



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**SINERGIA ENTRE O CONTROLE QUÍMICO  
E A ATMOSFERA MODIFICADA COM OZÔNIO  
PARA O MANEJO DO GORGULHO DO MILHO**

**CARLOS EDUARDO ALMEIDA LUZ**

**CARLOS EDUARDO ALMEIDA LUZ**

# **SINERGIA ENTRE O CONTROLE QUÍMICO E A ATMOSFERA MODIFICADA COM OZÔNIO PARA O MANEJO DO GORGULHO DO MILHO**

Monografia apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília – UnB, como parte das exigências do curso de Graduação em Agronomia, para a obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. CRISTINA SCHETINO  
BASTOS

**Brasília, DF**

**Novembro de 2014**

## FICHA CATALOGRÁFICA

LUZ, Carlos Eduardo Almeida.

“SINERGIA ENTRE O CONTROLE QUÍMICO E A ATMOSFERA MODIFICADA COM OZÔNIO PARA O MANEJO DO GORGULHO DO MILHO”. Orientação: Cristina Schetino Bastos, Brasília 2014. 35 páginas.

Monografia de Graduação (G) – Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2014.

1. *Sitophilus zeamais*, *Zeamays*, Manejo integrado, Nim.

I. Bastos, C.S. II. Dra.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

LUZ, C.E.A. SINERGIA ENTRE O CONTROLE QUÍMICO E A ATMOSFERA MODIFICADA COM OZÔNIO PARA O MANEJO DO GORGULHO DO MILHO. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2014, 35 páginas. Monografia.

## CESSÃO DE DIREITOS

**Nome do Autor:** CARLOS EDUARDO ALMEIDA LUZ

**Título da Monografia de Conclusão de Curso:** SINERGIA ENTRE O CONTROLE QUÍMICO E A ATMOSFERA MODIFICADA COM OZÔNIO PARA O MANEJO DO GORGULHO DO MILHO

**Grau:** 3º **Ano:** 2014

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia de graduação e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia de graduação pode ser reproduzida sem autorização por escrito do autor.

CARLOS EDUARDO ALMEIDA LUZ

CPF: 039.640.421-96

QD 9, CJ C, CASA 52

CEP: 73035-093 Sobradinho, DF. Brasil

(61) 95417803/ email: carlosealuz@gmail.com

**CARLOS EDUARDO ALMEIDA LUZ**

# **SINERGIA ENTRE O CONTROLE QUÍMICO E A ATMOSFERA MODIFICADA COM OZÔNIO PARA MANEJO DO GORGULHO DO MILHO**

Monografia apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília – UnB, como parte das exigências do curso de Graduação em Agronomia, para a obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr. CRISTINA SCHETINO BASTOS

**BANCA EXAMINADORA:**

---

Cristina Schetino Bastos

Doutor, Universidade de Brasília – UnB

Orientador / email: cschetino@unb.br

---

Ernandes Rodrigues de Alencar

Doutor, Universidade de Brasília - UnB

Examinador / email: ernandesalencar@unb.br

---

Josemar Foresti

Mestre, Pioneer Sementes

Examinador / email: josemar.foresti@pioneer.com

*Dedico esse trabalho à minha família por  
me apoiar, inspirar e incentivar.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por me proporcionar oportunidades de aprendizado e iluminar minha vida;

Aos meus pais, Marcia e Ângelo, pelos conselhos, ensinamentos, dedicação e amor;

À minha irmã, Maria Luiza, por ter me acompanhado desde o primeiro dia na universidade e pelo exemplo de dedicação e esforço;

Ao meu irmão, Daniel, pelo companheirismo e por sempre me ouvir quando preciso conversar;

À professora Cristina por todas as oportunidades, pelos conselhos, pelas incontáveis horas de conversa em sua sala e pela amizade;

Aos amigos, Arthur, Bruna, Thiago Brandão e Yann, que me acompanharam durante a graduação e me deram a oportunidade de aprender bastante com eles;

Aos amigos e frequentadores do QG, Gustavo, João e Thiago Miranda;

Aos colegas do Laboratório de Proteção de Plantas, pela ajuda na realização desse trabalho, pelo trabalho em equipe e pelo ótimo ambiente no laboratório.

LUZ, CARLOS EDUARDO ALMEIDA. **Sinergia entre o controle químico e a atmosfera modificada com ozônio para o manejo do gorgulho do milho.** 2014. Monografia (Bacharelado em Agronomia). Universidade de Brasília – UnB.

## RESUMO

O milho é atacado por um grande número de pragas, a exemplo de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). Esse trabalho objetivou testar se existe sinergia entre o uso simultâneo do controle químico com a atmosfera modificada com ozônio (O<sub>3</sub>) no manejo de *S. zeamais* e se o tratamento que resulta em controle efetivo da praga não altera os atributos fisiológicos da semente. Para tal, foram realizados ensaios preliminares visando estimar as CLs 50 e 90 da deltametrina (Decis<sup>®</sup> 25CE) e da azadiractina (AzaMax<sup>®</sup>) e os TLs 50 e 90 do O<sub>3</sub>. Para estimativa das CLs 50 e 90 de azadiractina e deltametrina e TLs 50 e 90, foram empregados 10 adultos de *S. zeamais* e 20 g de sementes de milho. Foram testadas as concentrações 1,00%, 2,91%, 4,76%, 9,09% e 33,33% de azadiractina (Aza), 0,1%, 0,3%, 0,5%, 1,00% e 2,91% de deltametrina (Delt) e os tempos 30, 40, 50, 60 e 70 minutos de exposição ao O<sub>3</sub>, além das testemunhas (água destilada para CLs 50 e 90 e oxigênio para TLs 50 e 90). Os valores obtidos foram usados em ensaios subsequentes cujos tratamentos foram: 1) CL<sub>90</sub> Aza; 2) CL<sub>90</sub> Delt; 3) TL<sub>90</sub> O<sub>3</sub>; 4) CL<sub>50</sub> Aza + TL<sub>50</sub> O<sub>3</sub>; 5) CL<sub>50</sub> da Delt + TL<sub>50</sub> O<sub>3</sub>; 6) testemunha O<sub>3</sub> (aeração com O<sub>2</sub>); 7) testemunha dos inseticidas (água). A mortalidade dos insetos foi avaliada imediatamente e 48 h após a ozonização. Em seguida, as sementes foram submetidas a testes de germinação, condutividade elétrica e tetrazólio. A associação entre a CL<sub>50</sub> dos inseticidas e o TL<sub>50</sub> do ozônio não resultou em sinergia e proporcionou mortalidade inferior à verificada na CL<sub>90</sub> dos inseticidas. As CL<sub>90s</sub> da azadiractina (12,63% v/v) e da deltametrina (5,01% v/v) causaram mortalidade efetiva e não alteraram os atributos que garantem a qualidade das sementes de milho.

**Palavras-chave:** *Sitophilus zeamais*, integração, *Zea mays*, inseticida sintético, inseticida botânico, ozônio.



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Porcentagem média da mortalidade de *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885, (Coleoptera: Curculionidae) em função de diferentes tratamentos das sementes de milho doce. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade..... 18
- Figura 2.** Média do comprimento da parte aérea (em centímetros) das sementes de milho doce submetidas ao teste padrão de germinação e provenientes dos diferentes tratamentos para controle de *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885, (Coleoptera: Curculionidae). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade..... 20
- Figura 3.** Média do comprimento da parte radicular (em centímetros) das sementes de milho doce submetidas ao teste de germinação e provenientes dos diferentes tratamentos para controle de *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885, (Coleoptera: Curculionidae). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade..... 22
- Figura 4.** Viabilidade de sementes de milho doce (em porcentagem) calculada com base nos resultados do teste de tetrazólio e provenientes dos diferentes tratamentos para controle de *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885, (Coleoptera: Curculionidae). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. .... 24
- Figura 5.** Vigor das sementes de milho doce (em porcentagem) calculadas com base nos resultados do teste de tetrazólio e provenientes dos diferentes tratamentos para controle de *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885, (Coleoptera: Curculionidae). .... 26

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Resposta de mortalidade de <i>Sitophilus zeamais</i> Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) associada a uma formulação a base de nim (AzaMax®), à deltametrina (Decis® 25 CE) e ao ozônio. ....	16
---	----

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	3
<b>2.1. A cultura do milho</b> .....	3
<b>2.2. O gorgulho do milho, <i>Sitophilus zeamais</i> Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae)</b> .....	4
<b>2.3. Formas de controle</b> .....	5
<b>2.4. Controle da praga e as características das sementes</b> .....	7
<b>2.4.1. Teste padrão de germinação</b> .....	7
<b>2.4.2. Teste do tetrazólio</b> .....	8
<b>2.4.3. Teste de condutividade elétrica</b> .....	9
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	9
<b>3.1. Condições gerais da experimentação</b> .....	9
<b>3.2. Ensaio preliminar</b> .....	10
<b>3.3. Ensaio definitivo</b> .....	11
<b>3.4. Análises das sementes</b> .....	13
<b>3.4.1. Teste de germinação</b> .....	13
<b>3.4.2. Teste do Tetrazólio</b> .....	14
<b>3.4.3. Teste da condutividade elétrica</b> .....	15
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	15
<b>4.1. Ensaio preliminar</b> .....	15
<b>4.2. Ensaio definitivo</b> .....	17
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	27
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	28

## 1. INTRODUÇÃO

O milho é uma das principais culturas exploradas comercialmente no Brasil, sendo usada principalmente para consumo humano, alimentação animal, extração de óleos e obtenção de produtos intermediários nas indústrias como, por exemplo, farinhas e xaropes. O Brasil é o terceiro maior produtor de milho do mundo e apresentou na safra 2012/1013 uma produção de 81,5 milhões de toneladas (Brasil, 2014a).

O Brasil apresenta baixa eficiência no armazenamento e baixo investimento em tecnologias para melhorar a qualidade dos produtos pós-colheita (Pereira *et al.*, 2008). Esse fato contribui para que perdas quantitativas e qualitativas sejam comuns na armazenagem do milho.

Quando a armazenagem não é feita de forma adequada, a massa de grãos se torna um ambiente adequado ao desenvolvimento de insetos, que podem se alimentar e ovipositar nos grãos levando à contaminação do produto, causando perda de massa, aumento de temperatura na unidade armazenadora e diminuição do valor do produto (Alves *et al.*, 2008). Uma das principais pragas do milho durante a armazenagem é o *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). Tanto os adultos quanto as larvas se alimentam internamente dos grãos intactos (praga primária) ocasionando perdas de peso e perdas qualitativas, devido a contaminação do produto por fezes e insetos mortos, bem como a possibilidade de infestações secundárias e infecções por microrganismos (Pacheco & Paula, 1995).

Atualmente, no Brasil, estão registrados 14 produtos para o controle de *S. zeamais* no milho; dentre esses, cinco produtos são precursores da fosfina, sete pertencem à classe dos piretróides, um pertence à classe dos organofosforados e um constitui-se em uma mistura de organofosforado com piretróide (Brasil, 2014b).

Segundo Pereira *et al.* (2008), a principal forma de controle dos insetos em grãos armazenados é através do fosfeto de alumínio, fumigante no qual o princípio ativo é a fosfina.

Esses produtos podem causar contaminação ambiental, aumentar a possibilidade de evolução de resistência nos insetos por falta de alternância dos produtos usados, além de apresentarem riscos à saúde humana. Portanto, é importante buscar outras formas de controle para evitar que os insetos adquiram resistência aos produtos usados atualmente, principalmente à deltametrina e aos precursores da fosfina.

O controle ideal de pragas no armazenamento deve ser feito mediante uso de tecnologias e produtos acessíveis, que não provoquem contaminações da massa de grãos e tenham baixo custo. O uso de ozônio é uma possível alternativa ao fosfeto de alumínio, pois pode ser produzido no local de aplicação e sua degradação produz oxigênio como resíduo, diminuindo a manipulação de embalagens de agrotóxicos (Kells *et al.*, 2000; Mendez *et al.*, 2002; Pereira *et al.*, 2008; Rozado *et al.*, 2007).

Outra possibilidade inclui o uso de extratos de plantas ou formulações que apresentem ação inseticida como aquelas à base de nim (*Azadirachta indica* A. Juss. Meliaceae). Nesse sentido, algumas formulações já estão disponíveis e registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para uso no controle de insetos-praga que infestam os cultivos a campo (Brasil, 2014b). Tendo em vista que os ingredientes ativos (i.a.) dessas formulações são rapidamente fotodegradados (Johnson *et al.*, 2003), tais formulações têm especial aplicabilidade para controle de insetos no ambiente de armazenamento, onde predomina a ausência de luz.

O uso de múltiplas estratégias e táticas é o princípio básico que norteia o Manejo Integrado de Pragas (MIP) (Gray *et al.*, 2009) e esta integração, caso seja sinérgica, pode resultar na eficácia de táticas combinadas que não proporcionariam controle adequado caso fossem adotadas isoladamente.

Nesse sentido, o uso combinado da atmosfera modificada com ozônio e o controle químico com inseticida sintético (deltametrina) ou botânico (a base de nim) pode resultar em incremento de mortalidade e proporcionar controle adequado do gorgulho do milho.

Logo, o objetivo desse trabalho foi testar se existe sinergia proporcionada pelo uso simultâneo do controle químico (com inseticida botânico e sintético) com a atmosfera modificada com ozônio no manejo de *S. zeamais* e se o tratamento que resulta em controle efetivo da praga não altera os atributos fisiológicos que garantem a qualidade da semente.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. A cultura do milho**

Acredita-se que o milho (*Zea mays* L.), pertencente à família das gramíneas (Poaceae), foi obtido através do teosinte, planta de colmo fino, sem sabugo e apresentando espiga pequena, por meio de seleção artificial feita pelo homem (Peixoto, 2002). A cultura tem como centro de origem a região do México, local onde podem ser encontradas variedades nativas que são usadas em programas de melhoramento. É um dos mais importantes cereais usados na alimentação tanto humana quanto animal. Além dos grãos, os derivados como xarope, amido, farinha e fubá são muito usados na alimentação dos brasileiros em geral. Uma outra forma de uso dos grãos é para obtenção de etanol (FAO, 2013).

Nos Estados Unidos, a maior parte da produção de milho não é destinada a alimentação humana e sim empregada para alimentação animal e obtenção de etanol. Essa situação contribuiu para aumento dos preços dos grãos nos Estados Unidos, gerando incentivos para que os produtores aumentassem a produção de milho em suas propriedades

(USDA, 2014a). No ano de 2011, a indústria americana usou mais milho para produção de etanol do que os fazendeiros para alimentação animal (Lott, 2011).

O Brasil é o terceiro maior produtor de milho do mundo, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e da China (USDA, 2014b). A área plantada de milho de primeira safra no Brasil, no ano de 2014, apresentou um decréscimo de 1,3% comparado ao ano anterior e redução de 6,8% na produção. A região que mais sofreu com os efeitos adversos do clima durante as fases críticas da cultura foi a Sudeste, apresentando redução de 13,7% na produtividade. Na região Sul, devido ao aumento da área plantada com cultivares precoces de soja, a produção de milho teve queda de 8,2% em relação ao ano anterior. Somando a primeira e a segunda safra, a previsão de produção para este ano é de 78,6 milhões de toneladas de milho (Brasil, 2014a).

Como nem toda a produção de milho é comercializada imediatamente, boa parte permanece em armazéns sob diferentes condições ambientais e níveis contrastantes de tecnologia. As modalidades de armazenamento usadas no Brasil são à granel, em silos, graneleiros e armazéns, ou armazenagem da espiga em paióis (Santos *et al.*, 1994). Um armazenamento adequado permite que os grãos não apresentem perdas de qualidade e proporciona oferta de grãos durante a entressafra. Os fatores mais importantes que afetam os grãos durante o armazenamento são: umidade, temperatura, presença ou ausência de insetos e ácaros e de grãos íntegros (Alves *et al.*, 2008).

## **2.2. O gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae)**

O gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae), assim como outros insetos dessa família, apresenta um prolongamento na cabeça conhecido

como rostró onde ficam as peças do aparelho bucal mastigador. Nas fêmeas o rostró é mais longo e afilado e nos machos mais curto e grosso. As larvas são do tipo curculioniforme e se alimentam internamente dos grãos. É a família mais numerosa do reino animal (Pacheco & Paula, 1995).

Os adultos medem cerca de 3 milímetros de comprimento, são de coloração castanho-escuro e possuem estrias e quatro manchas avermelhadas nos élitros. Apresentam longevidade média de 140 dias e elevado potencial biótico pois as fêmeas depositam em torno de 282 ovos durante seu ciclo de vida e a fase entre a postura do ovo até a emergência do adulto é em torno de 34 dias. As larvas apresentam cor amarelo-clara com a cabeça um pouco mais escura e as pupas são de cor branca. (Pacheco & Paula, 1995; Lorini, 2008; Riedo *et al.*, 2010).

O inseto pode ser considerado a principal praga do milho no armazenamento, sendo praga primária, isto é, capaz de atacar grãos e sementes intactos e de infestar outras culturas como trigo, arroz, cevada e aveia. Além disso, possui capacidade de causar infestação cruzada, ou seja, pode atacar os grãos no campo e no armazenamento sendo a oviposição no interior das sementes e dos grãos (Lorini *et al.*, 2009). A presença dos insetos pode causar perdas tanto quantitativas, reduzindo o peso dos grãos e a viabilidade das sementes, quanto qualitativas devido a presença de resíduos como insetos mortos, fezes e ovos na massa de grãos. Esses resíduos proporcionam a ocorrência de pragas secundárias que podem prejudicar ainda mais as qualidades físico-químicas da massa de grãos (Antunes *et al.*, 2011).

### **2.3. Formas de controle**

A principal forma de controle desses insetos empregada no Brasil é por meio de fumigação ou expurgo. O produto mais usado é a fosfina (PH<sub>3</sub>), principalmente o fosfeto de



magnésio e alumínio. Outra forma de controle é através do uso de deltametrina, ingrediente ativo dos produtos K-Obiol 25 EC e K-Obiol 2P, que estão registrados para manejo da praga no armazenamento (Fazolin *et al.*, 2010; Brasil, 2014b).

Além de apresentarem risco de contaminação da massa de grãos, do ambiente de armazenamento e do aplicador, o uso indiscriminado desses produtos aumenta a pressão para seleção de populações resistentes, devido ao número limitado de produtos para uso em rotação (Pimentel *et al.*, 2007).

Tendo em vista os problemas de contaminação dos grãos e agressão ao ambiente causado por moléculas sintéticas, além dos maiores custos de aplicação devido ao surgimento de resistência, o uso de inseticidas botânicos é uma alternativa bastante estudada para controle de pragas no armazenamento. O AzaMax<sup>®</sup>, cujo ingrediente ativo é a azadiractina, possui a capacidade de reduzir a postura, bem como a emergência de larvas e causar repelência nos insetos (Potenza *et al.*, 2004). Barilli *et al.* (2014) verificaram que a aplicação de AzaMax causa interferência no hábito alimentar de *S. zeamais*, levando o inseto à morte por inanição.

Outra forma de controle frequentemente empregada para manejo de pragas no armazenamento é a atmosfera modificada. Nesse aspecto, uma das possibilidades é o emprego do ozônio. O ozônio é um gás formado por três átomos de oxigênio, altamente reativo e possuidor de alto poder oxidante, perdendo apenas para o flúor. Não apresenta coloração, possui odor característico e irritante, é muito volátil, pouco solúvel em água e com tempo de meia vida entre 20 e 50 minutos. O ozônio foi utilizado, inicialmente, na Europa para tratamento de água para abastecimento público. Passou a ser usado no Brasil como forma alternativa ao método de pré-cloração em águas superficiais (Kim *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 2011). Como forma alternativa no controle de fungos e outras pragas, teve seu uso liberado para tratamento de grãos pela FDA (Food and Drugs Administration) nos Estados Unidos em

2001, onde atualmente é usado no tratamento de alimentos, condicionado por legislação do Departamento de Agricultura Americano (Chiatonne *et al.*, 2008).

Kells *et al.* (2001), determinaram que para uma massa de grãos de milho de 8,9 toneladas, a aplicação de 50 ppm de ozônio por três dias foi suficiente para causar mortalidade entre 92 e 100% de adultos de *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) e *S. zeamais*. Essa mesma concentração de 50 ppm de ozônio não foi suficiente para causar alterações na germinação das sementes de milho (Strait, 1998).

## **2.4. Controle da praga e as características das sementes**

Um dos principais problemas decorrentes do controle de pragas de grãos armazenados advém do fato desse tratamento poder interferir na qualidade do produto obtido. Nesse sentido, quando o produto é destinado aos plantios dos cultivos subsequentes (sementes) o efeito do tratamento na qualidade deste insumo deve ser cuidadosamente avaliado.

Nesse aspecto, as Regras para Análise de Sementes (RAS) (Brasil, 2009), disponibilizadas pelo MAPA, são usadas como manual para testar as sementes em relação à sua qualidade incluindo atributos relativos à viabilidade, vigor, poder de germinação, dentre outros, além de disponibilizar informações de como fazer a amostragem de maneira correta e verificar a pureza das sementes. Desta forma, estabelece os protocolos que devem ser seguidos em relação aos testes de germinação, condutividade elétrica e tetrazólio, realizados para avaliar a qualidade fisiológica da semente.

### **2.4.1. Teste padrão de germinação**

Esse teste tem como objetivo verificar o poder germinativo de um lote de sementes, bem como estimar esse valor para semeadura em campo. Quando realizados em campo, não

produz resultados satisfatórios devido à grande variação ambiental. Portanto deve-se conduzir em condições controladas, consideradas ótimas, garantindo uma germinação mais regular e completa das amostras de sementes da espécie a ser estudada (Brasil, 2009).

Após a germinação, as plântulas são avaliadas quanto à porcentagem de plântulas normais, plântulas anormais e sementes duras. As plântulas normais são as que mostram potencial de continuar seu desenvolvimento e originar plantas normais em condições favoráveis. Dentro dessa categoria são encontradas plântulas intactas, plântulas com pequenos defeitos e plântulas com infecção secundária. As plântulas anormais são as que não possuem capacidade de continuar seu desenvolvimento e originar plantas normais, mesmo em condições favoráveis. Enquadram-se nessa categoria as plântulas deformadas, deterioradas e danificadas. As sementes duras são as que não germinaram, pois não absorveram água devido a fatores como dormência ou morte da semente (Brasil, 2009).

#### **2.4.2. Teste do tetrazólio**

Esse teste tem como objetivo determinar a viabilidade das sementes e pode ser aplicado quando as sementes precisam ser semeadas logo após a colheita ou quando há grande ocorrência de plântulas anormais no teste de germinação. Esse teste pode ser usado também para avaliação do vigor, viabilidade, danos por secagem, ataque de insetos e danos mecânicos.

As sementes devem ser embebidas em uma solução incolor usada como indicador das células vivas, ou seja, durante a respiração os íons  $H^+$  produzidos são transferidos para as enzimas desidrogenases que interagem com o tetrazólio formando um composto vermelho. Logo, na avaliação do teste, é observado o local e a intensidade da coloração para definir se a semente apresenta algum dano e se são viáveis ou não (Brasil, 2009).

### **2.4.3. Teste de condutividade elétrica**

Esse teste tem como objetivo testar o vigor das sementes e baseia-se na característica de permeabilidade da membrana. Sementes deterioradas e mortas tendem a produzir mais eletrólitos do que sementes com alto vigor. Quando colocadas em água destilada, esse maior número de eletrólitos aumenta a condutividade da amostra, que pode ser medida usando um condutivímetro, permitindo calcular, através do valor obtido nas leituras do condutivímetro, o vigor das sementes. (AOSA, 1983).

## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1. Condições gerais da experimentação**

O experimento foi realizado no Laboratório de Proteção de Plantas em parceria com o Laboratório de Pré-Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas, ambos pertencentes à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, durante o período de novembro de 2013 a abril de 2014. Foram usados insetos adultos, cuja identificação foi feita através do aparelho reprodutor de machos, com até 72 horas de idade provenientes de criação massal mantida sob milho doce cultivar Doce Cristal e conduzida no próprio laboratório, sob temperatura ambiente e em recipientes de vidro de 5 L de capacidade vedados com tampa rosca recoberta com organza.

Os inseticidas empregados nos testes (AzaMax® e Decis® 25 CE) foram adquiridos em mercado local (casa agropecuária) do Distrito Federal.

Foram realizados um experimento preliminar e um experimento subsequente (definitivo), sendo que os ensaios para determinação das concentrações letais (CLs) foram

arranjados em delineamento inteiramente casualizado e os ensaios para determinação dos tempos letais (TLs), arranjados em delineamento em blocos ao acaso no tempo, ambos com cinco repetições.

Após a última avaliação do experimento definitivo, as sementes empregadas nos ensaios foram submetidas a testes padrão de germinação, do tetrazólio e da condutividade elétrica, sendo empregadas quatro repetições no teste de germinação e duas repetições nos teste do tetrazólio e condutividade elétrica.

### **3.2. Ensaio preliminar**

Foram testados um inseticida botânico, AzaMax cujo ingrediente ativo (i.a.) é Azadiractina A/B, 12 g/L e um inseticida sintético, Decis 25CE, cujo i.a. é a deltametrina, 25 g/L.

Para determinação das concentrações dos inseticidas que ocasionavam 50% e 90% de mortalidade na população da praga ( $CL_{50}$  e  $CL_{90}$ , respectivamente) foram usadas placas de *Petri* de 9,0 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura, contendo 20 gramas de milho e 10 insetos adultos, não-sexados. Cada placa de *Petri* (parcela experimental) recebeu 2 mL das soluções sob teste, que foram aplicadas simultaneamente sobre inseto e massa de grãos com auxílio de micropipetas, seguido de homogeneização.

Foram avaliadas cinco concentrações de AzaMax<sup>®</sup> (1,00%, 2,91%, 4,76%, 9,09% e 33,33%) e de Decis<sup>®</sup> 25CE (0,1%, 0,3%, 0,5%, 1,0% e 2,91%), dadas em volume da formulação para volume de água destilada, necessária para obter a concentração desejada (%v/v), além da testemunha (água destilada). A mortalidade dos insetos foi avaliada 48 horas após o início do ensaio. Os dados obtidos foram corrigidos para a mortalidade ocorrida na testemunha e submetidos à análise de Probit utilizando-se o SAS (SAS, 2002) visando estimar

os valores das  $CL_{50s}$  e  $CL_{90s}$  do AzaMax e Decis 25 CE para *S. zeamais*. Essas concentrações foram empregadas no ensaio subsequente (definitivo) realizado em associação com o ozônio.

Para determinação dos tempos que causavam 50% e 90% de mortalidade na população da praga ( $TL_{50}$  e  $TL_{90}$ , respectivamente) os insetos foram submetidos à passagem de ozônio gerado pelo método de barreira dielétrica. A concentração usada foi de 1.200 ppm e a vazão foi de 1,5 litros/minuto. Foram confeccionados recipientes de organza para cada parcela experimental que continha 20 gramas de milho e 10 insetos de até 72 h de idade, sendo que cinco das unidades amostrais assim constituídas foram acomodadas no interior de recipientes de vidro de 850 mL de capacidade com tampa adaptada para passagem de ozônio. Foram empregados 5 recipientes de vidro por tempo de exposição ao gás. Os tratamentos foram representados pelos tempos de exposição à passagem de ozônio, isto é, 30, 40, 50, 60 e 70 minutos. Adicionalmente, empregou-se os mesmos tempos de exposição ao ozônio na testemunha, submetida à passagem de oxigênio através de bombinha de aquário. Os dados de mortalidade após 48 h em função dos tempos de exposição foram corrigidos para a mortalidade ocorrida na testemunha e submetidos à análise de Probit no programa SAS (SAS, 2002). Os valores de  $TL_{50}$  e  $TL_{90}$  foram empregados no ensaio subsequente (definitivo) realizado em associação com os inseticidas botânico e sintético.

### **3.3. Ensaio definitivo**

Neste ensaio empregou-se a mesma proporção de insetos adultos e de solução por parcela experimental, isto é, 10 insetos e 2 mL de solução por 20 g de sementes. Cada parcela experimental constituída por um recipiente de vidro de 850 mL de capacidade com a tampa adaptada para passagem do ozônio ou oxigênio recebeu 200 gramas de milho e 100 adultos de

*S. zeamais* de até 72 h de idade. Insetos e grãos foram tratados com 20 mL da solução sob teste.

Os tratamentos empregados foram: 1) TL<sub>90</sub> do ozônio (O<sub>3</sub>); 2) CL<sub>90</sub> da deltametrina; 3) CL<sub>90</sub> da azadiractina; 4) CL<sub>50</sub> da deltametrina + TL<sub>50</sub> do O<sub>3</sub>; 5) CL<sub>50</sub> da azadiractina + TL<sub>50</sub> do O<sub>3</sub>; 6) testemunha do O<sub>3</sub> (passagem de oxigênio pelo tempo correspondente ao TL<sub>90</sub> do ozônio); 7) testemunha dos inseticidas (água). Os tratamentos foram dispostos no delineamento em blocos ao acaso com cinco repetições.

Insetos e grãos foram acondicionados nos recipientes de vidro de 850 mL de capacidade e tratados com as soluções sob teste 24 h antes da ozonização. A mortalidade foi avaliada imediatamente após e 48 h depois da ozonização.

Após a última avaliação (48 h após a ozonização) os insetos foram retirados da massa de grãos e as sementes armazenadas em geladeira a 5° C até a realização dos testes padrão de germinação, do tetrazólio e de condutividade elétrica para atestar sua qualidade. No caso desses testes, inclui-se um tratamento adicional (testemunha adicional) correspondente à semente em sua condição original, não submetida à aeração com oxigênio ou à adição de água.

Os dados obtidos foram transformados para  $\sqrt{x+0,5}$  sempre que falharam em atender algum dos pressupostos da análise de variância (ANOVA) e submetidos à ANOVA seguida de teste Tukey a  $p < 0,05$  no SAS (SAS, 2002), sempre que houve efeito significativo dos tratamentos.

### **3.4. Análises das sementes**

#### **3.4.1. Teste de germinação**

Os testes de germinação foram realizados seguindo recomendações das Regras para Análise de Semente (RAS) (Brasil, 2009). Para isso, foram selecionadas, ao acaso, 200 sementes de milho doce provenientes de cada uma das repetições dos tratamentos do ensaio definitivo mais uma testemunha adicional (semente em sua condição original, sem nenhum tratamento). As 200 sementes foram divididas em quatro repetições de 50 sementes cada. Portanto, para cada repetição dos tratamentos do ensaio definitivo, foram feitas quatro novas repetições para o teste de germinação. O substrato usado foi o papel de germinação que foi previamente umedecido com água destilada. As sementes foram organizadas uniformemente sobre o papel de germinação, sendo uma segunda folha disposta sobre a anterior, recobrindo-a. Em seguida, ambas as folhas foram enroladas, de tal forma a constituir um rolo e visando impedir que as sementes saíssem do lugar. As repetições foram acondicionadas no interior de sacos plásticos para evitar a perda de umidade. Durante todo o experimento os sacos contendo os rolos de papel de germinação e as sementes foram mantidos em câmara do tipo B.O.D regulada para a temperatura de 30° C. Até o momento da avaliação, procedeu-se a adição diária de água destilada sobre o papel de germinação, a fim de manter a umidade em níveis satisfatórios.

Foram realizadas duas avaliações, sendo a primeira quatro dias após a instalação do ensaio e a segunda depois de sete dias. Aos quatro dias após a instalação do ensaio foi avaliado o número de sementes duras, plântulas normais e plântulas anormais. As sementes duras foram retiradas do rolo formado com o papel de germinação, que foi retornado para a B.O.D. Aos sete dias foi avaliado o número de plântulas anormais, plântulas normais e o



comprimento da parte aérea e da parte radicular das plântulas normais. O número de plântulas normais, anormais e de sementes duras foi convertido em porcentagem.

### **3.4.2. Teste do Tetrazólio**

Esse teste também foi realizado seguindo as recomendações contidas na RAS (Brasil, 2009). Foram preparadas duas repetições, contendo 50 sementes cada, para cada uma das repetições do ensaio definitivo, mais a testemunha adicional (semente em sua condição natural, sem nenhum tratamento). As sementes foram cortadas longitudinalmente, aproveitando apenas uma metade de cada semente, submetidas à pré-embebição em água destilada com duração de 18 horas, seguida de imersão em solução de tetrazólio a 10% por um período de aproximadamente 2 horas. Após esse tempo, foram feitas avaliações quanto à viabilidade das sementes.

Foram consideradas como sementes viáveis aquelas que são capazes de produzir plântulas normais em um teste de germinação sob condições favoráveis. Nesse caso, os embriões colorem completamente e, quando parcialmente coloridos, os padrões de coloração apresentados ainda indicam que a semente é viável. A posição e o tamanho das áreas necrosadas, e não necessariamente a intensidade da coloração, determinam se tais sementes podem ser classificadas como viáveis ou não.

São consideradas como sementes não viáveis aquelas que não se enquadram nos requisitos anteriores e que apresentam colorações não bem caracterizadas ou definidas e, ainda, com estruturas essenciais flácidas ou não coloridas. Sementes com desenvolvimento anormal do embrião ou de outra estrutura essencial devem ser consideradas como não viáveis. O número de sementes viáveis e não viáveis foi transformado em porcentagem.

### **3.4.3. Teste da condutividade elétrica**

Foram preparadas duas repetições, contendo 50 sementes cada, para cada repetição do ensaio definitivo mais a testemunha adicional (semente em sua condição original, sem nenhum tratamento). As sementes foram acondicionadas em recipientes de café de 50 mL de capacidade, recobertas com 20 mL de água destilada e mantidas em câmara do tipo B.O.D. regulada para 30° C por 24 horas. Após esse tempo, foi mensurado o valor da condutividade elétrica utilizando um condutivímetro DIGIMED modelo CD 21. A calibração do condutivímetro foi feita utilizando água destilada proveniente do mesmo local onde foi obtida a água usada para recobrir as sementes.

Os valores obtidos (em  $\mu\text{S}/\text{cm}^2$ ) nas leituras foram divididos pelo peso das sementes em cada repetição, sendo obtida a média das duas repetições para que se chegasse ao valor da condutividade elétrica em cada tratamento.

Os dados relativos aos testes de germinação, do tetrazólio e da condutividade elétrica foram comparados por análise de variância, seguida de teste Tukey a  $p < 0,05$  sempre que houve efeito significativo dos tratamentos. Empregou-se o programa SAS (SAS, 2002) nas análises.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1. Ensaio preliminar**

Os dados relativos às concentrações que causam 50% e 90% de mortalidade de *S. zeamais* em função dos tratamentos com as soluções inseticidas a base de deltametrina e de azadiractina e da exposição ao ozônio são apresentados na Tabela 1.

As CLs 50 e 90 de deltametrina foram estimadas em 0,41% (v/v) e 5,01% (v/v), respectivamente. As CLs 50 e 90 azadiractina foram estimadas em 4,01% e 12,63% (v/v), respectivamente. Os TLs 50 e 90 do ozônio foram estimados em 36,38 minutos (aproximadamente 36 minutos) e 70,96 minutos (aproximadamente 71 minutos). Esses dados foram usados como base para estabelecimento dos tratamentos do ensaio definitivo.

Oliveira *et al.* (2002) determinaram os valores das CLs 50 e 95 de deltametrina para *S. zeamais* em 0,08 e 0,65 mg de i.a/mL de solução, respectivamente. A diferença de valores entre o presente trabalho e o trabalho realizado por Oliveira *et al.* (2002) pode ser explicada pela diferença na metodologia utilizada. Esses autores calcularam as CLs com base no tratamento de uma área de 35,4 cm<sup>2</sup>, enquanto que nesse experimento as CLs foram estimadas com base na aplicação simultânea da solução sob teste sobre insetos e grãos.

**Tabela 1.** Resposta de mortalidade de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) associada a uma formulação a base de nim (AzaMax®), de deltametrina (Decis® 25 CE) e ao ozônio.

Inseticidas	GL <sup>a</sup>	n <sup>b</sup>	Inclinação±EPM <sup>c</sup>	Valores (95% IC) <sup>d</sup>		$\chi^2$	P
				CL <sub>50</sub> /TL <sub>50</sub>	CL <sub>90</sub> /TL <sub>90</sub>		
AzaMax	3	690	2,57 ± 0,26	4,01 (3,05 ± 5,22)	12,63 (8,90 ± 23,08)	6,43	0,0924
Ozônio	23	1000	4,42 ± 0,35	36,38 (34,19 ± 38,31)	70,96 (65,91 ± 78,11)	24,83	0,3590
Decis	3	750	1,18 ± 0,10	0,41 (0,34 ± 0,49)	5,01 (3,42 ± 8,47)	3,85	0,2784

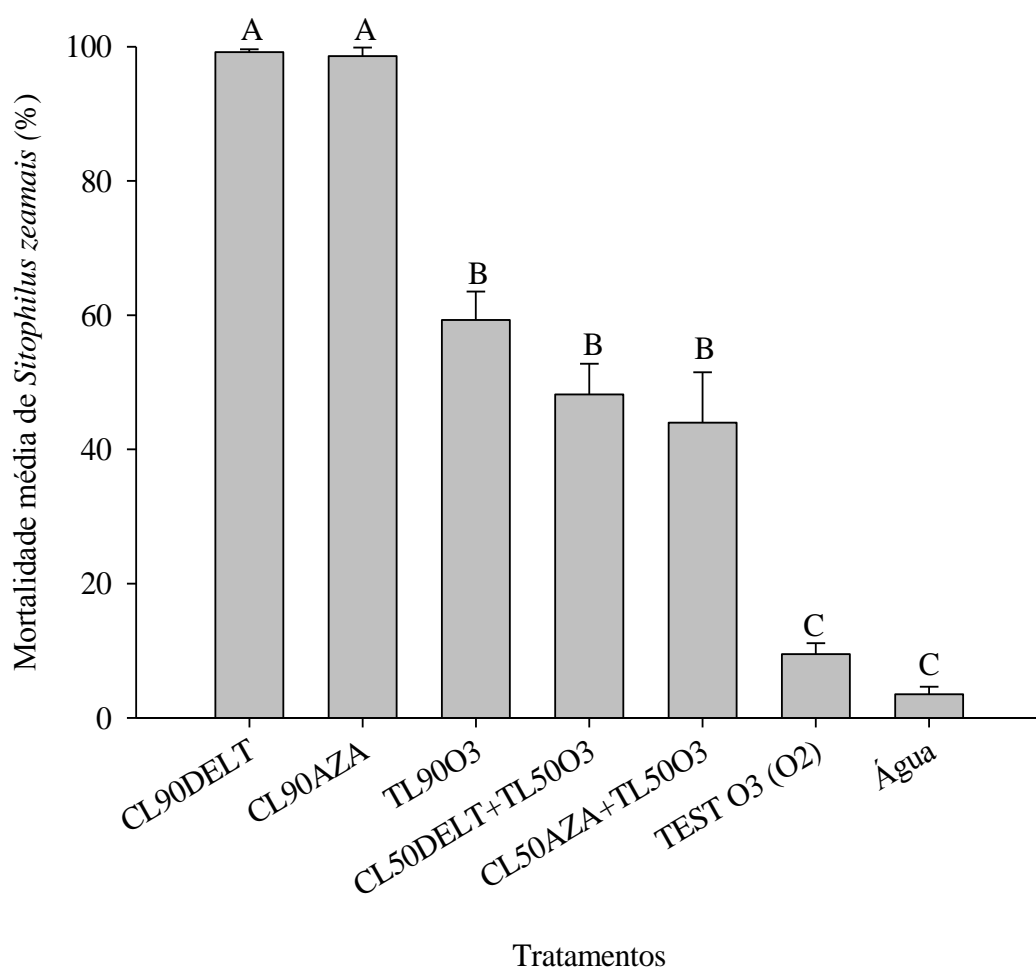
<sup>a</sup>Graus de liberdade; <sup>b</sup>Número de insetos tratados; <sup>c</sup>Inclinação da curva dose-mortalidade e seu erro padrão da média (EPM); <sup>d</sup>Concentração Letal (CL) dada em volume de formulação para volume de água destilada necessária para obter a concentração desejada (% v/v) e tempo letal (TL) em minutos e seus respectivos intervalo de confiança a 95% (95% IC).

#### 4.2. Ensaio definitivo

Foram detectadas diferenças significativas na mortalidade de *S. zeamais* em função dos tratamentos das sementes ( $F_{6,24} = 100,14$ ;  $p < 0,0001$ ). As maiores mortalidades de *S. zeamais* foram associadas às CL<sub>90s</sub> da deltametrina ( $99,2\% \pm 0,41$ ) e da azadiractina ( $98,6\% \pm 1,28$ ). Mortalidades intermediárias foram observadas nos tratamentos que associaram a CL<sub>50</sub> da deltametrina + TL<sub>50</sub> do ozônio ( $48,2\% \pm 4,56$ ) e a CL<sub>50</sub> da azadiractina + TL<sub>50</sub> do ozônio ( $44,0\% \pm 7,50$ ), não sendo diferentes estatisticamente do tratamento relativo ao TL<sub>90</sub> do ozônio ( $59,3\% \pm 4,22$ ). As menores mortalidades ocorreram associadas às testemunhas com água ( $3,5\% \pm 1,5$ ) e aeração com oxigênio ( $9,5\% \pm 1,64$ ) (Figura 1).

Rozado *et al.* (2008), inferiram que aumentando o tempo de exposição ao ozônio aumenta a mortalidade de *S. zeamais*, sendo que maiores mortalidades são observadas nos locais mais próximos ao ponto de injeção do ozônio. Tendo em vista que a massa de grãos não é exposta à mesma concentração do gás em todos os pontos, essa pode ser uma provável explicação do porquê da mortalidade associada ao TL<sub>90</sub> do ozônio esteja bem aquém dos 90% esperados, se igualando aos tratamentos que proporcionaram mortalidades intermediárias entre as maiores e menores mortalidades.

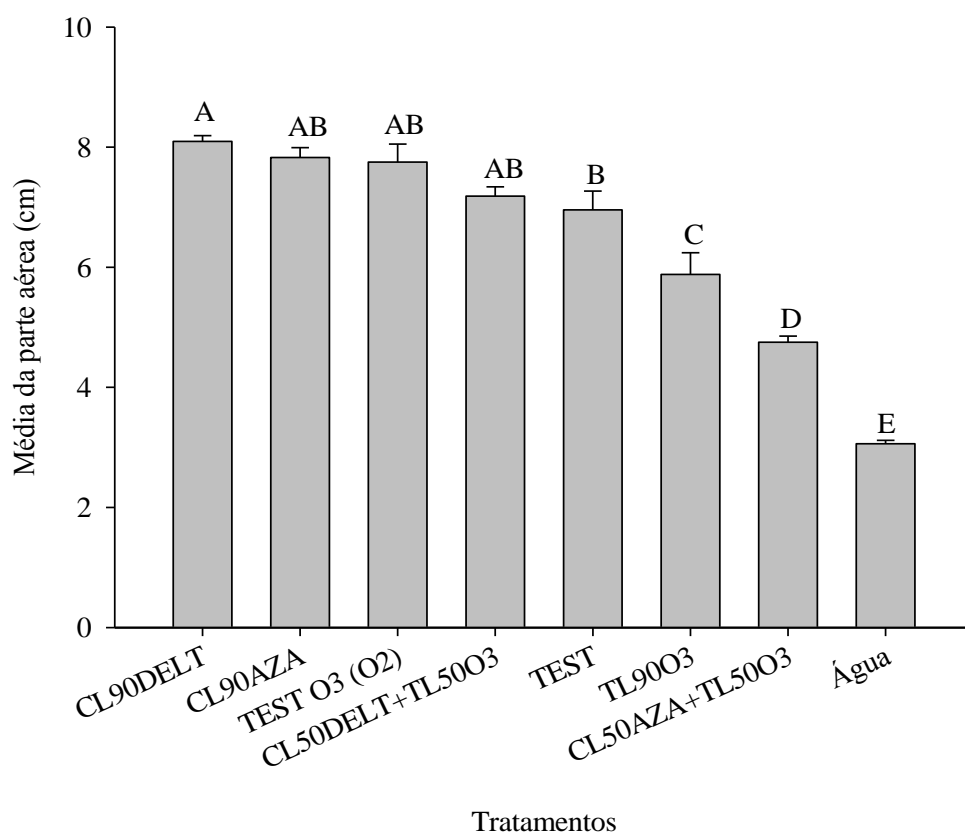
Kells *et al.* (2001) afirmaram que o processo de fumigação apresenta duas fases sendo que na primeira o ozônio sofre rápida degradação ao entrar em contato com a superfície dos grãos e na segunda o nível de degradação diminui, de forma que o ozônio consegue atingir maior profundidade na massa de grãos. Neste ensaio, os autores verificaram eficácia no controle de *S. zeamais* empregando-se uma concentração de  $50 \text{ mg kg}^{-1}$  de ozônio, proporcionando mortalidade entre 92% e 100%.



**Figura 1.** Porcentagem média da mortalidade de *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885, (Coleoptera: Curculionidae) em função de diferentes tratamentos das sementes de milho doce. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Obs.: Delt – deltametrina; Aza – Azadiractina; O<sub>3</sub> – ozônio; O<sub>2</sub> – oxigênio; CL90 e TL90 – concentração e tempo que causam 90% de mortalidade; CL50 e TL50 – concentração e tempo que causam 50% de mortalidade; Test – Testemunha.

Foram verificadas diferenças significativas em relação às medições realizadas no teste padrão de germinação incluindo o comprimento de parte aérea ( $F_{7, 27} = 70,30$ ;  $p < 0,0001$ ) e o comprimento da raiz ( $F_{7, 27} = 23,48$ ;  $p < 0,0001$ ).

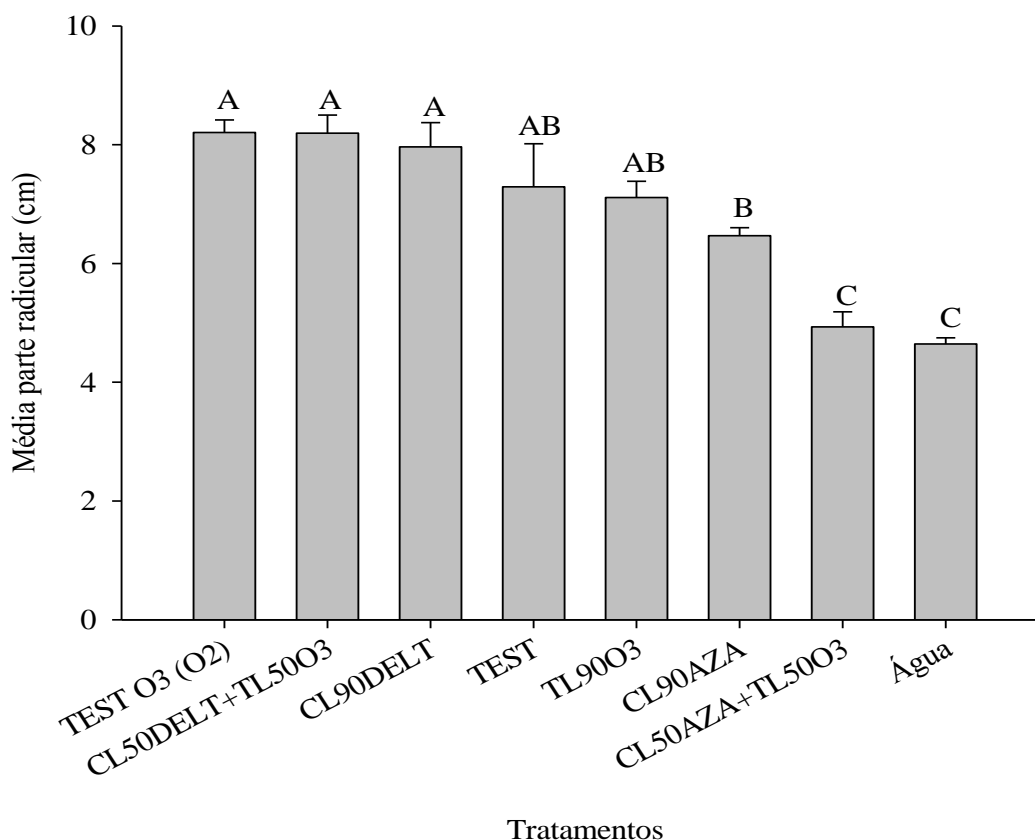
O tratamento com maior comprimento de parte aérea foi aquele submetido a  $CL_{90}$  da deltametrina ( $8,1 \text{ cm} \pm 0,1$ ), seguido do tratamento submetido a  $CL_{90}$  da azadiractina ( $7,83 \text{ cm} \pm 0,16$ ) que não diferiu estatisticamente do tratamento submetido a  $CL_{50}$  da deltametrina +  $TL_{50}$  do ozônio ( $7,18 \text{ cm} \pm 0,16$ ) e da testemunha submetida à aeração com oxigênio ( $7,75 \text{ cm} \pm 0,3$ ). Comprimentos intermediários foram verificados nos tratamentos cuja semente se encontrava em sua condição original ( $6,96 \text{ cm} \pm 0,32$ ), sem adição de água ou aeração com oxigênio e quando submetida ao  $TL_{90}$  do ozônio ( $5,88 \text{ cm} \pm 0,36$ ). Os menores comprimentos de parte aérea foram verificados nos tratamentos que receberam apenas água ( $3,06 \text{ cm} \pm 0,05$ ), seguido do tratamento que associou a  $CL_{50}$  da azadiractina +  $TL_{50}$  do ozônio ( $4,75 \text{ cm} \pm 0,10$ ) (Figura 2).



**Figura 2.** Média do comprimento da parte aérea (em centímetros) das sementes de milho doce submetidas ao teste padrão de germinação e provenientes dos diferentes tratamentos para controle de *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885, (Coleoptera: Curculionidae). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Obs.: Delt – deltametrina; Aza – Azadiractina; O<sub>3</sub> – ozônio; O<sub>2</sub> – oxigênio; CL90 e TL90 – concentração e tempo que causam 90% de mortalidade; CL50 e TL50 – concentração e tempo que causam 50% de mortalidade; TEST – testemunha, semente em sua condição original, sem nenhum tratamento.

Em relação ao comprimento da raiz, a maior medida foi verificada na testemunha submetida à aeração com oxigênio ( $8,21 \text{ cm} \pm 0,21$ ) que não diferiu estatisticamente dos tratamentos expostos à  $CL_{50}$  da deltametrina +  $TL_{50}$  do ozônio ( $8,19 \text{ cm} \pm 0,3$ ) e à  $CL_{90}$  da deltametrina ( $7,96 \text{ cm} \pm 0,41$ ). O tratamento contendo somente a semente em sua condição original ( $7,29 \text{ cm} \pm 0,73$ ) não diferiu estatisticamente do tratamento exposto ao  $TL_{90}$  do ozônio ( $7,11 \text{ cm} \pm 0,27$ ), apresentando medidas intermediárias entre os maiores e os menores valores. As menores medidas foram verificadas nos tratamentos submetidos a  $CL_{90}$  da azadiractina ( $6,47 \text{ cm} \pm 0,13$ ) seguido do tratamento exposto a  $CL_{50}$  da azadiractina +  $TL_{50}$  do ozônio ( $4,93 \text{ cm} \pm 0,26$ ), sendo que esse último não foi diferente, estatisticamente, do tratamento que recebeu apenas água ( $4,64 \text{ cm} \pm 0,11$ ) (Figura 3).





**Figura 3.** Média do comprimento da parte radicular (em centímetros) das sementes de milho doce submetidas ao teste de germinação e provenientes dos diferentes tratamentos para controle de *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885, (Coleoptera: Curculionidae). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Obs.: Delt – deltametrina; Aza – Azadiractina; O<sub>3</sub> – ozônio; O<sub>2</sub> – oxigênio; CL90 e TL90 – concentração e tempo que causam 90% de mortalidade; CL50 e TL50 – concentração e tempo que causam 50% de mortalidade; TEST – testemunha, semente em sua condição original, sem nenhum tratamento.

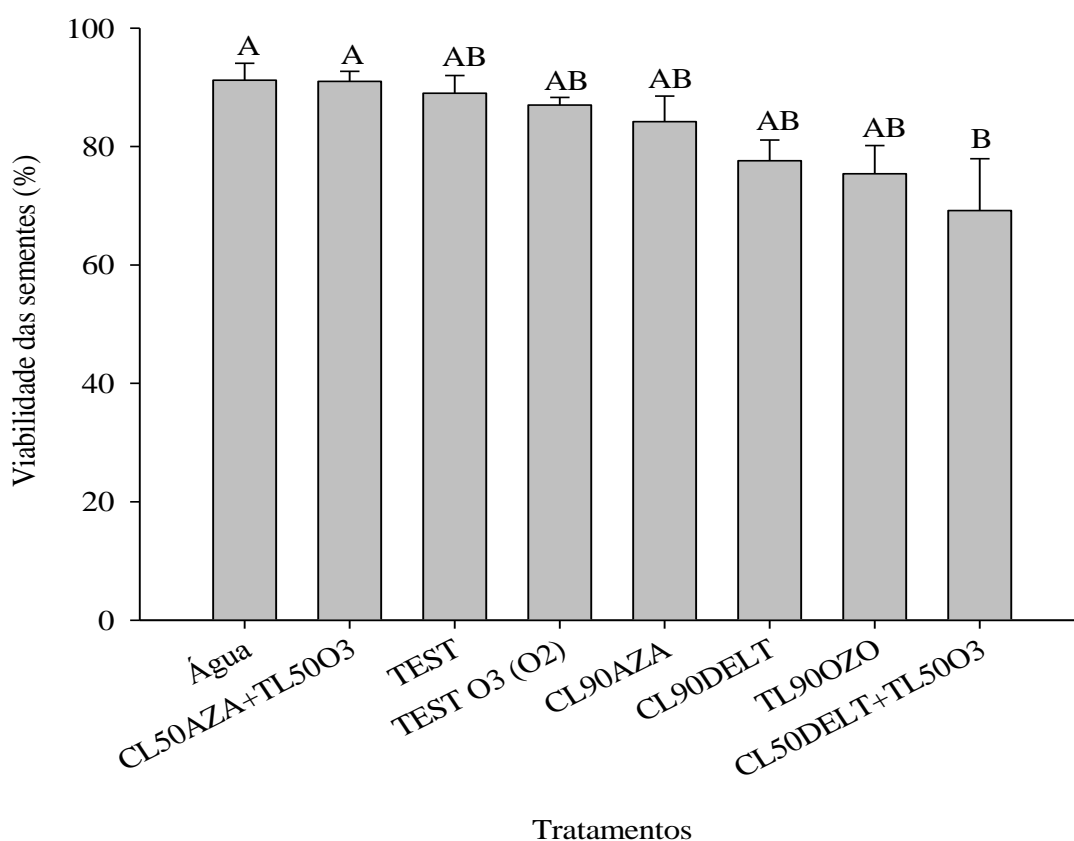
Desta forma, em ambos os casos (comprimento de parte aérea e da raiz) observa-se que os menores valores ocorreram no tratamento que associou a CL<sub>50</sub> da azadiractina com o TL<sub>50</sub> do ozônio. Os demais tratamentos não interferiram no comprimento de parte aérea e da raiz tendo em vista que não diferiram estatisticamente dos valores associados às sementes em sua condição original (sem nenhum tratamento). Exceção pode ser feita em relação ao comprimento da parte aérea que foi significativamente alterado no tratamento exposto ao TL<sub>90</sub> do ozônio em relação à testemunha contendo sementes em sua condição original (sem nenhum tratamento).

Não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos em relação à condutividade elétrica ( $F_{7, 25} = 0,66$ ;  $p = 0,6997$ ).

Portanto a aplicação de inseticidas, bem como a ozonização, não causam danos à membrana das sementes, não interferindo no vigor das mesmas, segundo os resultados deste teste. Rozado *et al.* (2008) verificaram que a atmosfera modificada com ozônio a 50 mg kg<sup>-1</sup> causa aumento da condutividade elétrica, podendo reduzir moderadamente o valor qualitativo dos grãos de milho.

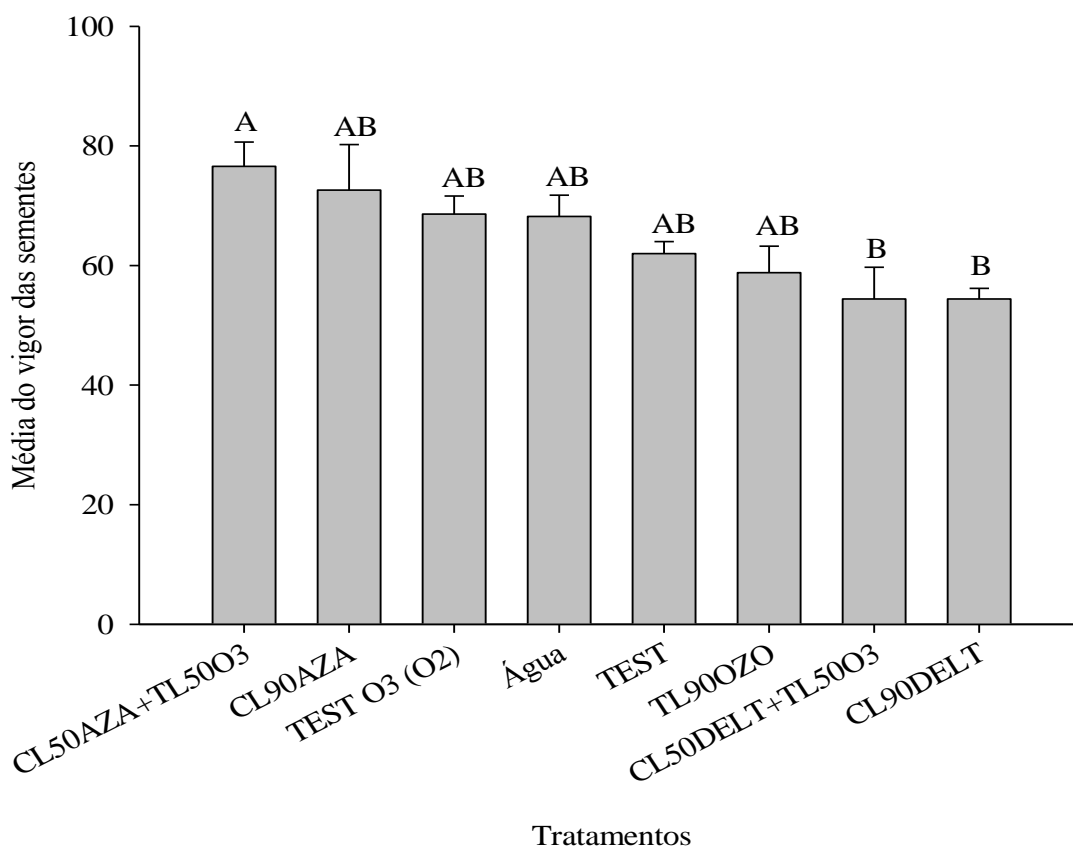
Houve diferenças significativas no vigor ( $F_{7, 25} = 3,42$ ;  $p = 0,0106$ ) e na viabilidade ( $F_{7, 25} = 3,18$ ,  $p = 0,0151$ ) das sementes de acordo com o teste do tetrazólio.

O maior valor de viabilidade foi observado no tratamento que recebeu apenas água (91,2% ± 2,85) que não diferiu estatisticamente do tratamento submetido à CL<sub>50</sub> da azadiractina + TL<sub>50</sub> do ozônio (91,00% ± 1,70). O menor valor encontrado para essa característica foi associado ao tratamento exposto à CL<sub>50</sub> da deltametrina + TL<sub>50</sub> do ozônio (69,20% ± 8,75) que, todavia, não diferiu estatisticamente do tratamento testemunha, com a semente em sua condição original (89,00% ± 3,00) (Figura 4).



**Figura 4.** Viabilidade de sementes de milho doce (em porcentagem) calculada com base nos resultados do teste de tetrazólio e provenientes dos diferentes tratamentos para controle de *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885, (Coleoptera: Curculionidae). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Obs.: Delt – deltametrina; Aza – Azadiractina; O<sub>3</sub> – ozônio; O<sub>2</sub> – oxigênio; CL90 e TL90 – concentração e tempo que causam 90% de mortalidade; CL50 e TL50 – concentração e tempo que causam 50% de mortalidade; TEST – testemunha, semente em sua condição original, sem nenhum tratamento.

Em relação ao vigor, o maior valor observado foi associado ao tratamento submetido à CL<sub>50</sub> da azadiractina + TL<sub>50</sub> do ozônio (76,60% ± 4,06) e o menor valor ocorreu no tratamento exposto à CL<sub>50</sub> da deltametrina + TL<sub>50</sub> do ozônio (54,40% ± 5,30) que, todavia, não diferiu estatisticamente do tratamento contendo a semente em sua condição original (62,00% ± 2,00). Os demais tratamentos apresentaram valores intermediários entre ambos, não diferindo estatisticamente entre si e da testemunha com a semente em sua condição original, sem adição de nenhum tratamento (Figura 5).



**Figura 5.** Vigor das sementes de milho doce (em porcentagem) calculadas com base nos resultados do teste de tetrazólio e provenientes dos diferentes tratamentos para controle de *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885, (Coleoptera: Curculionidae). Obs.: Delt – deltametrina; Aza – Azadiractina; O<sub>3</sub> – ozônio; O<sub>2</sub> – oxigênio; CL90 e TL90 – concentração e tempo que causam 90% de mortalidade; CL50 e TL50 – concentração e tempo que causam 50% de mortalidade; TEST – testemunha, semente em sua condição original, sem nenhum tratamento.

Desta forma, do ponto de vista do vigor e da viabilidade obtidos pelo teste do tetrazólio, os tratamentos não interferem nessas características e, como consequência, na qualidade da semente obtida. Esses resultados concordam com os encontrados por Pereira *et al* (2006) que verificaram que a atmosfera modificada com ozônio a 50 ppm não alterou significativamente as características fisiológicas relacionadas à qualidade das sementes de milho.

## 5. CONCLUSÕES

Do ponto de vista de efetividade em controlar *S. zeamais*, a associação entre a CL<sub>50</sub> dos inseticidas e o TL<sub>50</sub> do ozônio não resultou em sinergia tendo em vista que proporcionou mortalidade inferior à verificada nos tratamentos submetidos à CL<sub>90</sub> da deltametrina e da azadiractina. Todavia, a associação entre o controle químico e a atmosfera modificada com ozônio proporcionou mortalidade equivalente à verificada no tratamento submetido à TL<sub>90</sub> do ozônio.

Os tratamentos que causaram mortalidade efetiva na praga (CL<sub>90</sub> da azadiractina – 12,63% v/v e CL<sub>90</sub> da deltametrina – 5,01% v/v) não alteraram os atributos que garantem a qualidade de sementes, podendo ser usados visando sua proteção.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, W.M.; FARONI, L.R.D.; ALENCAR, E.R.; PAES, J.L. Influência do inseto praga *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae) na taxa respiratória e na perda de matéria seca durante o armazenamento de milho. **Engenharia na Agricultura**, v.16, p.260-069, 2008.

ANTUNES, L.E.G.; VIEBRANTZ, P.C.; GOTTARDI, R.; DIONELLO, R.G. Características físico-químicas de grãos de milho atacados por *Sitophilus zeamais* durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, p.615-620, 2011.

AOSA – Association of Official Seed Analysis (1983) Seed vigor testing handbook. East Lansing, AOSA.88p. 1983.

BARILLI, D. R.; WENGRAT, A. P. G. S.; UEMURA-LIMA, D. H.; GAZOLA, D.; WEBER, P.; PIETROWSKI, V.; RINGERMBERG, R.; GARCIA, M. S. Efeito de produto a base de azadiractina no controle de *Sitophilus zeamais* Mots. 1855 (Coleoptera: Curculionidae). In: ANAIS DO CONGRESSO PARANAENSE DE AGROECOLOGIA, 1., 2014, Pinhais.

BRASIL. Companhia Nacional de Abastecimento (Conab). **Acompanhamento da safra brasileira de grãos.v.1, n.8.** Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14\\_05\\_08\\_10\\_11\\_00\\_boletim\\_graos\\_maior\\_2014.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_05_08_10_11_00_boletim_graos_maior_2014.pdf)>. Acesso em: 20 de agosto de 2014a.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Agrofit**: sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 22 de setembro de 2014b.

CHIATTONE, P.V.; TORRES, L.M.; ZAMBIAZI, R.C. Aplicação do ozônio na indústria de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v.19, p.341-349, 2008.

FAZOLIN, M.; COSTA, C.R.; DAMACENO, J.E.O.; ALBUQUERQUE, E.S.; CAVALCANTE, A.S.S.; ESTRELA, J.L.V. Fumigação de milho para o controle do gorgulho utilizando caule de *Tanaecium nocturnum* (Bignoniaceae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, p.1-6, 2010.

FERRARI FILHO, E.; ANTUNES, L.E.G.; TIECKER, A.; DIONELLO, R.G.; SPOLTI, P. Controle do gorgulho-do-milho submetido ao tratamento térmico. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.10, p.196-204, 2011.

Food and Agriculture Organization of The United Nations (FAO). **Maize in human nutrition**. Disponível em: <[http://www.fao.org/nr/water/cropinfo\\_maize.html](http://www.fao.org/nr/water/cropinfo_maize.html)>. Acesso em: 23 de setembro de 2014.



GRAY, M.E.; RATCLIFFE, S.T.; RICE, M.E. The IPM paradigm: concepts, strategies and tactics. In: RADCLIFFE, E.B.; HUTCHINSON, W.D.; CANCELADO, R.E. (Eds). **Integrated Pest Management: concepts, tactics, strategies and case studies**. Cambridge: University Press, 2009. p. 1-13.

JOHNSON, S.; DUREJA, P.; DHINGRA, S. Photostabilizers for azadirachtin-A (a neem-based pesticide). **Journal of Environmental Science and Health**, v.B38, p.451-462, 2003.

KELLS, S.A.; MASON, L.J.; MAIER, D.E.; WOLOSHUK, C.P. Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. **Journal of Stored Products Research**, v.37, p.371-382, 2001.

KIM, J.G.; YOUSEF, A.E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection**, v.62, p.1071-1087, 1999.

KIM, J.G.; YOUSEF, A.E.; KHADRE, M.A. Ozone and its current and future application in the food industry. In: TAYLOR, S.L (Ed.) **Advances in Food and Nutrition Research**. New York: Academic Press, v.45, p.167-218, 2003.

LORINI, I. **Manejo Integrado de Pragas de Grãos de Cereais Armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2008. 72p.

LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA-NETO, J.B.; HENNING, A.A. Principais pragas e métodos de controle em sementes durante o armazenamento. **Informativo ABRATES**, v. 19, 2009.

LOTT, M.C. **The U.S. now uses more corn for fuel than for feed.** Scientific American, 2007. Disponível em: <<http://blogs.scientificamerican.com/plugged-in/2011/10/07/the-u-s-now-uses-more-corn-for-fuel-than-for-feed/>>. Acesso em: 23 de setembro de 2014.

MASON, L.J.; WOLOSHUK, C.P.; MENDOZA, F.; MAIER, D.E.; KELLS, S.A. Ozone: A new control strategy for stored grain. 9th International Working Conference on Stored Product Protection. Campinas, Brasil. 2006.

MENDEZ, F.; MAIER, D.E.; MASON, L.J.; WOLOSHUK, C.P. Penetration of ozone into columns of stored grains and effects of chemical composition and processing performance. **Journal of Stored Products Research**, v.39, p.33-44, 2003.

OLIVEIRA, E.E; AGUIAR, R.W.S; SARMENTO, R.A; TUELHER, E.S; GUEDES, R.N.C. Seletividade de inseticidas a *Theocolax elegans* parasitoide de *Sitophilus zeamais*. **Bioscience Journal**, v.18, p.11-16, 2002.

PACHECO, I.A.; PAULA, D.C. de. **Insetos de grãos armazenados: identificação e biologia.** Campinas: Fundação Cargill, 1995. 229p.

PEIXOTO, C.M. O milho: O rei dos cereais – Da sua descoberta há 8.000 anos até as plantas transgênicas. 2002. Disponível em: <<http://www.seednews.inf.br/portugues/seed62/milho62.shtml>>. Acesso em: 24 de setembro de 2014.

PEREIRA, A.M. de; FARONI, L.R.D.; SILVA JÚNIOR, A.G. da; SOUZA, A.H. da; PAES, J.L. Viabilidade econômica do gás ozônio como fumigante em grãos de milho armazenados. **Engenharia na Agricultura**, v.16, p.144-154, 2008.

PEREIRA, A.M. de; FARONI, L.R.D.; SOUSA, A.H. de; URRUCHI, W.I.; PAES, J.L. Influência da temperatura da massa de grãos sobre a toxicidade do ozônio a *Tribolium castaneum*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, p.493-497, 2008.

PIMENTEL, M.A.G.; FARONI, L.R.D.A.; TÓTOLA, M.R.; GUEDES, R.N.C. Phosphine resistance, respiration rate and fitness consequences in stored-product insects. **Pest Management Science**, v.63, p.876-881, 2007.

POTENZA, M.R.; ARTHUR, V.; FELICIO, J.D.; ROSSI, M.H.; SAKITA, M.N.; SILVESTRE, D.F.; GOMES, D.H.P. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.71, p.477-484, 2004.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 399p. 2009.

RIEDO, I.C.; NEITZKE, J.; OLIVEIRA, N.C. Controle de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) em milho (*Zeamays* L.) tratado com terra diatomácea. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v. 3, p. 185-188, 2010.

ROZADO, A.F.; FARONI, L.R.D.; URRUCHI, W.M.I.; GUEDES, R.N.C.; PAES, J.L. Aplicação de ozônio contra *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, n.3, p.282-285, 2008.

SANTOS, J.P.dos; FONTES, R.A.; MANTOVANI, B.H.M.; MANTOVANI, E.C.; PEREIRA FILHO, I.A.; BORBA, C. S.; ANDRADE, R.V.de; AZEVEDO, J.T.de; ANDREOLI, C. Perdas de grãos na cultura do milho. In: Relatório técnico anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo: período 1992-1993. EMBRAPA. Centro de Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo. 1994. p.122-124.

SAS. **The Sas System. Version 9.00.** Cary: Sas Institute. 2002.

SILVA, S.B.; LUVIELMO, M.M.; GEYER, M.C.; PRÁ, I. Potencialidade do uso do ozônio no processamento de alimentos. **Ciências Agrárias**, v.32, p.659-682, 2011.

STRAIT, C.A. **Efficacy of ozone to control insects and fungi in stored grain.**1998. 59p. Dissertação (Mestrado) – West Lafayette: Purdue University.

TEIXEIRA, F.F. **Milho cultivado no Brasil e banco de germoplasma – Uma forma de classificação da variabilidade genética.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. 11p. Disponível em: <[http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPMS-2009-09/21382/1/Com\\_155.pdf](http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPMS-2009-09/21382/1/Com_155.pdf)>. Acesso em: 23 de setembro de 2014.

United States Department of Agriculture (USDA). **Economic Research Service.** 2014a. Disponível em: <<http://www.ers.usda.gov/topics/crops/corn/background.aspx#.VCG8rxYsLyE>>. Acesso em: 23 de setembro de 2014.

United States Department of Agriculture (USDA). **World Agricultural Production.** 2014b. 28p. Disponível em: <<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>>. Acesso em: 20 de setembro de 2014.