

Efectividad del ozono sobre *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) bajo condiciones de laboratorio

Effectivity of ozone on *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) under laboratory condition

José Alexander Triana Arcano¹, Yohan Alexander Solano Rojas^{2*}, Rita María Ávila³, Dilcia María Hernández⁴ y José Morales Sánchez⁴

¹ Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Decanato de Agronomía, Programa de Ingeniería Agroindustrial. Lara, Venezuela.

² Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Decanato de Agronomía, Departamento de Ecología y Control de Calidad. Lara, Venezuela.

³ Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Decanato de Agronomía, Departamento de Procesos Agroindustriales. Lara, Venezuela.

⁴ Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Decanato de Agronomía, Departamento de Ciencias Biológicas. Lara, Venezuela.

RESUMEN

El ozono ha sido utilizado como estrategia de control de hongos e insectos que afectan los granos y productos almacenados, debido a su alta capacidad de reacción y a su fuerte actividad oxidante. En esta investigación se evaluó su efectividad como insecticida sobre adultos del gorgojo *Sitophilus oryzae* (L.), insecto plaga del arroz y maíz almacenado. Para esto, se aplicó ozono a una concentración de 20 ppm, durante 15, 30, 45 y 60 minutos, en prototipos de silos vacíos y silos llenos de maíz. El diseño del experimento fue completamente al azar con arreglo factorial. Se presentaron diferencias significativas ($P < 0,001$) en el porcentaje de mortalidad del gorgojo en los silos vacíos (53,5%) y en aquellos llenos de maíz (16,88%). El tiempo de exposición al ozono también produjo un efecto significativo sobre la mortalidad ($P < 0,001$), la cual incrementó con el tiempo y alcanzó su valor más alto a los 60 minutos (58,25%). De igual forma, la interacción condición de silo por tiempo de exposición a ozono también fue significativa ($P < 0,001$), y permitió observar diferencias relevantes en la mortalidad de *S. oryzae*, cuyos porcentajes fueron mayores en los silos vacíos que los silos con maíz. Estos resultados muestran que el ozono tuvo un moderado efecto insecticida sobre *S. oryzae*.

Palabras clave: control, insecticida, silo, *Sitophilus oryzae*.

ABSTRACT

Ozone has been used as a control strategy to fungi and insects which affect grains and stored foods, due to be highly reactive and its strong oxidizing activity. In this research the insecticide effect of ozone at concentration of 20 ppm, was evaluated on adults of rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.), applied during 15, 30, 45 and 60 minutes, in prototypes of in empty silos and silos with maize. The experiment design was completely randomized with factorial array. There were significant differences ($P < 0.001$) in the mortality percentage of rice weevil in empty silos (53.5%) and those with maize (16.88%). The exposure time to ozone also caused a significant effect on the mortality ($P < 0.001$), which increased as time did and reached the highest value at 60 minutes (58.25%). Similarly, the interaction of silo condition by exposure time to ozone was significant ($P < 0.001$) and allowed to see differences in the mortality of *S. oryzae*, which percentages were higher in empty silos than in silos with maize. These results show that ozone had a moderate insecticide effect on *S. oryzae*.

Keywords: control, insecticide, silo, *Sitophilus oryzae*.

INTRODUCCIÓN

El uso de insecticidas convencionales como la fosfina, el malatión y el diclorvos, ha sido la estrategia más utilizada para el control de insectos plaga en granos y productos almacenados, a pesar de la resistencia que inducen en la población de insectos y de los riesgos para la salud humana y el ambiente (Campabadal,

Maier & Mason, 2013; Pandiselvam, Sunoj, Manikantan, Kothakota & Hebbar, 2016). Este hecho ha incentivado la búsqueda de métodos alternativos de control como la aplicación de ozono, el cual ha sido evaluado en estudios de campo y laboratorio, y ha mostrado un efecto tóxico sobre diversas especies de hongos e insectos en granos almacenados (Kells, Mason, Maier & Woloshuk, 2001; Hardin et al., 2010;

*Autor para correspondencia:

yohansolano@gmail.com

Conflicto de interés:

El autor declara no tener conflicto de interés.

Licencia:

Artículo publicado en acceso abierto con una licencia Creative Commons CC-BY

Historial:

Recibido: 25/09/2019;

Aceptado: 25/10/2020

Periodo de Publicación:

Julio-Diciembre de 2020

Jian, Jayas & White, 2013).

El ozono (O₃) es un fuerte oxidante utilizado en el tratamiento de agua y en industrias como la farmacéutica y la alimenticia, debido a sus propiedades desodorizantes y desinfectantes (Wysok, Uradzinski, Gomólka-Pawlicka, 2006; Jian et al., 2013), que le permiten reducir o eliminar la presencia de bacterias, hongos e insectos, y promover la degradación de los residuos de insecticidas (Trombete, Freitas-Silva, Saldanha, Venancio & Fraga, 2016). Entre los atributos de este gas, destacan: (i) su generación in situ de forma eléctrica, lo que elimina la manipulación y almacenamiento de pesticidas; (ii) su rápida degradación a oxígeno molecular sin dejar residuos; y, (iii) no se ha demostrado resistencia al ozono en las especies plaga (Işikber & Öztekin, 2009; Sousa, Faroni, Pimentel, Silva & Guedes, 2016; Sousa, Faroni & Guedes, 2017).

El efecto tóxico del ozono está asociado a su capacidad para reaccionar con la membrana celular de las bacterias hasta promover la lisis de la célula (Wysok et al., 2006), y en el caso de los insectos, puede afectar el sistema respiratorio y digestivo hasta producir la muerte de estos artrópodos, debido a los daños en los tejidos que resultan en alteración de las tráqueas y ruptura de ADN (Pereira, Faroni, Sousa, Urruchi & Paes, 2008; Rozado, Faroni, Urruchi, Guedes & Paes, 2008; Pandiselvam et al., 2016).

Diversos estudios de campo y de laboratorio, indican que la aplicación de ozono ha sido exitosa en el control de especies como *Sitophilus oryzae* (L.), *Rhyzopertha dominica* (F.), *Tribolium castaneum* Herbst y *Oryzaephilus surinamensis* L., y señalan que la toxicidad del gas ha variado en función de la edad y estado de desarrollo del insecto, tiempo de exposición y concentración del ozono, así como también de la estructura de los silos o contenedores, y de la temperatura y humedad de la masa de granos (Hansen, Hansen & Jensen 2012; Keivanloo et al., 2014; Işikber y Athanassiou, 2015; Pandiselvam et al., 2016). Una variación importante se produce cuando el ozono es aplicado en contenedores vacíos, donde la mortalidad suele ser mayor debido a que la etapa de saturación del gas se reduce ante la ausencia de granos (Kells et al., 2001; Hansen, et al., 2012; Solano, Triana, Ávila, Hernández y Morales, 2017).

La especie *S. oryzae*, conocida comúnmente como el gorgojo del arroz, es un insecto de distribución cosmopolita, considerado plaga primaria en granos como el arroz, cebada, maní, maíz, trigo y sorgo, y de productos procesados como harinas, galletas y pastas (Alonso Amelot, Ávila Núñez y Calcagno Pisarelli, 2009). Debido al impacto económico de esta plaga y considerando la importancia del ozono como alternativa de control de insectos, se llevó a cabo

el presente estudio con el objetivo de determinar la efectividad del gas para el control del insecto plaga en silos con maíz y vacíos, bajo condiciones de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención, mantenimiento y cría de *S. oryzae*

La cría del gorgojo *S. oryzae* se inició a partir de individuos encontrados en granos de maíz infestado, dispuestos en anaqueles comerciales, los cuales fueron llevados al Laboratorio de Biología y Fisiología Postcosecha del Decanato de Agronomía de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA), estado Lara, Venezuela. En el laboratorio, se conformaron 4 grupos de 50 adultos del gorgojo los cuales fueron transferidos a 4 envases de vidrio de 3,8 litros de capacidad, respectivamente. A cada frasco se le colocó 500 gramos de maíz para alimentar a los insectos, y seguidamente se le cubrió con tela organdí para permitir la ventilación y evitar el escape. Estos envases se mantuvieron en una sala de cría a 25 ± 2 °C y 72 ± 10% y 12:12 (L:D) fotoperiodo.

Los adultos de *S. oryzae* fueron removidos de los envases a los 15 días, después de iniciado el experimento. Posteriormente, los frascos fueron observados semanalmente para conocer el estado de desarrollo de la cría, hasta obtener la F1. Una vez obtenidos los adultos de la F1, se conformaron grupos de 50 individuos, no sexados y con edades comprendidas entre 14 y 21 días.

Determinación de la mortalidad de *S. oryzae* por efecto del ozono

El experimento fue realizado siguiendo la metodología descrita por Solano et al., (2017). Se utilizaron prototipos de silos de 592,67 cm³, los cuales contenían 50 adultos de *S. oryzae*, bajo dos condiciones: silo lleno de maíz y silo vacío. Los granos de maíz utilizados en los experimentos fueron previamente esterilizados a una temperatura de -5°C por un periodo de 1 día. Seguidamente, los granos fueron colocados en una estufa para reducir su humedad a valores comprendidos entre 12 – 14%, lo cual fue comprobado con ayuda de una balanza *Steinlite SB 900*.

Una vez preparadas las unidades experimentales, se aplicó el ozono a una concentración de 20 ppm durante 15, 30, 45 y 60 minutos, con un tratamiento control donde no se aplicó el gas. La generación de ozono se realizó por medio del método de descarga corona a través de un equipo comercial con una salida de 400 mg h⁻¹. El gas fue inyectado en la parte superior de los silos con ayuda de una manguera de silicón de 2,5 cm de diámetro y 106 cm de

longitud. Una vez instalado el ozonizador, se midió la temperatura de la masa de granos y el interior del silo vacío, la cual fue de $26,27 \pm 0,3^\circ\text{C}$ y $25,10 \pm 0,4^\circ\text{C}$, respectivamente. Seguidamente, los silos se sellaron con papel parafilm, para garantizar su hermeticidad.

Una vez finalizado el experimento, los silos (con maíz y vacíos) fueron destapados y los insectos separados en vivos y muertos de acuerdo con el procedimiento descrito por Reza, Asgar & Hasan (2011). Se consideró a los insectos vivos, cuando éstos mostraron movilidad y comportamiento característico de la especie, mientras que los insectos con detención completa de movimiento o con comportamiento y movimientos descoordinados, fueron considerados muertos. Seguidamente, los insectos de apariencia vivos o muertos fueron colocados de manera separada en envases de vidrio de 30 mL de capacidad con alimento (granos partidos de maíz) y tapados con tela organdí sujeta con una banda de goma para permitir la ventilación y evitar el escape. En estos envases, los insectos fueron mantenidos por un periodo de 24 horas para corroborar su recuperación y/o sobrevivencia. Finalmente, se registró el número de adultos muertos tanto en los silos con maíz como en los vacíos.

El efecto del ozono sobre adultos de *S. oryzae*, se consideró como una relación directa con el porcentaje de insectos muertos después de 24 horas de la aplicación del gas.

Análisis estadístico

El experimento tuvo un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2×4 , donde el primer factor correspondió a la condición de los silos (llenos de granos de maíz o vacíos) y el segundo factor, estuvo representado por los cuatro tiempos de exposición de *S. oryzae*, al ozono. Se realizaron 4 repeticiones por tratamiento.

Los porcentajes de mortalidad del insecto fueron transformados a arcoseno debido a que presentaron una distribución binomial, y luego se sometieron a análisis estadístico a través del programa Statistix 10.0. Se utilizaron pruebas de comparación de medias LSD con un nivel de confianza de $P < 0,01$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El ozono produjo porcentajes de mortalidad sobre adultos de *S. oryzae*, que variaron significativamente ($P < 0,001$) entre las condiciones de los silos y el tiempo de exposición (Tabla 1). En los silos vacíos, la mortalidad del gorgojo fue significativamente mayor (53,5%) que en los silos llenos de granos de maíz (16,88%) (Figura 1), lo cual coincide con lo señalado por otras investigaciones que indican que el ozono ha sido más efectivo en contenedores vacíos (İşikber

& Öztekin, 2009; Hansen et al., 2012; Hasan, Phillips & Aikins, 2012; Solano et al., 2017).

Tabla 1. ANOVA del efecto del tiempo de exposición a ozono y la condición del silo sobre la mortalidad promedio (%) de adultos de *S. oryzae*.

Fuente	Grados de libertad	F	P
Silo	1	203,15	0,0000*
Tiempo	3	31,39	0,0000*
Silo*tiempo	3	11,49	0,0001*
Error	24		
Total	31		

*Significativo a $P < 0.001$. C.V. 11,02

La diferencia en la mortalidad registrada en los silos vacíos y aquellos con maíz puede explicarse por la actividad del gas durante su proceso de ozonificación. De acuerdo con Kells et al. (2001) y Campabadal et al. (2013), el ozono aplicado a granos cumple una etapa inicial en la que se desplaza lentamente entre ellos para degradarse al reaccionar con sus superficies. Seguidamente, ocurre la segunda etapa que involucra un movimiento libre del gas entre los espacios intergranarios, en donde se disminuye su tasa de degradación y se incrementa el contacto con los insectos plaga. En este sentido, se infiere que el ozono aplicado a silos vacíos ocasionó mayor mortalidad debido a que la ausencia de granos permitió un contacto directo y efectivo del gas con los insectos.

El tiempo de exposición a ozono también produjo un efecto significativo sobre el porcentaje de mortalidad ($P < 0,001$), el cual incrementó con el tiempo y alcanzó su valor más alto a los 60 minutos (58,25%) (Figura 2). La interacción condición de silo por tiempo de exposición a ozono fue significativa ($P < 0,001$) y permitió observar diferencias relevantes en la mortalidad, la cual fue más alta en silos vacíos a los 60 minutos (94%) que en silos con maíz, donde fue considerablemente menor (22,5%) para el mismo período (Figura 3).

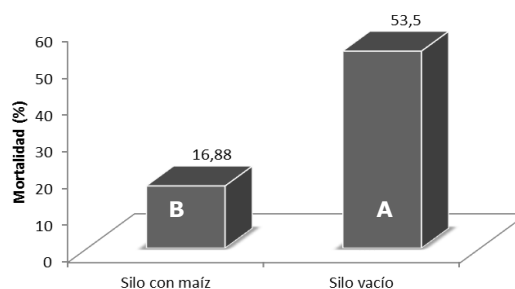


Figura 1. Mortalidad promedio (%) de adultos de *S. oryzae* por efecto del ozono en prototipos de silos. Prueba LSD, comparación de rangos de medias ($P < 0,01$).

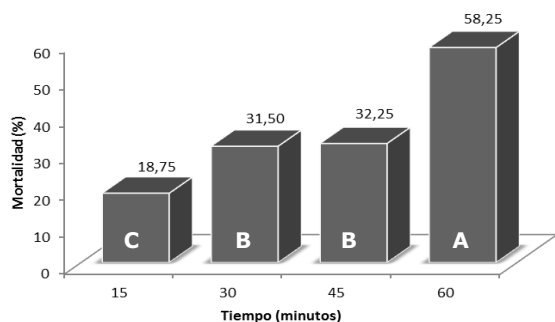


Figura 2. Mortalidad promedio (%) de adultos de *S. oryzae* por efecto de diferentes tiempos de exposición a ozono. Prueba LSD, comparación de rangos de medias ($P < 0,01$).

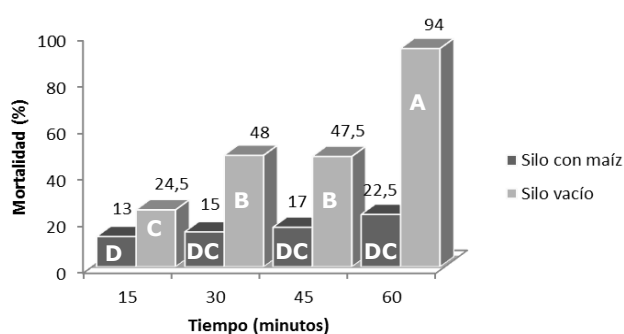


Figura 3. Mortalidad promedio (%) de adultos de *S. oryzae* por efecto de diferentes tiempos de exposición a ozono y la condición de silos. Prueba LSD, comparación de rangos de medias ($P < 0,01$).

Cuando los gorgojos fueron expuestos a ozono durante 30 y 45 minutos, la mortalidad fue estadísticamente similar para silos vacíos (48 y 47,5%) y silos con maíz (15 y 17%), respectivamente. No obstante, estos valores difirieron entre ambas condiciones de silo. A los 15 minutos de exposición, el porcentaje de mortalidad en silos vacíos fue mayor (24,5%) que en silos con maíz (13%). Keivanloo, Namaghi & Haddad (2014) registraron valores de mortalidad similares cuando aplicaron ozono a una concentración de 5 ppm en contenedores vacíos, durante 90 y 120 minutos, en larvas (78,33 y 85%) y pupas (65 y 80%) de *Plodia interpunctella* (Hübner), respectivamente.

Los factores como presencia de granos de maíz, tiempo de exposición y concentración del ozono, pudieron haber influido en los bajos porcentajes de mortalidad registrados para *S. oryzae* en silos con maíz. El primero de los factores implicó que el ozono se degradara en la superficie de los granos, antes de proseguir su desplazamiento entre ellos, mientras que los tiempos de exposición y la concentración pudieron ser insuficientes para que el gas alcanzara

la etapa de saturación e iniciara su libre diseminación para tener contacto efectivo con los insectos, toda vez que se ha registrado que el ozono aplicado sobre maíz, requiere al menos de 70 minutos para saturar los granos cuando se aplica a una concentración de 110 ppm (Dos Santos et al., 2007).

Mason, Woloshuk & Maier (1997) e İşikber y Öztekin (2009) indicaron que la eficiencia del ozono puede incrementarse con un reflujo intermitente en la masa de granos que permita mantener la concentración del gas, o con la realización de dos aplicaciones; de modo que la primera permita que el ozono reaccione con la superficie de los granos, y la segunda que el gas sea más efectivo contra los insectos.

La acción insecticida del ozono también puede variar en función de la ausencia o presencia de granos, tipo de grano y espacios intergranarios, temperatura y humedad de la masa de granos, y velocidad y concentración del flujo de ozono (Kells et al., 2001; Faroni et al., 2007; İşikber & Athanassiou, 2015).

Otras investigaciones han indicado que especies como *S. oryzae*, *S. zeamais* y *S. granarium*, han mostrado susceptibilidad al ozono en sus diferentes estados de desarrollo, alcanzando niveles de mortalidad de 50 a 100%, con concentraciones que han variado entre 35 a 135 ppm, aplicadas durante 4 a 8 días en sistemas que incluían inyección y extracción del gas (Rozado et al., 2008; Hansen et al., 2012).

CONCLUSIÓN

La concentración de ozono de 20 ppm aplicada en silos metálicos herméticos fue efectiva en producir mayor mortalidad de *S. oryzae* en los silos vacíos que en aquellos con maíz, en todos los tiempos de exposición evaluados. La presencia de los granos de maíz, la concentración del ozono y el poco tiempo de exposición, son factores que pudieron influir en la baja mortalidad del gorgojo en los silos con maíz.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso, M., Ávila, J. y Calcagno, M. (2009). Los cereales en el trópico suramericano: Técnicas modernas de conservación. CDCHT ULA – Fundación Empresas Polar. Caracas – Venezuela.
- Campabadal, C.A., Maier, D.E. & Mason, L.J. (2013). Efficacy of fixed bed ozonation treatment to control insects in stored bulk grain. *Applied Engineering in Agriculture*, 29(5), 693-704.
- Dos Santos, J.E., Martins, M.A., Faroni, L.R., Pereira de Andrade, M. & Silva, M.C. (2007). Ozonation process: Saturation time, decomposition kinetics and quality of maize grains (*Zea mays* L.). En: IOA (International Ozone Association) Conference and Exhibition. Valencia, España.
- Faroni, L.R., Pereira, A.M., Sousa, A.H., Coelho da Silva, M.T. & Irrazabal, W. (2007). Influence

- of corn grain mass temperature on ozone toxicity to *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and quality of oil extracted from ozonized grains. IOA Conference and Exhibition Valencia, Spain. October (29-31). 5.8: 1-6.
- Hansen, L.S., Hansen, P. & Jensen, K.M.V. (2012). Lethal doses of ozone for control of all stages of internal and external feeders in stored products. *Pest Management Science*, 68, 1311-1316.
- Hardin, J.A., Jones, C.L., Bonjour, E.L., Noyes, R.T., Beeby, R.L., Eltiste, D.A. & Decker, S. (2010). Ozone fumigation of stored grain: closed-loop recirculation and the rate of ozone consumption. *Journal of Stored Products Research*, 46, 149-154.
- Hasan, M., Phillips, T.W. & Aikins, M.J. (2012). Potential for ozone fumigation against anobiid beetles infesting stored products as an alternative to methyl bromide. En: Navarro, S., Banks, H.J., Jayas, D.S., Bell, C.H., Noyes, R.T., Ferizli, A.G., Emekci, M., Işikber, A.A. & Alagusundaram, K. (Eds.) Proc. 9th. Int. Conf. on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, Antalya, Turkey. 15 - 19. October 2012, ARBER Professional Congress Service, Turkey 260 - 265.
- Işikber, A.A. & Öztekin, S. (2009). Comparison of susceptibility of two stored-product insects, *Ephestia kuehniella* Zeller and *Tribolium confusum* du Val to gaseous ozone. *Journal of Stored Products Research*, 45, 159-164.
- Işikber, A.A. & Athanassiou, C.G. (2015). The use of ozone gas for the control of insects and microorganisms in stored products. *Journal of Stored Products Research*, 64, 139-145.
- Jian, F., Jayas, D.S. & White, N.D.G. (2013). Can ozone be a new control strategy for pests of stored grain. *Agricultural Research*, 2(1), 1-8.
- Keivanloo, E., Namaghi, H.S. & Haddad, M.H. (2014). Effects of low ozone concentrations and short exposure times on the mortality of immature stages of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research*, 54(3), 267-271.
- Kells, S.A., Mason, L.J., Maier, D.E. & Woloshuk, C.P. (2001). Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. *Journal of Stored Products*, 37(4), 371-382.
- Mason, L.J., Woloshuk, C.P. & Maier, D.E. (1997). Efficacy of ozone to control insects, moulds and mycotoxins. En: Donahaye, E.J., Navarro, S., Varnava, A. (Eds.). Proceedings of the International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products. Nicosia. 665-670 pp.
- Pandiselvam, R., Sunoj, S., Manikantan, M.R., Kothakota, A. & Hebbar, K.B. (2016). Application and kinetics of ozone in food preservation. *Ozone: Science & Engineering*. <https://doi.org/10.1080/01919512.2016.1268947>
- Pereira, A.D.M., Faroni, L.R.D., Sousa, A.H., Urruchi, W.I. & Paes, J.L. (2008). Influence of the grain temperature on the ozone toxicity to *Tribolium castaneum*. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 12, 493-497.
- Reza, G., Asgar, A. & Hasan, M. (2011). Combined effect of ozone mixed with carbon dioxide on the mortality of five stored-product insects. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, 4(2), 9-19.
- Rozado, A.F., Faroni, L.R.A., Urruchi, W.M.I., Guedes, R.N.C. & Paes, J.L. (2008). Aplicação de ozônio contra *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em milho armazenado. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 12(3), 282-285.
- Solano, Y., Triana, J., Ávila, R., Hernández, D. y Morales, J. (2017). Efecto del ozono sobre adultos del gorgojo del cigarrillo, *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). *IDESIA (Chile)*, 35(2), 41 - 47 <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292017005000007>
- Sousa, A.H., Faroni, L.R.A., Pimentel, M.A.G., Silva, G.N. & Guedes, R.N.C. (2016). Ozone toxicity to *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) populations under selections pressure from ozone. *Journal of Stored Products Research*, 65, 1-5.
- Sousa, A.H., Faroni, L.R.A. & Guedes, R.N.C. (2017). Locomotor behavior of *Sitophilus zeamais* populations under sublethal ozone exposure. *Journal of Pest Science*, 90, 239-247.
- Trombete, F.M., Freitas-Silva, O., Saldanha, T., Venâncio, A.A. & Fraga, M.E. (2016). Ozone against mycotoxins and pesticide residues in food: Current applications and perspectives. *International Food Research Journal*, 23(6), 2545-2556.
- Wysok, B., Uradzinski, J. & Gomólka-Pawlicka, M. (2006). Ozone as an alternative disinfectant - A review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 15/56(1), 3-8.