53.3333	4.4444		
Total	17	13418.5000			

C. V. = 2.881346 R² = 0.996025

No hubo diferencia significativa en los tratamientos caña de azúcar y banano con levadura pero si con los demás tratamientos evaluados. El mejor tratamiento fue caña de azúcar y maíz con levadura y el de menor producción de CO₂ fue maíz sin levadura (cuadro 12).

Cuadro 12. Resultados obtenidos de las pruebas realizadas en silos metálicos con salida de aire con banano, maíz y caña de azúcar con y sin levadura como fuente productora de CO₂ por la prueba de rango múltiple de Duncan en un periodo de exposición de ocho días.

Tratamientos	Porcentajes (%)	
	Mortalidad	Dióxido de carbono
Caña de azúcar con 0.5 % de levadura	99.7 A*	36
Banano con 0.5 % de levadura	99.7 A	35
Maíz con 0.5 % de levadura	89.7 B	28
Caña de azúcar con 0.0 % de levadura	67 C	22
Banano con 0.0 % de levadura	60.67 D	21
Maíz con 0.0 % de levadura	22.3 E	12

* Números seguidos de letras iguales no son significativamente diferentes por la prueba de rango múltiple de Duncan ($\alpha = 0.05$).

c) Período de exposición de diez días.

En base a los datos obtenidos con el análisis estadístico se encontró diferencia significativa entre los tratamientos evaluados (cuadro 13).

Cuadro 13. Análisis de varianza de los datos obtenidos del porcentaje de mortalidad del gorgojo del maíz en un periodo de exposición de diez días en silos metálicos con salida de aire.

Fuente de variación	G.L.	S.M.	C.M.	Fc	Pr>F
Tratamientos	5	14495.1111	2899.02222	884.45	0.0001
Error	12	39.33333	3.27778		
Total	17	14354.4444			

$$C. V. (\%) = 2.428341 \quad R^2 = 0.997294$$

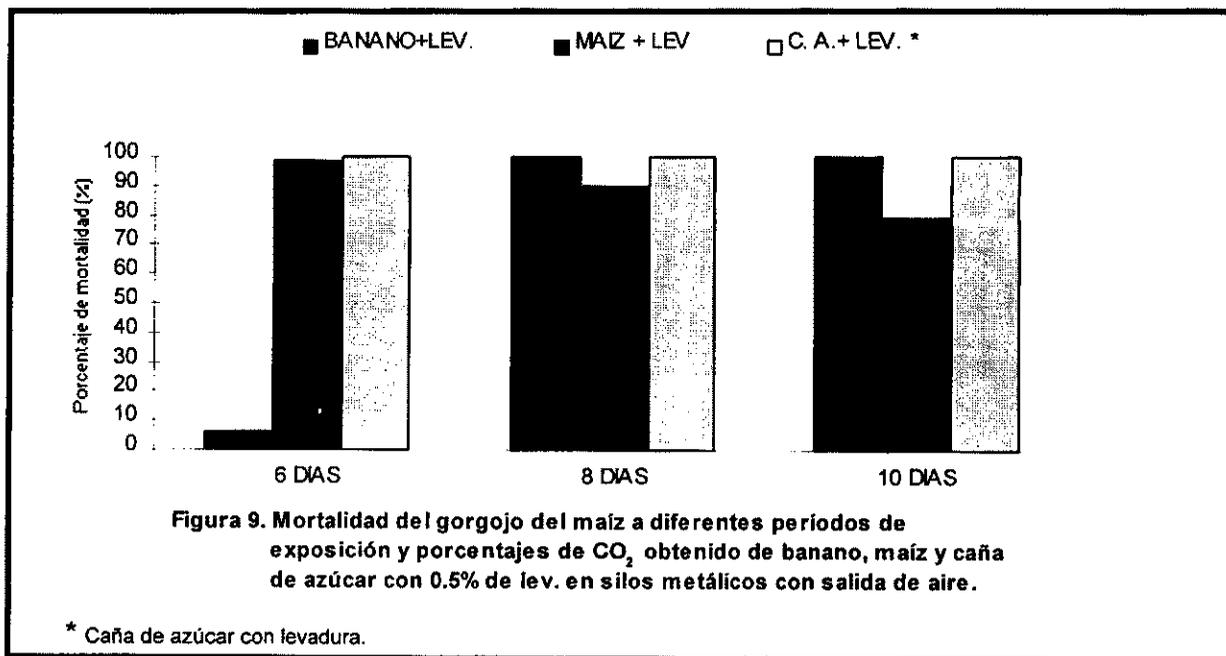
No hubo diferencia significativa en los tratamientos banano y caña de azúcar con levadura pero si con los demás tratamientos evaluados. El mejor tratamiento fue caña de azúcar y maíz con levadura y el de menor producción de CO₂ fue maíz sin levadura (cuadro 14).

Cuadro 14. Resultados obtenidos de las pruebas realizadas en silos metálicos con salida de aire con banano, maíz y caña de azúcar con y sin levadura como fuente productora de CO₂ por la prueba de rango múltiple de Duncan en un periodo de exposición de diez días.

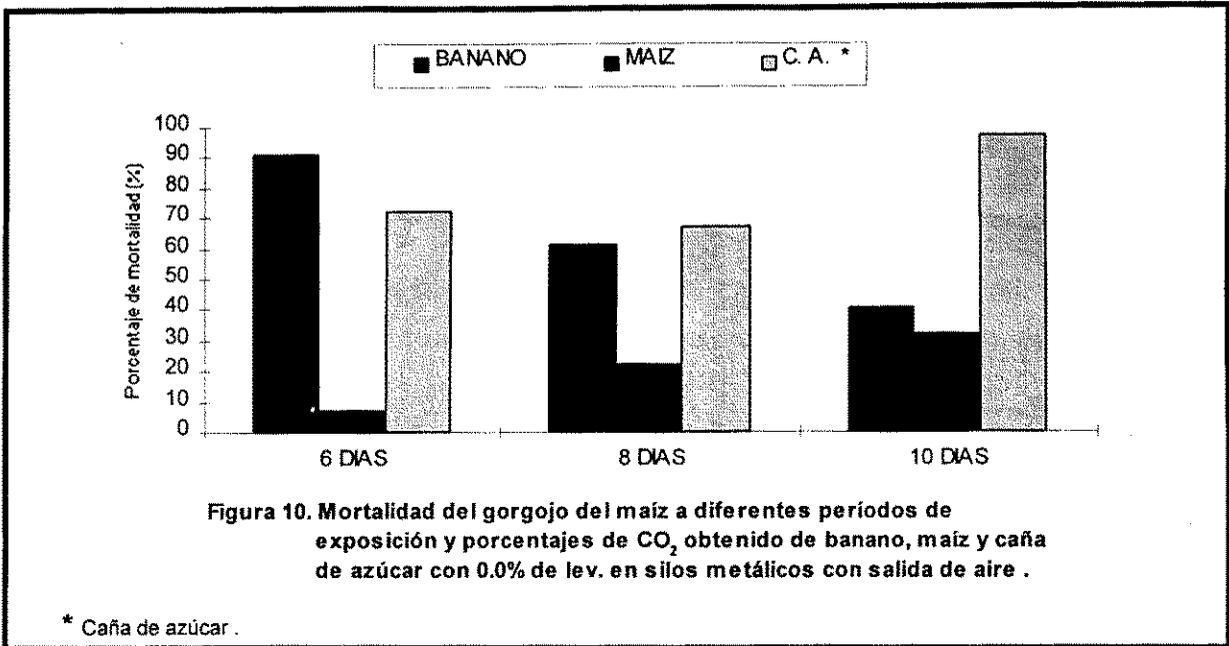
Tratamientos	Porcentajes (%)	
	Mortalidad	Dióxido de carbono
Banano con 0.5 % de levadura	100 A*	35
Caña de azúcar con 0.5 % de levadura	100 A	42
Caña de azúcar con 0.0 % de levadura	96.7 A	28
Maíz con 0.5 % de levadura	79.0 B	20
Banano con 0.0 % de levadura	39.7 C	16
Maíz con 0.0 % de levadura	32.0 D	14

* Números seguidos de letras iguales no son significativamente diferentes por la prueba de rango múltiple de Duncan ($\alpha = 0.05$).

En los tratamientos con levadura, el producto caña de azúcar con una cantidad de 35% de CO₂ produjo el 99 % de mortalidad del insecto después de 6 días de exposición. El banano presentó mortalidades de 99% con el 35% de dióxido de carbono en periodos de exposición de 8 y 10 días respectivamente. A los 6 días de exposición con maíz como fuente de dióxido de carbono y un 35% de gas se obtuvo un 98% de mortalidad (Figura 9).



En los tratamientos sin levadura, el material vegetal que produjo menor cantidad de dióxido de carbono fue el maíz sin levadura, con cantidades entre el 11 - 14% de CO₂, produciendo mortalidades menores al 32% en los periodos de exposición evaluados. En el caso de la caña de azúcar con el 28% de CO₂ y en 10 días de exposición se presentó un 97% de mortalidad. Con el banano sin levadura se obtuvo 36% de gas, produciendo el 91% de insectos muertos (Figura 10).



5.1.3.1. Humedad del maíz antes del proceso de secado:

Con el aparato de medición de humedad SAMAP-O-TEST: Se tomaron 10 muestras al azar del producto total (20 qq.) para el llenado de los silos metálicos para los bioensayos. Se realizaron tres mediciones por cada muestra, resultando la humedad del maíz con un promedio del 18% (cuadro 15).

Cuadro 15. Porcentaje de humedad del maíz antes del proceso de secado con una temperatura del grano de 28°C.

Muestra	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Promedio
% humedad*	18.4	18.6	17.3	18.5	18.1	16.9	17.7	18.0	17.5	17.4	17.8

* Porcentaje de humedad determinadas con el aparato de medición SAMAP.O-TEST.

Por el método del horno: Se obtuvo que el maíz tenía una humedad del 15% (cuadro 16).

Cuadro 16. Porcentaje de humedad del grano de maíz determinado por el método del horno.

Muestra	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Promedio
% humedad	14.9	15.0	15.1	15.3	15.1	14.7	14.8	14.8	15.0	14.9	15.01

Por ambos métodos se llegó a la conclusión que el contenido de humedad inicial era alto para el almacenamiento por lo que se procedió a secarlo siguiendo las recomendaciones del Programa Postcosecha / INTA.

5.1.3.2. Secado del grano por el método natural.

Después de secar el maíz, expuesto al sol por un período de tres días, el contenido de humedad del grano disminuyó a un 13.2 %.

5.1.3.3. Porcentaje de humedad del grano de maíz después de ser tratado con dióxido de carbono:

Al llenar los silos metálicos con el maíz, la humedad promedio inicial del grano oscilaba en el 13%; al ir realizando los bioensayos y determinando el porcentaje de humedad inicial y final de cada silo para los tratamientos, la humedad promedio del grano no aumentó, manteniéndose en 13% aproximadamente, igual a la humedad al inicio del proceso de control del insecto; además es semejante al nivel de humedad máximo recomendado por el Programa Postcosecha / INTA en las condiciones de la zona (cuadro 17).

Cuadro 17. Porcentaje de humedad del grano de maíz después de ser tratado con CO₂ en los silos metálicos de 4 qq.

Porcentaje humedad	Silo 1	Silo 2	Silo 3	Silo 4	Silo 5	Silo 6
Inicial*	12.6	12.9	12.9	12.6	13.0	12.8
Final**	12.5	13.0	12.9	12.6	13.0	12.7
Promedio***	12.5	12.9	12.9	12.6	13.0	12.7

* Medición del porcentaje de humedad del grano al momento de llenado de los silos.

** Medición del porcentaje de humedad del grano al terminar el bioensayo y vaciar el silo metálico de 4qq.

5.2. DISCUSION:

Las fuentes vegetales banano, maíz y caña de azúcar produjeron dióxido de carbono con 0.5% y 0% de levadura respectivamente; en los tratamientos con 0.5% de levadura se inició la producción de gas más rápido y en mayor cantidad que en el caso de 0% de levadura, esto se comprueba con la mayor cantidad de burbujas emitidas durante el período de tiempo muestreado. Además este resultado se asemeja con el obtenido por Mora (1994), donde concluyó que al adicionar el 0.5% de levadura se aceleraba el proceso de fermentación y se iniciaba una mayor producción de dióxido de carbono.

Los mejores resultados en la producción de dióxido de carbono fueron con el banano con 0.5% y 0% de levadura; Mora en 1994 evaluó 32 substratos teniendo como resultado que la caña de azúcar y banano son los mejores productores de dióxido de carbono. Para este estudio en el caso de la caña de azúcar un factor influyente fue el contenido de azúcares disponibles en la planta utilizada para la realización del proceso de fermentación, se obtuvieron resultados diferentes a los antes mencionados por el motivo que las pruebas realizadas con la caña de azúcar fueron en el período no óptimo de producción (fuera de temporada), afectando la producción de dióxido de carbono debido a una menor concentración de azúcares disponibles en la planta.

En la segunda etapa se demostró que el dióxido de carbono obtenido de banano, maíz y caña de azúcar en cantidades mayores al 25% y períodos de 10 días de exposición controlaron el 95% de la población total insectil del gorgojo del maíz en silos metálicos con o sin salida de aire, por lo que se determinó que a estos porcentajes de gas se crea una atmósfera tóxica para los insectos, también que a porcentajes superiores al 30% en 10 días de exposición se obtiene el 100% de mortalidad. Lo que se relaciona con los resultados obtenidos por Mora en 1994, donde determinó que a concentraciones de dióxido de carbono superiores al 30% en 6 días de expuestos se logró un 100 % de mortalidad de los insectos.

En los resultados obtenidos en este experimento y de los datos recopilados de otras investigaciones similares, se observa que este método de control de plagas insectiles de granos almacenados produjo un efecto igual aunque el gas proviniera de fuentes naturales o de productos envasados comercialmente.

Además de los diferentes métodos e instrumentos utilizados se comprobó que creando las condiciones de hermentismo en el sistema de almacenamiento, la cantidad necesaria de gas y el período de tiempo requerido se obtuvo un control eficaz para las plagas insectiles de granos almacenados.

En los tratamientos donde se obtuvo porcentajes de mortalidad menores al 30% fue por la cantidad insuficiente de dióxido de carbono en el interior del silo metálico el que se mantuvo entre el 12 y 14%; esta cantidad de dióxido de carbono se vió afectado por que la concentración de azúcares disponibles para la fermentación haya sido muy reducida, el escape de gas del biodigestor por mal sellado, en las conexiones de las mangueras para el transporte del gas hacia el silo matálico haya habido alguna fuga de gas; esto es una desventaja al comparar con los experimentos descritos anteriormente como el de Calderón y otros, 1991, Lidster y otros, 1981, etc. en cuanto a la utilización de dióxido de carbono envasado en cilindros con reguladores de concentraciones y otros instrumentos que permiten mejorar las condiciones para la reducción de errores en las pruebas realizadas; pero también el método aquí evaluado nos permite crear una mayor visión como alternativa de control no químico para plagas insectiles de productos almacenados a escala de pequeños productores.

VI. CONCLUSIONES

Se aceleró el proceso de fermentación al adicionar en los biodigestores levadura comercial (0.5% de la cantidad total del producto a fermentar), ya que actuó como un catalizador. En los tratamientos en que se utilizó levadura hubo una mayor y más rápida producción de CO₂.

El banano-fruta con levadura produjo mayor cantidad de CO₂, en un período de 40 horas.

El dióxido de carbono controla eficientemente al gorgojo de maíz. El porcentaje de mortalidad del insecto aumenta al aumentar el porcentaje de dióxido de carbono al que es expuesto en un determinado período de tiempo o viceversa.

Con cantidades mayores al 25% de CO₂ en un período de exposición de 10 días, se obtiene más del 95% de mortalidad del insecto en el silo metálico.

Al inyectar el CO₂ al interior del silo metálico por el método descrito, el contenido de humedad del grano no aumentó, por lo que la trampa realizada de agregar agua en el interior de la manguera antes de transportar el gas absorbió la humedad del gas procedente del biodigestor.

El dióxido de carbono tuvo buena difusión dentro del silo metálico con maíz debido a que los porcentajes de mortalidad en las tres profundidades fueron semejantes en los tratamientos realizados.

Las cantidades de materiales vegetales utilizadas para la biogeneración de gas por el proceso de fermentación son suficientes para producir una atmósfera letal en un silo metálico de 4qq. y controlar el gorgojo del maíz.

VII. RECOMENDACIONES

Determinar la cantidad de azúcares disponibles en los materiales vegetales utilizados para la producción de dióxido de carbono antes y después del proceso de fermentación por medio de pruebas químicas.

Buscar un método o instrumento de más fácil manejo para la medición del porcentaje de dióxido de carbono en los silos metálicos.

Conocer la cantidad de gas que se produce en los biodigestores, así como el flujo de dióxido de carbono durante el período de producción de los diferentes materiales utilizados.

Analizar diferentes muestras de gas de los diferentes estratos (superior, medio e inferior) en el silo metálico con el objetivo de conocer la difusión del gas en la masa de granos.

Utilizar diferentes especies de insectos plagas de granos almacenados pero con infestaciones naturales para saber si requieren de cantidades de gas diferentes o similares para causar la muerte, también realizar estudios sobre los períodos de exposición.

Ampliar a más de 6 horas el período de escape de aire del silo metálico para ver si se puede reducir la cantidad de aire en la atmósfera interna del silo metálico y aumentar el porcentaje de gas.

Realizar pruebas de germinación y cocción, para conocer si el gas influye en las características organolépticas del grano.

Determinar el porcentaje de daño en el maíz colocado en el interior de la jaula o con muestras de grano en infestaciones naturales en los diferentes períodos de exposición y cantidades de dióxido de carbono para saber si afecta la alimentación y reproducción del insecto.

Evaluar el método de control de insectos con silos metálicos de mayor capacidad, basándose en las datos obtenidos en el presente estudio.

Aplicar este método de control en otros granos como frijol, soya, sorgo.

BIBLIOGRAFIA:

- ANDREWS, K. L., QUEZADA, J. R.** 1989. Manejo integrado de plagas insectiles en la agricultura : estado actual y futuro. Honduras, C. A. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano. 623 pag.
- BLANCO OSEJO, B. L.** 1993. Evaluación físico, química y económica del proceso de tratamiento de las aguas residuales del matadero de Masaya. Tesis Licenciada en Química. León, Nicaragua. Universidad Autónoma de Nicaragua, Facultad de Ciencias. 35 pag.
- BOND, E. J.** 1986. Manual de fumigación para insectos. FAO. Roma, Italia.
- CALDERÓN, M., PASTER, N., MENASHEROV, M., MORA, M.** 1991. Bioproduction of modified atmospheres in small grain storage for insect control. In Food Sciencies. 13 pag.
- GUTIÉRREZ, G. J.** 1993. Manual de intrucciones para determinar la DL50 como criterio para evaluar resistencia de los insectos a los plaguicidas. Managua, Nicaragua. Ministerio de Agricultura y Ganadería. 70 pag.
- GUTIÉRREZ, G., GÓMEZ, C.** 1994. Manual de laboratorio postcosecha. INTA/UCPCN/COSUDE. Managua, Nicaragua. 16 pag.
- JORGENSEN - HANSEN.** 1959. Fisiología de los microorganismos. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 591 pp.
- KING, A. B., SAUNDERS, J. L.** 1984. Las plagas invertebradas de cultivos anuales en América Central. Londres, Inglaterra. 182 pag.
- LEESCH JAMES, G.** 1992. Carbon dioxide on the penetration and distribution of Phosphine through wheat. In Journal Entomology Economical. N° 85.
- LIDSTER, P. D., K., S. AND K., M^cRAE.** 1981. Effects of modified atmosphere storage on overwintering populations of the apples rust mite and the european red mite eggs. In Hortscience. N° 16 : 328 - 329.

- MONRO, 1980.** Manual de fumigación para insectos. Roma, Italia.
- MORA, M. 1994.** Uso de atmósferas modificadas para el combate de insectos en pequeños depósitos de granos. Centro de investigaciones en granos y semillas. Universidad de Costa Rica. 36 pag.
- MUELLER, DAVID. 1993.** A new method of using low levels of Phosphine in combination with heat and carbon dioxide. Fumigation Service & Supply, Inc. Indianapolis, U.S.A.
- PASTER, N., et al. 1991.** Application of generated modified atmospheres for insects control in small grains bins. In Tropical Sciences. N° 31.
- WHITE, N. D. G., JAYAS, D.S. 1991.** Control of insects and mites with carbon dioxide in wheat stored at cool temperatures in nonairtight bins. In Journal Entomology Economical. N° 84.
- WHITING, D.C. AND VAN DEN HEUVEL, J. 1992.** Oxigen, carbon dioxide and temperature effects on mortality responses of diapausing *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). In Journal Entomology Economical. N° 85.
- WHITING, D.C., VAN DEN HEUVEL, J. AND SINHA, N. 1992.** Carbon dioxide as a control for the Rusty Grain Beetle (Coleoptera:Cucujidae) in stored wheat. In Journal Entomology Economical. N° 83.
- WHITING, D.C. AND VAN DEN HEUVEL, J. AND FOSTER, S. 1992.** Potencial of low oxigen / moderate carbon dioxide atmospheres for postharvest desinfestation of new zeland apples. In New Zeland Journal. Crop Hortic. Sci. N° 20 : 217 - 222.

ANEXO 1

METODOLOGIA PARA EL CULTIVO DE GORGOJO DEL MAIZ(*Sitophilus zeamais* Motschulsky).

Miguel Ernesto Lacayo Chávez.¹

El gorgojo del maíz, *Sitophilus zeamais* Motschulsky, es uno de los enemigos principales contra quienes se enfrentan los agricultores después de recolectar el maíz y almacenarlo en condiciones inapropiadas (e.g.² trojas tradicionales); necesariamente tienen que hacer uso de cualquier producto químico para controlarlo y manejar sus poblaciones hasta niveles que no representen un daño económico.

Para la evaluación de productos químicos introducidos al mercado agrícola es indispensable el establecimiento de un cultivo de insectos, los que pueden ser criados con relativa facilidad.

El cultivo de insectos de granos almacenados para efectos de investigación debe ser una parte importante del proceso máxime cuando se trata de evaluar un producto químico.

El número de individuos de una especie se aumenta cuando se incrementa la tasa de reproducción y/o longevidad, estos índices son observables cuando en condiciones de laboratorio se crían grandes cantidades de estos individuos.

El cultivo del gorgojo del maíz, *Sitophilus zeamais* Motschulsky, tiene como objetivo la obtención de material homogéneo, reproducirlo en cantidades suficientes que permita la ejecución de las pruebas (bioensayos) para la evaluación de productos químicos o de otra índole.

¹ Tesista de la Universidad Nacional Agraria.

² e.g.= *exempli gratia* (por ejemplo).

MATERIALES:

- ◆ Recipientes plásticos de 2 L.
- ◆ Maíz en grano.
- ◆ Bomba de vacío eléctrica.
- ◆ Tamiz redondo de aluminio de 12/64".
- ◆ Bandeja redonda de aluminio de fondo liso.
- ◆ Bandeja triangular plástica.
- ◆ Contador manual de cuatro dígitos.
- ◆ Etiquetas de papel.
- ◆ Cinta adhesiva.
- ◆ Termómetros.
- ◆ Medidor del contenido de humedad del grano.
- ◆ Higrotermómetro.

En el laboratorio del Programa Postcosecha de Nicaragua, adscrito al Instituto Nicaraguense de tecnología Agropecuaria (INTA), se realizó un estudio (tesis) sobre el control del gorgojo del maíz, *Sitophilus zeamais* Motschulsky con dióxido de carbono a partir de fuentes naturales en silos metálicos; estableciendo un cultivo del insecto anteriormente mencionado.

Como pie de cría se utilizó una población de gorgojos ya existente en el laboratorio de la UCPCN de estudios anteriores (Cruz, E*, 1995).

El cultivo de *Sitophilus zeamais* Motsch. se desarrolló en las siguientes condiciones:

- a) Temperatura: 29°C.
- b) Humedad relativa promedio: 73%.
- c) Temperatura promedio del grano utilizado para el cultivo: 34°C.
- d) Humedad promedio del grano: 14.5%.

* Tesista de la Universidad Nacional Agraria.

Metodología:

Para el cultivo se utilizaron recipientes plásticos de dos litros de capacidad con tapa a presión y de boca ancha. La dieta natural del insecto consistió de maíz grano, colocando en los recipientes 10-12 onzas aproximadamente. Se depositaron 100 gorgojos en cada uno de los frascos. La oviposición y eclosionamiento se produjeron en el interior de los recipientes.

A cada recipiente se le colocaba una etiqueta con los datos necesarios con el objetivo de llevar el control de las fechas de infestación y emergencia de la generación parental; la etiqueta llevaba los siguientes datos:

- a) Nombre científico de la especie a evaluar.
- b) Fecha de infestación.
- c) Población de gorgojos.
- d) Fecha de eliminación del gorgojo.
- e) Fecha de emergencia.
- f) Fecha de utilización del insecto para bioensayo.
- g) Generación.

Dos semanas después de la infestación los gorgojos eran retirados del sustrato, quedando este ovipositado por las hembras apareadas con los machos durante el período de tiempo antes mencionado. Cabe mencionar que no se realizó ningún sexado, sino que la población colocada en cada recipiente garantizaba un buen apareamiento para que posteriormente las hembras ovipositaran en el interior de los granos de maíz.

El retiro de los gorgojos del sustrato se realizó entre los 32 a 40 días después de haber infestado con los insectos; se procedió a tamizar los granos de maíz con un tamiz redondo de aluminio de 12/ 64"; los gorgojos emergidos de los huevos ovipositados anteriormente cayeron sobre una bandeja redonda de fondo liso, posteriormente por medio del succionador - capturador se atrapaban los insectos contabilizando con un contador manual de cuatro dígitos.

La población de gorgojos de edad aproximadamente similar obtenida era utilizada para dos fines:

- ◆ Depositarla en frascos con nuevos substratos y realizar el mismo procedimiento para obtención de más insectos (reproducción).
- ◆ Utilización de los insectos para los respectivos bioensayos con una edad entre 15 y 20 días de emergidos.

Si los insectos no eran utilizados, se revisaban los frascos y se eliminaban para mantener la homogeneidad del cultivo y no se mezclaran con la próxima generación.

RECOMENDACIONES PARA MANEJO DEL CULTIVO Y CUARTO DE CULTIVO.

- a) Mantener una higiene adecuada.
- b) Evitar la mezcla de insectos del campo con los de cultivo a menos que se conozca que están libres de contaminación.
- c) Limpieza y desinfección de todo instrumento o material antes de utilizado con solución de cloro más jabón líquido, posteriormente estos equipos se secan con una toalla áspera y después se colocan a secar al aire libre, dejándolos reposar al menos dos horas. Estos se pueden utilizar al día siguiente, limpiándolos nuevamente con una toalla seca.
- d) Cualquier cultivo contaminado con hongos u otra especie de insectos debe ser eliminado y colocado en un congelador por tres días, si no hay congelador todos los substratos contaminados se introducen en un balde plástico de 4 galones y se llena con agua, tapando el balde para provocar la muerte de insectos por ahogamiento.
- e) Separar las poblaciones de diferentes regiones para evitar confusiones.
- f) Colocar en las patas de las mesas aislantes (recipientes) con agua; cada pata de la mesa debe cubrirse con una bolsa plástica y cinta adhesiva para evitar la pudrición de las mismas para que otras especies de insectos no infesten el cultivo.

- g) Si las temperaturas en el interior del cuarto del cultivo son elevadas, dejar las ventanas entreabiertas o dejar el aire acondicionado (si hay) encendido durante el día y apagarlo por la noche para reducir las temperaturas y no afectar el cultivo.**

- h) El maíz para la dieta de los insectos debe de ser desinfestado con un fumigante (e.g. phostoxin) en un silo metálico durante diez días, después dejar por seis horas al aire libre para ser utilizado. Evitar la utilización de maíz sin desinfestarse para el cultivo de insectos y así eliminar el riesgo de una contaminación cruzada.**

ANEXO 2*

METODO QUIMICO PARA DETERMINAR EL PORCENTAJE DE DIOXIDO DE CARBONO (CO₂) EN UNA MUESTRA DE GAS.

MATERIALES:

- Beaker de 1000 ml.
- Bureta de 59 ml.
- Jeringa de 60 ml.
- Soporte para la bureta.
- Bomba de succión.
- Hidróxido de sodio (NaOH al 30%).
- Embudo.
- Pegamento silicone.

Primeramente se sella el embudo en la parte superior de la bureta con silicone para formar un tipo de campana con el objetivo de que el gas no se escape y reaccione con la solución fuera de la bureta y una mejor manipulación en el momento de análisis. En la parte inferior de la bureta se coloca la bomba de succión y se deja abierta la salida de la bureta para que pueda succionar el aire del interior de la bureta y aforar la solución de hidróxido de sodio. Por otra parte a la jeringa de 60 ml se le adiciona una manguera de polietileno (30 cm) y en el otro extremo de la manguera se adapta la aguja. Esto se realiza para colocar la aguja debajo de la campana de la bureta. Para obtener la muestra de gas, la aguja se introduce en el tapón de hule adaptado en la parte superior del silo metálico y se extraen 60 ml, se afora hasta 50 ml en un recipiente con agua para observar si el gas sólo escapa por el orificio de la aguja.

Procedimiento:

1. Agregar al beaker el hidróxido de sodio al 30%.
2. Introducir la bureta dentro del beaker y que la campana de la bureta esté debajo de la solución.
3. Con la bomba de succión en el otro extremo de la bureta aforar la solución hasta 50 mililitros aproximadamente.
4. Extraer la muestra de gas del silo metálico y aforar hasta 50 mililitros.
5. Colocar la aguja debajo de la campana de la bureta en el interior del beaker.
6. Liberar el gas lentamente

El gas tiene que ser liberado lentamente debido a que entre más pequeñas sean las burbujas formadas en el interior de la bureta más preciso será el resultado del análisis.

El gas asciende en forma de burbujas y la solución desciende simultáneamente; cuando el gas se termina o la solución no desciende, se realiza la medición por medio de la escala numérica de la bureta. El porcentaje de CO₂ se determina de la siguiente manera:

$$\% \text{ de CO}_2 = (\text{Volumen ocupado por el NaOH} / \text{Volumen total}) \times 100$$

Químicamente el dióxido de carbono que está presente en la muestra de gas a analizar reacciona con el hidróxido de sodio formando carbonato ácido de sodio.



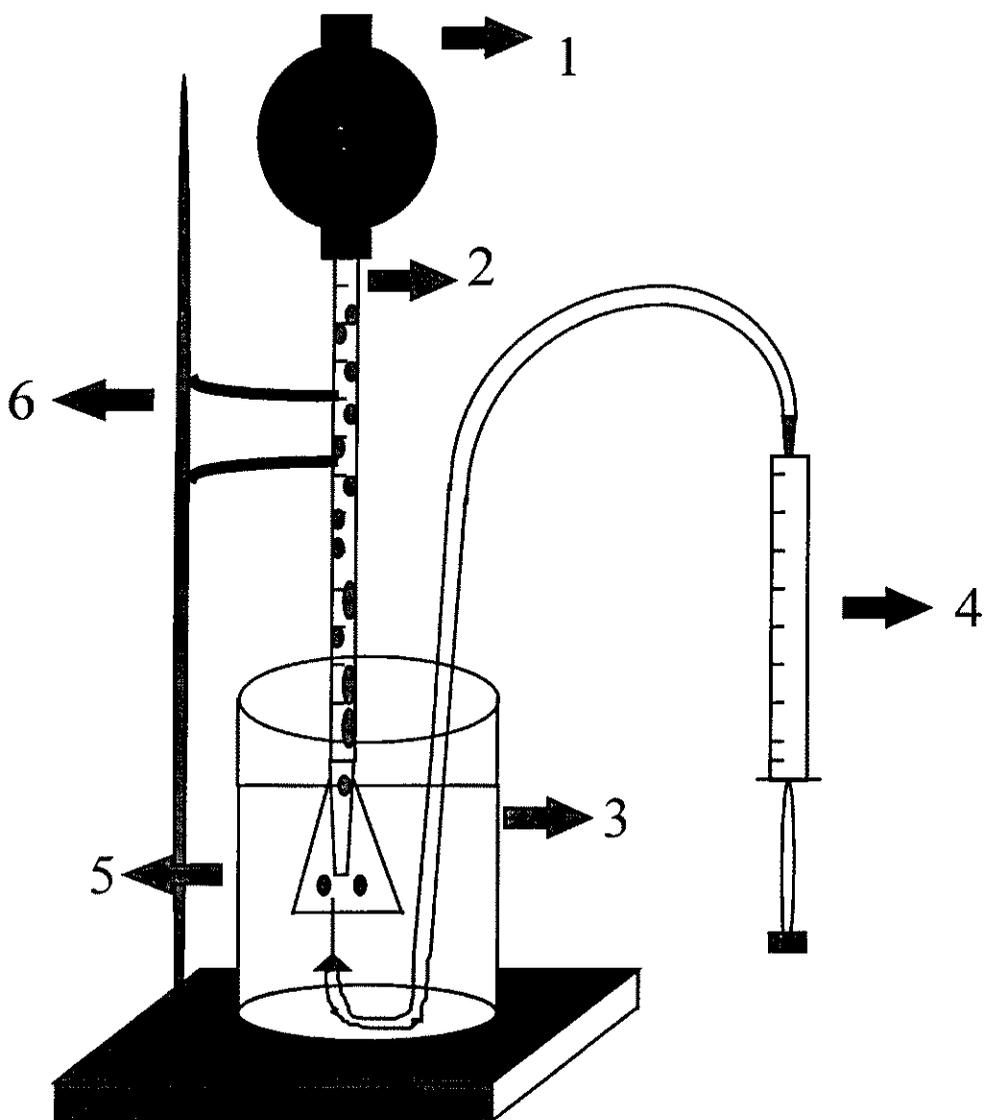


Figura 1: Instrumento utilizado para medir el porcentaje de CO₂ de muestras analizadas.

1) Bomba succionadora; 2) probeta graduada de 50 ml con campana (embudo inverso); 3) Hidróxido de Sodio al 30% (NaOH al 30%); 4) Jeringa de 60 ml con manguera plástica adherida con aguja al final para un mejor manejo; 5) Beaker de 1000 ml; 6) Soporte para la bureta.

ANEXO 3

MEDICION DE LA HUMEDAD CON EL SAMAP-O-TEST.*

Aparato electrónico para medir la humedad de productos en grano y polvo; formado por dos partes:

a) aparato de medición: Es muy sensible, se debe de colocar sobre superficie no conductora de calor alejado de objetos que podrían afectar la medición.

b) transvasador.

PROCEDIMIENTO PARA ANALIZAR UNA MUESTRA.

En la parte superior del aparato de medición se encuentra el botón de encendido ON-OFF (1). Una vez encendido aparecerá un número (frecuencia) en el visualizador (2), que deberá de ser 1 y que indica el número gama del producto a analizar; en caso de no aparecer se apreta el botón gris (4). Al dorso del aparato de medición se encuentra la lista (5) de números gama de diversos productos. Después aparecerá otro número en el visualizador que indica la frecuencia o el rango; para el caso del maíz el rango es entre 499 - 501. Para regular la frecuencia se utiliza el botón (3) en la parte media del aparato de medición, moviéndolo hacia la izquierda para disminuir o a la derecha para aumentarla.

Se coloca el transvasador asegurando que las guías de fijación (8) queden sobre la ranura de acoplamiento (7) del aparato de medición. Las compuertas del transvasador (9) deben de estar cerradas al momento de depositar el grano, una vez llenado el transvasador completamente se coloca la tapa (10) y se presiona el resorte (11) hacia afuera para permitir la apertura de las compuertas y el grano pase hacia el aparato de medición, apareciendo la lectura de la gama e inmediatamente después aparece el contenido de humedad de la muestra en el visualizador.

* Manual de Laboratorio Postcosecha

Una vez realizada la lectura se regresan los granos hacia la parte superior del transvasador invirtiendo el aparato y colocando las palancas de cierre de compuertas (12) en posición horizontal.

Al finalizar la medición retirar la muestra, quitando la tapa y girar el instrumento, vertiendo el contenido en un recipiente; limpiar con un paño suave y seco. Desmontar el transvasador y guardar en su estuche protejiéndolo de fuentes de calor y del sol.

Para saber si las baterías no están en su capacidad normal, aparece en el visualizador la frase "LOW BAT" por lo que tendrían que cambiarse. Están ubicadas en la parte inferior del aparato de medición (6), para su sustitución o colocación deberá de estar apagado el aparato. Las pilas utilizadas son de 6 voltios.

ANEXO 4

Los materiales utilizados durante el proceso de experimentación fueron los siguientes:

- ◆ 6 baldes de polietileno de 18 litros.
- ◆ 12 metros de manguera de polietileno.
- ◆ 9 recipientes de dos litros.
- ◆ 6 silos metálicos de 4 qq.
- ◆ 20 quintales de maíz en grano.
- ◆ 20 recipientes plásticos de un litro.
- ◆ Materiales vegetales :
 - Banano fruta, Caña de azúcar y Maíz en grano.
- ◆ Levadura comercial granulada.
- ◆ Dulce.
- ◆ Pegamento silicone.
- ◆ Candelas de cebo.
- ◆ Cinta adhesiva.
- ◆ Un metro de tubo de cobre.
- ◆ Estaño.
- ◆ Termómetro de temperaturas máximas y mínimas.
- ◆ Bomba productora de vacío.
- ◆ Botella Plástica de un litro (suero).
- ◆ Un metro de manguera plástica de 10 milímetros de diámetro.
- ◆ Juegos de tamices metálicos 12/64".
- ◆ Contador de 4 dígitos de capacidad.
- ◆ Cultivo de gorgojo del maíz.
 - Población de *Sitophilus zeamais* Motsch.
 - Maíz en grano.

ANEXO 5

METODO DEL HORNO O ESTUFA*

Se utilizó una estufa electrónica del tipo 6 RIEVE de 110 voltios con bandejas removibles y termómetro móvil. Los recipientes para colocar las porciones de muestras a analizar en la estufa fueron de aluminio.

En un orificio en la parte superior de la estufa se coloca un termómetro móvil, observando que el bulbo del termómetro quede colocado a la altura de los recipientes.

Procedimiento:

- Enumere los recipientes metálicos de metal con el objetivo de no equivocarse en el momento del pesado en la balanza.
- Pese los recipientes metálicos. **Anote el dato.**
- Coloque el grano dentro de los recipientes y pese (peso inicial) **Anote el dato.**
- Coloque los recipientes metálicos dentro del horno.
- Encienda el horno y estandarice la temperatura a $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- Seque el grano por un período de 72 horas.
- Después de las 72 horas, apague el horno y traslade los recipientes metálicos a un desecador; sino déjelos en el horno hasta que se enfríe (temperatura ambiente).
- Pese el maíz nuevamente, reste el peso del recipiente metálico (peso final). **Anote el dato.**

Datos necesarios para determinar el contenido de humedad por el método de secamiento del horno.

Datos a obtener:	Fórmula
Peso del recipiente metálico.	
Peso inicial del grano (antes del proceso de secado).	$P_1 = a$
Peso final del grano (después del proceso de secado).	$P_2 = b$
Peso del agua contenida en el grano.	$a - b = c$
Porcentaje de humedad real del grano.	$c / a \times 100$

* Las replicaciones no deben de tener una variación del 2%.

* Manual de Laboratorio Postcosecha

ANEXO 6

EL SILO METALICO*

Los silos metálicos son recipientes utilizados para almacenar maíz, frijoles y otros granos. Son de forma cilíndrica y fabricados con láminas de zinc lisas, galvanizadas, calibre 26 y soldados con estaño.

La parte superior tiene una abertura con su respectiva tapa que se utiliza para introducir el grano al interior del silo metálico.

En la parte superior tiene un orificio y su tapa para retirar el grano del silo metálico .

- ◆ Dimensiones del silo metálico de 4qq, utilizado durante los bioensayos.
- ◆ Capacidad (qq.) = 4
- ◆ Altura (pulgadas) = 36
- ◆ Diámetro (pulgadas) = 22.5
- ◆ Tamaño de la lámina (pies) = 3 x 6
- ◆ Número de láminas = 2

* COSUDE 1993.

ANEXO 7

SUCCIONADOR - CAPTURADOR DE INSECTOS

Se diseñó un instrumento para la recolección de insectos y obtener un mayor manejo en la preparación de los bioensayos.

MATERIALES:

- ◆ Compresor eléctrico de vacío (modelo 4z792) speedaire.
- ◆ Recipiente plástico de 1 litro de capacidad (botella de suero).
- ◆ Manguera plástica de 8 mm de diámetro.
- ◆ Filtro.
- ◆ Tela y pegamento silicone.

PROCEDIMIENTO:

Al recipiente plástico (1) se le realizó un orificio a un lado para introducir la manguera (2) que va conectada al filtro (3) y el filtro va conectado al compresor (4). En el extremo de la manguera opuesto al filtro se colocó la tela fina para no permitir el paso de los insectos, además se selló con pegamento el área de unión del recipiente con la manguera con el objetivo de evitar escape de insectos. En la boca superior del recipiente plástico se adaptó una manguera de plástico (5) con la que se atraparon o capturaron los insectos.