

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

**REPELÊNCIA CAUSADA PELA OZÔNIZAÇÃO DE MILHO À  
*Sitophilus zeamais* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)**

**CATIANE OLIVEIRA SOUZA**

**BRASÍLIA, DF  
2019**

**CATIANE OLIVEIRA SOUZA**

**REPELÊNCIA CAUSADA PELA OZÔNIZAÇÃO DE MILHO À  
*Sitophilus zeamais* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)**

Monografia apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, como parte das exigências do curso de Graduação em Agronomia, para a obtenção do título de Engenheira Agrônoma

Orientador(a): PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. CRISTINA SCHEITINO BASTOS

**BRASÍLIA, DF  
2019**

## FICHA CATALOGRÁFICA

SOUZA, CatianeOliveira

“REPELÊNCIA CAUSADA PELA OZÔNIZAÇÃO DE MILHO À *Sitophilus zeamais* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)”. Orientação: Cristina Schetino Bastos, Brasília 2019. 30p.

Monografia de graduação – Universidade de Brasília/ Faculdade de Agronomia e Medicina

Veterinária, 2019.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

SOUZA, C.O. **Repelência causada pela ozonização de milho à *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae)**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2019, 30p. Monografia de Graduação.

### Cessão de direitos

Nome do Autor: Catiane Oliveira Souza

Título: Repelência causada pela ozonização de milho à *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae)

Ano: 2019

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias dessa monografia 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 dessa publicação pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

**CATIANE OLIVEIRA SOUZA**

**Repelência causada pela ozonização de milho à *Sitophilus zeamais***

**(Coleoptera: Curculionidae)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, como parte das exigências do curso de Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Engenheira Agrônoma.

**APROVADO POR:**

---

**CRISTINA SCHETINO BASTOS, DSc. Fitotecnia – Entomologia/ Universidade de Brasília/ ORIENTADORA**

---

**ERNANDES RODRIGUES DE ALENCAR, DSc. Engenharia Agrícola/ Universidade de Brasília/ EXAMINADOR INTERNO**

---

**CHRISTIAN SHERLEY ARAÚJO DA SILVA TORRES, DSc. Entomologia Agrícola/ Universidade Federal Rural de Pernambuco/ AVALIADOR EXTERNO**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Deus por todas as oportunidades que me foi dada, a minha mainha Maria Valdeci pelos conselhos, incentivos e por toda a sua ajuda, que me fez permanecer firme durante a graduação. À minha irmã Bruna e todos da minha família pelo suporte ao longo desses anos. À professora Cristina por todos os ensinamentos, paciência e inspiração. Ao professor Ernandes Alencar por ceder os recursos necessários para realização deste trabalho. À Universidade de Brasília pelo aprendizado e ensejo de experiências únicas. Aos meus amigos que colaboraram na execução do projeto, sem vocês não seria possível efetuar o trabalho.

## RESUMO

O milho é atacado por diferentes pragas durante o armazenamento sendo o gorgulho-do-milho, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), uma praga primária capaz de infestar os grãos no campo e no armazenamento. Sua principal forma de controle é através do uso de inseticidas sintéticos de contato e fumigantes, sendo necessário buscar formas alternativas de controle. Assim, este trabalho avaliou o efeito de repelência do Ozônio (O<sub>3</sub>) sobre adultos de *S. zeamais* e determinou o tempo de meia vida do gás nos genótipos de milho estudados (Superdoce, comum – BR 106 e Pipoca – BAS 5802). A repelência foi testada em olfatômetro de quatro vias por um período de 10 minutos, em cada ensaio. Avaliou-se o tempo para primeira escolha (seg), número de vezes em que uma fonte de estímulo foi escolhida e o tempo de residência (seg). A avaliação da cinética de decomposição foi feita a partir da quantificação residual de O<sub>3</sub> nos grãos por meio do método iodométrico (titulação indireta). Para determinar o tempo de meia vida ( $t_{1/2}$ ), utilizou-se os valores da constante da taxa de decomposição para o modelo de primeira ordem. O tempo de residência das fêmeas de *S. zeamais* nos grãos do milho Superdoce não tratados com ozônio foi 2,4-2,6x maior do que nos grãos tratados, enquanto nos genótipos BR 106 e Pipoca esse tempo foi 6,2-10,8 e 2,6-4,4x, respectivamente, maior. O tempo de meia vida do O<sub>3</sub> nos genótipos foi de 2,08, 6,80 e 6,38 minutos para os milhos Superdoce, Pipoca e BR 106. Desta forma, observou-se que todos os genótipos de milho impregnados com O<sub>3</sub> apresentaram repelência ao gorgulho, *S. zeamais*. Entretanto, nos grãos do genótipo Superdoce, o menor tempo de meia vida do O<sub>3</sub> contribuiu para a menor magnitude do efeito de repelência observado.

**Palavras-chave:** *Zea mays*, Gorgulho do milho, Ozônio, Efeito repelente

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	1
2 OBJETIVOS .....	3
2.1 Objetivos gerais.....	3
2.2 Objetivos específicos .....	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
3.1 Cultura do Milho .....	4
3.2 O gorgulho-do-milho, <i>Sitophilus zeamais</i> (Coleoptera: Curculionidae).....	5
3.3 Formas de Controle .....	7
3.4 O ozônio (O <sub>3</sub> ) como alternativa de controle de <i>S. zeamais</i> .....	9
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	12
4.1 Material vegetal.....	12
4.2 Insetos.....	12
4.3 Utilização de olfatômetro para quantificar respostas comportamentais .....	13
4.4 Cinética de decomposição do ozônio e determinação do tempo de meia vida .....	14
4.5 Análise dos dados.....	15
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
6. CONCLUSÕES / CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	21
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS. ....	21

## 1 INTRODUÇÃO

O milho, *Zea mays* L. (Poaceae), constitui-se na base alimentar de diversos países em desenvolvimento. É a cultura mais empregada comercialmente na África Subsaariana (JONES et al., 2011; SMALE et al., 2011) e pode ser classificado em 5 grupos principais, a depender das características do grão: dentado, duro/*flint*, pipoca, doce e farináceo. Essa classificação relaciona-se ao formato e tamanho do grão e também considera a composição do endosperma (PAES, 2006; BOUTARD, 2012). Segundo Paliwal et al. (2000) o milho *flint* é o menos favorável ao ataque de pragas e fungos em virtude da maior dureza de sua camada externa.

Os Estados Unidos é o maior produtor mundial de milho (FAO, 2019), com destaque para o milho pipoca *Zea mays* var. *everta* Sturt. Logo, o país é ao mesmo tempo grande produtor e consumidor do milho pipoca, com mais de 230 milhões de toneladas produzidas deste grão no ano de 2012 (HANSEN et al., 2013). Esse tipo de milho é caracterizado pela dureza de sua camada externa e pelo pericarpo mais espesso, com grãos menores e arredondados (KARABABA, 2006; YANG et al., 2005). Por sua vez, o milho doce em geral é considerado mais suscetível ao ataque de insetos-praga, pois carrega genes denominados "*sugary*" que impedem a conversão de açúcares em amido (acúmulo de fitoglicogênio) e essa característica faz com que os grãos, quando secos, adquiram aspecto enrugado (PAES, 2006). Contudo, a produção do milho doce tem aumentado nos últimos anos devido ao seu uso processado e para consumo *in natura*, sendo essa tendência observada em grandes países produtores, tais como os EUA, Brasil, Canadá, China, Austrália e alguns países da Europa (WILLIAMS, 2012).

O milho, após ser colhido, é seco (aquecimento de ar forçado) e submetido ao armazenamento (controle antrópico do ambiente, ou seja, sem grandes alterações do meio). Durante o período que passa armazenado, o cereal é atacado por um complexo de insetos praga, capazes de causar perdas severas que variam de 20% em países em desenvolvimento a 9% em países desenvolvidos (PIMENTEL, 1991; LORINI, 2008; PHILLIPS & THRONE, 2010).

Dentre as pragas que podem atacar o grão formado algumas apresentam infestação cruzada, ou seja, começam a atacar o milho quando ainda está no campo, também infestando os grãos no armazenamento. Esse é o caso do gorgulho-do-milho, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae), inseto de desenvolvimento completo (holometabólico) e que tanto a fase larval quanto a adulta são prejudiciais ao milho armazenado, sendo capazes de se alimentar e desenvolver internamente no grão (LORINI,

2008). A injúria causada por esse inseto, sob ambiente favorável, leva a perdas quantitativas de 30 a 40% (CABI 2005). Estudos anteriores têm demonstrado que adultos de *S. granarius*, por exemplo, se orientam para misturas de voláteis emitidos pelos grãos de várias espécies de cereais (RIETDORF & STEIDLE, 2002) e a presença de compostos fagoestimulatórios é considerada crucial no processo de infestação pela praga (KANAUJIA & LEVINSON, 1981).

Em relação ao controle de *S. zeamais*, realizado basicamente imediatamente antes e durante o armazenamento, a fumigação à base de fosfina é a mais empregada. Além da fosfina, os únicos produtos registrados são piretróides e organofosforados, usados em pulverização residual antes do armazenamento (enchimento do silo), condicionando assim, limitações para o manejo dessa praga. Esses produtos, em sua maioria, são altamente nocivos à saúde humana (PHILLIPS & THRONE, 2010). Devido à dependência irrestrita dos inseticidas como único método de controle eficaz, agravada pela pouca disponibilidade de produtos para rotação de ingrediente ativo, as chances de seleção de indivíduos resistentes, são aumentadas (KAY & COLLINS, 1987; GUEDES, 1991; SUBRAMANYAM & HAGSTRUM, 1996; COLLINS et al., 2002; SANTOS et al., 2009; BRASIL, 2019c). Além disso, alguns estudos têm avaliado a efetividade da associação de terra de diatomáceas com pó de deltametrina no controle do inseto (CERUTTI & LAZZARI, 2005) possuindo, entretanto, disseminação restrita. Outras medidas de controle incluem a redução da temperatura ou aeração da massa de grãos para reduzir a taxa de crescimento populacional do inseto, controle da umidade do grão e dessecação, e algumas medidas de uso ainda mais restrito e associadas ao emprego de feromônios e agentes de controle biológico (PHILLIPS & THRONE, 2010). Esses fatos tornam imprescindível a busca por outros métodos alternativos de controle, de fácil adoção e que apresentem eficiência de controle satisfatória.

Os insetos podem apresentar mecanismos comportamentais que reduzam a sua exposição a um determinado composto químico, incluindo a repelência (GOULD 1984, HOY et al. 1998, SPÍNDOLA et al. 2013). A repelência está associada à percepção sensorial do inseto e consiste na propriedade de um composto químico em fazer com que o inseto adquira um movimento orientado para longe da fonte de emissão desse composto. Desta forma, um composto químico que desencadeie uma combinação de respostas comportamentais cujos resultados incluam a prevenção do ataque do inseto é chamado repelente (DAVIS, 1985). De acordo com Ud-Din, Ur-Rashid & Mansoor (2018) substâncias químicas que possuem potencial para repelência devem ser de fácil degradação, apresentar controle efetivo e não causar toxicidade ao ser humano. Desta forma, produtos que causem tal efeito são altamente

desejáveis, pois impedem ou atrasam o ataque, atuando ainda na fase de colonização do hospedeiro e com isso evitando a infestação. Nesse sentido, óleos essenciais tais como de *Citrus aurantiifolia* e *C. reticulata* com reconhecida repelência a insetos de grãos armazenados têm sido usados para evitar a infestação (FOUAD & CAMARA, 2017).

O emprego do gás de ozônio (O<sub>3</sub>) para o controle do gorgulho pode ser uma alternativa, visto que possui eficiência de controle relatada para várias espécies que infestam grãos armazenados atuando como gás fumigante, levando a praga a morte devido aos seus efeitos oxidativos com propriedades inseticidas (KELLS et al., 2001; ROZADO et al., 2008; SOUSA et al., 2008; BONJOUR et al., 2011; SILVA et al., 2016) e não gera resíduos químicos (SOUSA et al., 2016). Diversas outras vantagens são associadas ao uso do gás O<sub>3</sub> no controle de pragas, incluindo a sua rápida degradação, seu alto poder oxidativo e a capacidade de penetrar em profundidade na massa de grãos (TIWARI et al., 2010). Trabalhos a respeito da toxicidade do ozônio já foram difundidos (HANSEN et al., 2012; SADEGHI et al., 2017). Entretanto, estudos que considerem o efeito de repelência causada pelo gás após a ozonização são inexistentes.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivos gerais**

- ✓ Avaliar o efeito de repelência da ozonização sobre o gorgulho *S. zeamais* e determinar o tempo de meia vida do gás.

### **2.2 Objetivos específicos**

- ✓ Avaliar o efeito de repelência de três genótipos distintos de milho quando impregnados com o gás ozônio;
- ✓ Avaliar a meia vida do gás ozônio sobre os três genótipos de milho estudados.

## **3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### 3.1 Cultura do Milho

O milho pertence à família Poaceae, espécie *Zea mays* L. e possui origem na América central (PATERNIANI & CAMPOS, 2005). É uma cultura de grande relevância em todo o mundo, por suas propriedades nutricionais para alimentação humana e animal, além de seu uso em indústrias, para a fabricação de embalagens biodegradáveis (PAES, 2006). Contribui com até 60% da energia e até 30% da proteína da dieta, sendo considerado uma fonte primária de energia para países em desenvolvimento (MLYNEKOV & CERESNAKOVA, 2013).

A planta possui o fruto do tipo cariopse, comum nas gramíneas. O milho é classificado em cinco grupos principais, a depender das características do grão, podendo ser: dentado, duro/*flint*, pipoca, doce e farináceo (BOUTARD, 2012). Nacionalmente a produção gira em torno do milho tipo *flint*, porém em países de clima temperado o milho dentado se sobressai (PAES, 2006).

Na conjuntura mundial, de acordo com dados da FAO de 2017, o Brasil apresenta uma produção de 97.721.860 ton, estando atrás somente dos Estados Unidos (370.960.390 ton) e China (259.234.478 ton). A Argentina e a Índia aparecem, respectivamente, como quarto e quinto maiores produtores com 49.475.895 ton e 28.720.000 ton. Em relação à área colhida, China e Estados Unidos possuem os maiores cultivos com 42.428.647 e 33.469.080 ha, respectivamente. O Brasil ocupa a terceira posição com 17.393.563 ha, seguido da Índia e do México com 9.219.000 ha e 7.327.501 ha, respectivamente. As maiores produtividades são provenientes dos Emirados Árabes (26,73 ton/ha), São Vicente e Granadinas (26,11 ton/ha), Israel (25,76 ton/ha), Jordânia (17,47 ton/ha) e Países Baixos (13,46 ton/ha). Os maiores produtores mundiais, isto é, Estados Unidos, China e Brasil, possuem baixa produtividade de 11,08 ton/ha, 6,11 ton/ha e 5,62 ton/ha, respectivamente (FAO, 2019).

A área cultivada de milho no Brasil, na safra de 2017/18, correspondente aos cultivos de primeira e segunda safra foi de 16.616,4 mil ha. As regiões Centro- Oeste, Sul e Nordeste se destacam com 7.742,1 mil ha, 3.478,3 mil ha e 2.652,6 mil ha, respectivamente, de área plantada. O Distrito Federal contribui com 63,60 mil ha, sendo a maior área de 4.498,4 mil ha proveniente do Mato Grosso, seguida do Paraná com 2.430,9 mil ha, Mato Grosso do Sul com 1.735,5 mil ha, Goiás com 1.444,6 mil ha e Minas Gerais com 1.165,1 mil ha. O estado de Santa Catarina é o que possui as maiores produtividades com valores superiores a 7.997 kg/ha, seguido do Distrito Federal com 7.199 kg/ha. As maiores produções se convergem nas regiões Centro-Oeste (41.451,2 mil ton), Sul (19.236,5 mil ton) e Sudeste (11.129,4 mil ton) (BRASIL, 2019a).

Os volumes comercializados externamente nos países de maior produção foram de 58.423 mil ton e 20 mil ton para EUA e China, respectivamente, na safra 2018/19. Dessa maneira, grande parte do montante das produções obtidas nessas regiões é para abastecimento apenas do mercado interno. O volume exportado pelo Brasil está em torno de 24.767 mil ton considerando a safra de 2017/18, com expectativa de exportação de 31.000 mil ton em 2018/19 (BRASIL, 2019b). O milho se apresenta como uma *commodity* possuidora de boas características para o armazenamento. Entretanto, é atacado por um complexo de insetos-praga de produtos armazenados, capazes de causar perdas severas em pós-colheita estimadas em 20% em países em desenvolvimento e em 9% nos países desenvolvidos. Dentre as espécies capazes de contribuir significativamente para essas perdas tem-se o gorgulho-do-milho *S. zeamais* capaz de atacar os grãos intactos (praga primária) e iniciar o ataque quando o milho ainda se encontra no campo até o armazém, ou seja, apresenta capacidade de causar infestação cruzada. Além disso, o ataque do inseto se localiza internamente nos grãos (PIMENTEL, 1991; LORINI, 2008; PHILLIPS & THRONE, 2010), algo que dificulta seu manejo com inseticidas de contato.

### 3.2 O gorgulho-do-milho, *S. zeamais*

O gorgulho-do-milho por ser um representante da família Curculionidae apresenta um prolongamento na cabeça característico, denominado rostro, que contém as peças do aparelho bucal mastigador no seu ápice (MOUND, 1989). Esses insetos passam por metamorfose completa e, desta forma, as larvas são ápodas, do tipo curculioniforme, e de coloração amarelo-claro com a cabeça marrom-escura enquanto as pupas apresentam o formato dos adultos e possuem cor branca leitosa (MOUND, 1989; BOOTH et al., 1990).

Os adultos podem alcançar até 3,5 mm de comprimento, possuem pigmentação castanho-escuro e manchas mais claras no élitro. O período de oviposição é de 104 dias, com uma média de 282 ovos por fêmea (longevidade de 140 dias). O período de incubação dos ovos vai de 3 a 6 dias e o ciclo de ovo a adulto é de aproximadamente 34 dias (LORINI & SCHNEIDER, 1994; LORINI, 2008).

O gorgulho é praga primária interna de grãos armazenados, manifestando infestação cruzada, o que significa que a infestação pode ocorrer desde o campo até o armazém. Está presente nas regiões quentes e tropicais do mundo, sendo praga preferencial do milho, seguido de outros cereais tais como trigo e arroz (DOBIE et al., 1984). No gênero *Sitophilus* ocorre a

liberação de feromônios de agregação pelo macho, que está associado ao contato com o alimento, onde após a localização do hospedeiro ocorre a produção do feromônio que atrai tanto fêmeas como machos, que se acasalam e por fim acontece a oviposição no mesmo local (WALGENBACH et al., 1983; PHILLIPS et al., 1993; PHILLIPS & THRONE, 2010). Trabalhos realizados em laboratório e a campo demonstraram a forte atração de *S. zeamais* e *Sitophilus oryzae* (Linnaeus) (Coleoptera: Curculionidae) à odores de milho e trigo (WALGENBACH et al., 1987; TREMATERRA & GIRGENTI, 1989; LIKHAYO & HODGES, 2000). Contudo, pesquisas com *Sitophilus granarius* (Linnaeus) (Coleoptera: Curculionidae) revelaram que a experiência larval e adulta (recente) do inseto influencia a seleção do hospedeiro. Em um dos ensaios foi possível observar que gorgulhos que emergiram de grãos de trigo evitavam veementemente o odor de milho, o mesmo não ocorrendo nos tratamentos em que *S. granarius* não possuía experiência prévia com esse grão ou possuía apenas experiência olfativa prévia, o que indica que a experiência adulta prévia pode afetar o comportamento do inseto de acordo com o princípio Hopkins de seleção do hospedeiro (RIETDORF & STEIDLE, 2002).

As fêmeas usam a mandíbula para cavar pequenas aberturas, onde são depositados os ovos individualmente nos grãos e, em seguida, esse orifício é fechado com uma substância gelatinosa secretada pelo ovipositor (COTTON & WILBUR, 1982; EVANS, 1981). Grãos com teores de umidade inferiores a 12,5% inibem a postura, que pode ocorrer em grãos que possuem alto teor de umidade, como no caso do milho na fase de maturação (EVANS, 1981). Essa inibição normalmente ocorre em virtude dos grãos secos serem mais duros, proporcionando resistência ao ataque do *S. zeamais* (ANTUNES & DIONELLO, 2010).

Os danos causados por esse inseto levam a perdas quantitativas, devido à redução do peso dos grãos atacados devido à alimentação do inseto, além de poderem causar alteração no valor nutricional e na qualidade fisiológica de sementes (FARONI, 1992; CANEPPELE et al., 2003). A qualidade da massa de grãos também é prejudicada devido a contaminação com fezes, ovos e insetos mortos, ocasionando a incidência de pragas secundárias e fungos que produzem micotoxinas, com especial ênfase para as aflatoxinas (SANTOS, 2006; KIM et al., 1999). As aflatoxinas são produzidas especialmente pelas espécies *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, ambas originando a aflatoxina B1 (BENNETT E KLICH 2003; YU, 2004), que se trata de um composto natural hepatocarcinogênico altamente tóxico (WILLIAMS et al., 2004). O consumo de alimentos e rações contaminados com aflatoxina pode ter efeito agudo e crônico (carcinogenicidade), dependendo da quantidade ingerida e do tempo de exposição

(LEWIS et al., 2005). Estudos realizados nos EUA mostraram forte correlação entre o ataque de *Sitophilus* e a contaminação dos grãos por aflatoxinas (NI et al., 2011).

Quanto maior a população de insetos prevalente durante o armazenamento, maiores serão também as perdas acumuladas devido a quantidade de resíduos gerados, a perda de qualidade e de quantidade do material armazenado (ANTUNES et al., 2011). Dessa forma, devem ser empregados métodos de controle que evitem tais perdas.

### 3.3 Formas de Controle

O controle do *S. zeamais* no Brasil é feito principalmente no ambiente de armazenamento através da fumigação, sendo o produto mais utilizado a fosfina (fosfeto de magnésio e alumínio) (PIMENTEL et al., 2008; BRASIL, 2019c). Além da fosfina, os demais produtos registrados para o controle dessa espécie em milho armazenado são pertencentes ao grupo químico dos piretróides e organofosforados (BRASIL, 2019c). Essa situação é condicionante de limitações para o manejo dessa praga (PHILLIPS & THRONE, 2010), além de aumentar a possibilidade de desenvolvimento de resistência no inseto, devido a essa forte dependência dos inseticidas, agravada pela restrita possibilidade de rotação de ingredientes ativos (KAY & COLLINS, 1987; GUEDES, 1991; SUBRAMANYAM & HAGSTRUM, 1996; COLLINS et al., 2002; SANTOS et al., 2009; BRASIL, 2019c). Além disso, o uso constante da fosfina faz com que a pressão de seleção para resistência a esse ingrediente ativo seja elevada (BENGSTON et al., 1999; COLLINS et al., 2002) em virtude das más condições em que os expurgos são realizados nos armazéns, não exercendo o controle efetivo das pragas e, conseqüentemente, intensificando o número de aplicações (PACHECO; SARTORI & TAYLOR, 1990; CHAUDHRY, 2000; BENHALIMA et al., 2004; LORINI et al., 2007).

Há vários estudos já realizados objetivando detectar a resistência de populações de *S. zeamais* aos principais ingredientes ativos utilizados para o seu controle. Pimentel et al. (2008) avaliaram a resistência à fosfina em quatro espécies diferentes que infestam grãos armazenados, incluindo *S. zeamais*, coletadas em sete estados brasileiros. Nesta pesquisa, foi observada a redução da taxa respiratória em populações de indivíduos resistentes de todas as espécies testadas, configurando um mecanismo de resistência a fosfina, pois ocorre uma redução na captação do gás através da penetração cuticular.

Além disso, já foram encontradas populações do gorgulho-do-milho resistentes a piretróides em cinco estados nacionais (GUEDES et al., 1995). Santos et al. (2009) avaliaram

a toxicidade de inseticidas protetores (piretróides e organofosforados) em populações brasileiras de *S. zeamais* e observaram populações resistentes à piretróides, sem, contudo, verificar resultado semelhante para os organofosforados que causaram mortalidade acima de 98%.

Esses estudos comprovam a pressão de seleção existente para surgimento de genótipos resistentes em pragas de grãos armazenados a inseticidas fumigantes (fosfina) e protetores (piretróides), devido a carência de ingredientes ativos alternativos a serem usados para rotação de modos de ação, associado as inadequadas técnicas de uso em unidades de armazenamento que aceleram o surgimento de resistência (GUEDES, 1991; SUBRAMANYAM & HAGSTRUM, 1996; GUEDES et al., 2006; PIMENTEL et al., 2007; SANTOS et al., 2009). Desta forma, faz-se necessário a busca por métodos alternativos de controle que possam compor o manejo integrado de *S. zeamais* em milho armazenado.

Trabalhos recentes confirmaram as vantagens significativas do uso conjunto de genótipos resistentes e do controle químico com inseticidas botânico (neem) e sintético (deltametrina). Nesse sentido, a oviposição de *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann) (Coleoptera: Bruchidae) foi reduzida em 53-96% nas variedades que apresentavam um elevado grau de antibiose e tratadas com os inseticidas em comparação às variedades suscetíveis e também tratadas (LUZ et al., 2017).

Os diferentes tipos de milho cultivados no Brasil e no mundo apresentam considerável variabilidade em relação à resistência às pragas que são atribuídas a diferentes causas. Nesse sentido, os diferentes tipos de grãos afetam significativamente a infestação e o desenvolvimento dos insetos tanto por alterações químicas, físicas ou morfológicas, ou ainda alterações no ambiente de armazenamento com implicações sobre as características dos grãos. Em relação às alterações químicas é reconhecido que a qualidade nutricional da cultivar que inclui os teores de açúcar, proteína e aminoácido são determinantes na suscetibilidade ao ataque (GARCÍA-LARA et al., 2004). Além disso, outras substâncias tais como compostos fenólicos, alcaloides, teor de  $\alpha$ -amilase e inibidores de proteinase possuem envolvimento na manifestação da resistência dos grãos ao ataque de *S. zeamais* (ARNASON et al., 1992; WARCHALEWSKI et al., 2002; BERGVINSON & LARA, 2002; SANTIAGO & MALVAR, 2010; NWOSU, 2016). Adicionalmente, a dureza dos grãos tem sido relacionada como importante causa condicionante de resistência a insetos que infestam os grãos no armazenamento e tal característica pode ser afetada pelo formato do grão (se duro - flint, dentado, doce, pipoca ou outro) (SULEIMAN et al, 2015; SULEIMAN; ROSENTRATER &

BERN, 2015). A umidade e temperatura de armazenamento do ambiente de armazenamento também afetam consideravelmente o ataque aos grãos (EVANS, 1982).

Empregar plantas resistentes em conjunto com outras táticas do MIP (Manejo Integrado de Pragas) tais como a atmosfera modificada, pode ser uma alternativa à dependência exclusiva de inseticidas fumigantes e protetores para o controle de *S. zeamais*. A atmosfera modificada cria um ambiente não tolerável, por meio da manutenção da concentração específica de um gás em particular, associada à redução das concentrações de O<sub>2</sub> ou mesmo decréscimo nos níveis de O<sub>2</sub> sem introdução de nenhum outro gás (PHILLIPS & THRONE, 2010; DE CARLI et al., 2010). Há vários gases que são empregados com esse propósito, incluindo o CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, NO e O<sub>3</sub> (DE CARLI et al., 2010; CAO et al., 2019). Uma das maiores vantagens no uso do ozônio (O<sub>3</sub>) é a possibilidade de produção local tendo em vista que dispêndios com transporte, estocagem e manipulação são superados (ISIKBER & OZTEKIN, 2009; SOUSA et al., 2016). Além disso, como um componente da atmosfera natural, o O<sub>3</sub> pode ser transformado rapidamente em oxigênio molecular sem deixar resíduos, possuindo meia vida de 20 a 50 minutos (SOUSA et al., 2016; CAO et al., 2019). Além disso, o O<sub>3</sub> possui a vantagem de não alterar as propriedades dos produtos armazenados e submetidos ao tratamento com o gás. Nesse sentido, Sadeghiet et al. (2017) trataram figo seco armazenado com 5 ppm de ozônio por 90 min e observaram mortalidade de 100% de *Oryzaephilus surinamensis* (Linnaeus) (Coleoptera: Silvanidae) e *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) que estavam infestando o produto sem, contudo, que houvesse mudanças na cor, doçura ou firmeza dos figos. Enquanto Kells et al. (2001) observaram mortalidade maior que 90% em larvas de *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) e adultos de *S. zeamais* em milho armazenado.

### 3.4 O ozônio (O<sub>3</sub>) como alternativa de controle de *S. zeamais*

O gás ozônio nada mais é do que o rearranjo de átomos de oxigênio (O<sub>2</sub>), que podem ocorrer, por exemplo, durante descargas elétricas (como raios), encontradas na atmosfera (KHADRE et al., 2001; LIU et al., 2007). O O<sub>3</sub> é um gás usado nas indústrias de processamento de alimentos, e também como desinfetante em estações de tratamento de água (KHADRE et al. 2001; TIWARI et al., 2010), além de ser empregado como fumigante no controle de pragas de grãos armazenados, cujos procedimentos de aplicação tais como

dosagem e tempo de exposição, são variáveis em de acordo com a praga controlada (SOUSA et al., 2008; LU et al., 2009; HANSEN et al., 2012; PANDISELVAM et al., 2017).

A ação deletéria do gás ozônio empregado como fumigante e na proteção de grãos armazenados contra o ataque de insetos é atribuída aos efeitos da hipoxia (<21% de O<sub>2</sub>), mudanças na produção de energia (NADPH, ATP, metabolismo de lipídeos e carboidratos), alteração nos níveis de enzimas envolvidas no metabolismo respiratório, além de causar estresse oxidativo nos organismos expostos ao gás e a outros gases empregados para modificação da atmosfera do ambiente de armazenamento (CAO et al., 2019). Apesar de vários estudos terem demonstrado que insetos que infestam produtos armazenados possuem potencial genético para desenvolverem resistência a gases modificadores de atmosfera do ambiente de armazenamento (CAO et al., 2019), não existem, até o momento, relatos de populações de *S. zeamais* resistentes ao ozônio (SOUSA et al., 2016).

Desta forma, o ozônio tem sido considerado como alternativa para o manejo de pragas de produtos armazenados (TIWARI, et al., 2010) em substituição a fosfina, que é muito utilizada por sua ação fumigante que assegura mortalidade de insetos mesmo na fase imatura, quando algumas espécies possuem o controle dificultado por se desenvolverem internamente nos grãos (REES, 1996; PHILLIPS & THRONE, 2010). Hansen et al. (2012) definiram, em condições laboratoriais, doses letais de ozônio para o controle das fases adulta e larval de insetos de grãos armazenados, sendo avaliadas oito espécies de coleópteros (três do gênero *Sitophilus*) e três espécies da ordem Lepidoptera. Os insetos foram submetidos a doses contínuas de 10 a 135 ppm de O<sub>3</sub> por um tempo de exposição de até oito dias. Os autores concluíram que havia controle efetivo de todas as espécies avaliadas quando submetidas à concentração de 35 ppm por seis dias. No caso das fases imaturas de *Sitophilus* spp. e *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera: Bostrichidae), as concentrações necessárias para causar mortalidade completa situaram-se em torno de 135 ppm com exposição por 8 dias. Outros autores verificaram que a exposição por três dias a concentrações de O<sub>3</sub> variáveis entre 5-45 ppm causaram mortalidade variável de 92-100% em larvas de *T. castaneum* e adultos de *S. zeamais* em milho armazenado (KELLS et al., 2001).

Vale destacar, entretanto, que o desempenho do gás ozônio é afetado pelas variações de temperatura e umidade tanto nos grãos quanto no ambiente. Esses fatores influenciam o tempo de meia vida do gás no meio e irão determinar a eficiência no controle de pragas e microrganismos mediante a utilização do O<sub>3</sub> (McCLURKIN, et al., 2013). As propriedades superficiais dos grãos, por exemplo, podem interferir na taxa de penetração do ozônio, devido

à alta reatividade do O<sub>3</sub> (TIWARI, et al., 2010; ISIKBER & ATHANASSIOU, 2015), alterando a eficiência de controle obtida e tais fatores justificam a diversidade de resultados encontrados em relação às concentrações e tempo de exposição requeridos para que se obtenha efeito de controle sobre insetos infestando os grãos armazenados. Outro fato que deve ser levado em consideração é a extrapolação dos resultados obtidos em condições laboratoriais para condições de armazéns comerciais, uma vez que há diferenças consideráveis entre os dois ambientes (McKENZIE e BATTERHAM, 1998), além da estrutura requerida para realizar a fumigação desses armazéns não estar disponível (PIMENTEL et al., 2009). Desta forma, outras aplicações do gás ozônio no controle de pragas devem ser buscadas, incluindo sua ação como composto causador de repelência.

A designação das respostas dos insetos aos estímulos foi inicialmente estabelecida por Dethier, Browne & Smith (1960) que associaram o termo repelência à resposta a um composto químico que faz com que o inseto assuma um movimento orientado em direção oposta à fonte de estímulo. Dessa forma, esses compostos evitam que o artrópode aterrisse ou prove a fonte de estímulo, interrompendo o ataque ainda na fase de procura pelo hospedeiro. Apesar de pouco ser conhecido de como os compostos repelentes afetam as respostas comportamentais dos insetos e como eles previnem os insetos de encontrarem e provarem seus hospedeiros (DAVIS, 1985), alguns estudos já realizados com mosquitos sugerem que esses compostos agiriam como agonistas alostéricos ou antagonistas de receptores ou co-receptores de odores atrativos nos canais iônicos dos insetos, impedindo a detecção do odor de atratividade pelos quimiorreceptores localizados na antena do inseto (LEE, 2018). Desta forma, esses compostos agiriam como repelentes potenciais ao impedir a atividade sensorial de percepção dos odores atrativos pelos insetos (LEE, 2018).

A aplicabilidade de compostos possuidores de ação de repelência no controle de *S. granarius*, *S. zeamais* e *S. oryzae* tem se restringido aos ensaios com óleos essenciais e extratos de plantas (FOUAD & CAMARA, 2017; HAN et al., 2017; MALGORZATA; MALEJKY & NOWAK-CHMURA, 2017; GURU-PIRASANNA-PANDI et al., 2018; UDDIN; UR-RASHID & MANSOOR, 2018). Vale salientar que compostos possuidores de reconhecida ação de repelência têm sido considerados como alternativas no manejo de populações de *S. zeamais* resistentes a inseticidas sintéticos (FREITAS et al., 2016). Desta forma, tendo em vista que não existem relatos anteriores de estudos que tenham considerado a ação repelente do gás ozônio e tendo em vista a aplicabilidade dessa propriedade no manejo e prevenção da infestação de produtos armazenados por *S. zeamais* esse trabalho se propõe a

testar a hipótese de que grãos com diferentes graus de suscetibilidade ao ataque de *S. zeamais* quando mantidos em ambiente com saturação por ozônio apresentarão graus de repelência distintos ao inseto.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Material vegetal**

Foram avaliados três genótipos distintos de milho, com reconhecida diferença na suscetibilidade ao ataque de *S. zeamais* constatada em ensaios anteriores não representados no presente trabalho. Os genótipos selecionados foram o milho comum (BR106), Superdoce (BRS 400), ambos comercializados pela Embrapa e o milho Pipoca (BAS 5802) comercializado pela Syngenta e adquirido da empresa Basso Semillas. Os resultados representados no trabalho de dissertação de Meireles (2019), em testes com chance de escolha, mostraram que o milho Superdoce comportou-se como o mais suscetível, o Pipoca como o mais resistente e o BR 106 apresentou resistência intermediária entre ambos. A condução do experimento foi realizada no Laboratório de Proteção de Plantas (LPP) em cooperação com o Laboratório de Pré-Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas, os dois vinculados à Universidade de Brasília- UnB.

### **4.2 Insetos**

Os insetos foram obtidos de criação conduzida e estocada no LPP- UnB. Adultos de *S. zeamais* foram mantidos em recipientes transparentes de plástico de 5 L de capacidade, contendo uma abertura na tampa recoberta com organza, que possibilitava as trocas gasosas. A colônia foi mantida em condições ambientais, sendo criada sobre o milho Doce Cristal da Embrapa para alimentação e oviposição. A sexagem seguiu a descrição de Hasltead (1963) segundo a qual as fêmeas possuem rostro mais longo e estreito que os machos e a região final do abdômen é mais retilínea. Os insetos utilizados nos ensaios foram deixados 24 horas sem contato com grãos e foram usados apenas fêmeas adultas de 1 a 21 dias de idade, previamente acasaladas, sendo testados 35 insetos por genótipo avaliado.

#### 4.3 Utilização de olfatômetro para quantificar as respostas comportamentais

Foram testadas amostras de 5 g de grãos de cada genótipo (BR106, BRS 400 e BAS 502). As amostras foram inicialmente acondicionadas de maneira individualizada em sacos de organza de 15,5 x 24,5 cm (largura x comprimento) sendo utilizados quatro sacos com o mesmo genótipo por bioensaio realizado. Três dos quatro sacos foram submetidos à ozonização, sendo utilizado uma câmara de ozonização (dosagem de 5 L/min e fluxo de 4 L/min) por 30 minutos, enquanto o quarto saco (testemunha) foi exposto ao oxigênio, utilizando uma bomba de aquário com fluxo de 0,8 L/min pelo mesmo período de exposição ao ozônio (30 minutos). As amostras foram substituídas em cada teste e os grãos novos tratados novamente.

A ozonização foi realizada mediante exposição dos grãos a uma câmara de ozonização composta por recipientes de vidro de 850 mL de capacidade com tampa adaptada para passagem de ozônio gerado pelo método da barreira dielétrica, empregando um gerador de ozônio, modelo O&L 3.0-O2-RM produzido pela empresa Ozone & Life. Em cada rodada de 30 minutos de ozonização a câmara continha 15g de grãos (três amostras de 5 g de grãos). Decorrido o tempo de tratamento, os grãos foram acomodados no interior de seringas de vidro de 10 mL de capacidade conectadas por mangueiras de silicone (8 mm de diâmetro total e 4 mm de diâmetro do furo central) a um olfatômetro de quatro vias. O olfatômetro é composto por uma placa de acrílico (16,5 cm x 16,5 cm) e possui um desnível no formato de "X" (corpo com 16,5 cm e 4,1 cm para cada braço) e possibilita quatro posições de escolhas. Uma corrente de ar regulada por fluxômetro a 0,8 L/min, sendo igualmente distribuída entre os quatro braços em 0,2 L/min foi conduzida para o interior do olfatômetro e, antes desta etapa, o ar foi filtrado e umidificado passando através de carvão ativado e água destilada. Ao ligar o sistema, no interior do olfatômetro o ar é escoado com a utilização de uma bomba de sucção conectada a uma cavidade no centro da placa de acrílico, regulando o fluxo da corrente para 0,4 L/min, que permite a distribuição de ar equilibrada para o sistema (0,2 L/min em cada via do olfatômetro). Esse modelo de olfatômetro permite medir o efeito de repelência de um composto químico para uma espécie de inseto. Os braços ou possibilidades de escolha do olfatômetro continham três amostras de um mesmo genótipo ozonizadas (Ozônio 1, 2 e 3) e uma amostra do mesmo genótipo não ozonizada (branco).

Após a montagem de todo o aparato a primeira fêmea de *S. zeamais* foi introduzida através do orifício central superior do olfatômetro e o tempo começou a ser contabilizado, foram utilizadas apenas uma fêmea por vez nos bioensaios. Os insetos foram mantidos no

olfatômetro por 10 minutos (tempo de teste definido em testes preliminares) e, caso não houvesse reação da fêmea após 1 minuto, a mesma era considerada não responsiva e, portanto, descartada do teste. A higienização do aparato foi realizada a cada 5 fêmeas testadas, utilizando detergente neutro na lavagem de todo o aparato. Em seguida, todo material foi colocado em estufa a 40° C para secagem. A escolha do inseto foi determinada quando percorrida uma distância de 15 cm em um braço (possuindo uma marcação para separação dos 4 braços no formato de um quadrado com as paredes desenhadas a 1 cm do centro da placa de acrílico), sendo considerada a primeira escolha quando o inseto permanecia 20 segundos em um mesmo braço. Entre cada ensaio os braços do olfatômetro foram rotacionados. Avaliou-se o tempo médio, em segundos, para primeira escolha e de residência, ou seja, além do número de vezes que cada fêmea adentrou cada braço.

#### 4.4 Cinética de decomposição do ozônio e determinação do tempo de meia vida

Foram padronizados para todos os tipos de milho testados (milho comum, Superdoce e Pipoca) um tempo de 60 min para saturação do meio com ozônio (100 ppm). Utilizou-se 1 Kg de cada material vegetal, dispostos em recipientes de vidro de 3,5 L de capacidade, a temperatura de 25°C. Após a saturação, a injeção de gás foi interrompida por 3, 6, 9 e 12 minutos em que se verificou a quantidade residual do gás impregnada nos milhos comum e Pipoca, e interrompeu-se a injeção de gás por 1, 2, 3, 4 e 5 minutos para avaliar o gás residual no milho Superdoce, com adoção de 5 min entre os repousos para saturar o meio novamente. Para avaliação da cinética de decomposição, foi feita a quantificação residual de O<sub>3</sub> nos grãos por meio do método iodométrico (titulação indireta), descrito por Eaton et al. (2005). Esse método baseia-se no borbulhamento do O<sub>3</sub> residual do meio poroso em uma solução de iodeto de potássio (KI). Dessa reação, ocorre a liberação de iodo (I<sub>2</sub>), através da oxidação do KI pelo O<sub>3</sub>. Foi determinado o tempo de 1 min para absorção do ozônio residual em 50 mL de solução de KI 1 mol/L. Em seguida, adicionou-se 2,5 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 1 mol/L, na solução de KI para diminuir o pH abaixo de 2,0. Essa acidificação do meio é responsável por propiciar o deslocamento da reação para produzir I<sub>2</sub>. Após esse procedimento, a titulação foi feita com tiosulfato de sódio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 0,01 mol/L até que fosse observada uma redução na coloração amarelada do iodo. Posteriormente, foi acrescentado uma solução indicadora de amido, na proporção de 1 mL para o volume final da solução. O fim da titulação foi indicado

pelo desaparecimento da coloração azul, sendo utilizado nos cálculos a quantidade de titulante necessário para que ocorra essa reação.

Os dados da cinética de decomposição do ozônio foram empregados no modelo cinético de primeira ordem, Equação 1, (WRIGHT, 2004) ajustado para as concentrações residuais do ozônio encontradas em função dos diferentes intervalos de tempo. O ajuste do modelo cinético de decomposição foi realizado por meio de análise de regressão, logo após sua linearização, Equação 2. Com o ajuste dos modelos integrados e linearizados, foi possível obter a inclinação da reta, que foi necessária para adquirir o valor da constante da taxa de decomposição ( $k$ ).

$$\frac{dC}{dt} = -kC \quad (1)$$

$$\ln C = \ln C_0 - kt \quad (2)$$

**Em que:**

$C$  - concentração do gás ozônio, mg/L;

$t$  - tempo, em minutos;

$k$  - constante da taxa de decomposição, em minutos ;

$C_0$  - concentração de saturação do gás ozônio, mg/L

Para determinar o tempo de meia vida ( $t_{1/2}$ ) dos grãos, utilizou-se os valores da constante da taxa de decomposição para o modelo de primeira ordem, Equação 3 (WRIGHT, 2004).

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (3)$$

#### 4.5 Análise dos dados

As variáveis de respostas do inseto e relativas ao tempo para primeira escolha, tempo médio de residência, total de entradas e tempo total de residência em cada fonte de estímulo (braço do olfatômetro - Branco, Ozônio 1, Ozônio 2 e Ozônio 3) foram comparadas para cada genótipo em isolado considerando que os bioensaios foram independentes. Assim, a hipótese

de igualdade de resposta (25:25:25:25) foi utilizada para testar possíveis diferenças na resposta entre tratamentos empregando o PROC FREQ do SAS (SAS Institute, 2002), e a significância interpretada através do teste de qui-quadrado, ao nível de 5% de probabilidade. Em caso de significância entre tratamentos, os resultados foram novamente submetidos ao teste de qui-quadrado por pares de comparações para a separação das médias.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos para as variáveis total de entradas e tempo para a primeira escolha, em nenhum dos genótipos testados (Tabela 1). O oposto ocorreu em relação ao tempo de residência, havendo diferenças entre os tratamentos em todos os genótipos testados (Tabela 1).

O tempo de residência foi máximo no genótipo Superdoce não ozonizado sendo 2,4-2,6x maior do que nos demais tratamentos em que os grãos foram ozonizados (ozônio 1, 2 e 3), que não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 1). O mesmo ocorreu no milho BR 106 com o tempo de residência no branco sendo 6,2-10,8x maior do que nos grãos ozonizados, que não diferiram entre si (Tabela 1). Todavia o tempo de residência no milho Pipoca foi máximo nos grãos não ozonizados (branco) e mínimo nos grãos ozonizados que, entretanto, diferiram entre si, apesar do ozônio 1 não diferir do ozônio 3 e o ozônio 2 não ter diferido do ozônio 3. Desta forma, o tempo de residência nos grãos não ozonizados do milho Pipoca foi 2,6-4,4x maior do que o mesmo tempo gasto nos grãos ozonizados (Tabela 1).

A queda na concentração residual de ozônio em função do tempo no milho comum (BR 106) e Pipoca é menos abrupta do que no milho Superdoce permitindo inferir que esses genótipos se comportam de maneira semelhante em relação à cinética de decomposição do ozônio (Figura 1).

Na Tabela 2 verifica-se que os valores de meia vida do  $O_3$  são praticamente iguais para o milho comum – BR 106 (6,38 min) e o Pipoca (6,80 min). O tempo de meia vida do ozônio no milho Superdoce foi de 2,08 min.

A partir dos testes comportamentais em olfatômetro foi possível constatar que, a despeito do resultado estatístico ter sido semelhante entre os três genótipos em relação ao tempo total de permanência e o tempo de residência, que a magnitude desses efeitos foi

diferente, com a repelência sendo mais expressiva nos genótipos mais resistentes (BR 106 e Pipoca) em comparação ao genótipo mais suscetível (Superdoce). Um princípio geral aceito sobre as relações que governam a interação inseto-planta é o de que genótipos suscetíveis geralmente demandam menos estímulos dos órgãos sensoriais do inseto para determinarem a aceitação do hospedeiro (ABRAHAMSON & WEIS, 1997).

Estudos que avaliaram o efeito de óleos essenciais de *Citrus sinensis* sobre espécies tais como *R. dominica* e, *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (Coleoptera: Anobiidae) evidenciaram que existe incremento do efeito de repelência com o aumento do tempo de exposição (MAHDI & BEHNAM, 2018). Entretanto, no caso do gás ozônio, que é rapidamente degradado sob condições naturais, a meia vida do gás no material exposto ao mesmo é relevante no sentido de fornecer indícios a respeito da manutenção do efeito de repelência com o decorrer do tempo.

Nesse sentido, o genótipo Superdoce foi o que apresentou a menor meia vida para o ozônio, o que implicaria em maiores demandas do gás para manter a repelência ao gorgulho nesse genótipo ou redução no efeito de repelência causado sob maiores intervalos de tempo considerados. Conforme destacado anteriormente, o modo de ação atribuído aos compostos com ação repelente pode ser decorrente do impedimento da atividade sensorial de percepção dos odores atrativos pelos insetos (LEE, 2018). Entretanto, genótipos suscetíveis, como é o caso do milho Superdoce, podem demandar menor magnitude de estímulos atrativos para serem aceitos como hospedeiro pelo inseto e, além disso, por apresentarem menor meia vida do gás causador do efeito repelente, poderão ter esse efeito de repelência menos evidente, conforme observado no presente trabalho. Desta forma, o menor tempo de meia vida associado às características genéticas do milho Superdoce justificam os resultados encontrados no presente trabalho de menor magnitude do efeito de repelência do ozônio associado a este genótipo, sendo o oposto observado em relação aos demais genótipos testados (BR 106 e Pipoca).

Vale salientar que interações distintas são descritas na literatura em relação a diferentes espécies, isto é, compostos que possuem ação de repelência sobre algumas espécies podem se comportar como atrativos a outras espécies, principalmente àquelas pertencentes a outras ordens (HAN, 2017). Desta forma, as extrapolações nesse aspecto devem ser cuidadosas e ensaios futuros devem focar a realização de testes semelhantes, que visem constatar o efeito repelente do gás ozônio em grãos tratados com o mesmo, todavia, utilizando outras espécies, especialmente àquelas pertencentes a outras ordens, tais como Lepidoptera.

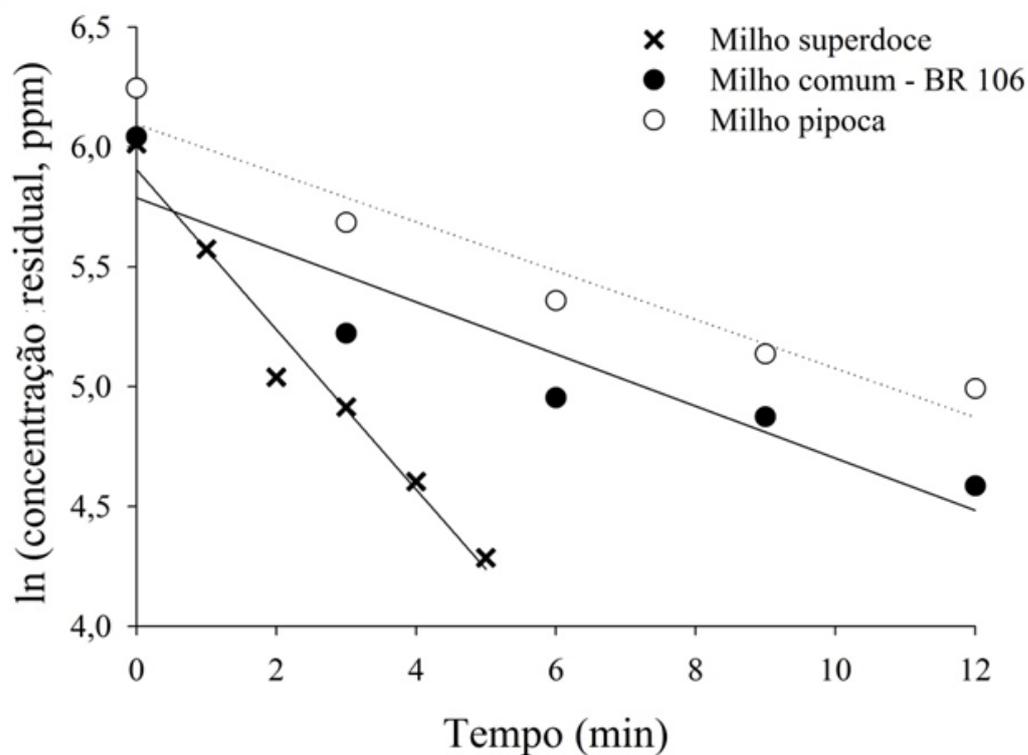
Adicionalmente, já existem relatos de que o ozônio é capaz de alterar a velocidade de caminamento de *S. zeamais* (TURCHEN et al., 2018), um comportamento não avaliado no presente estudo e que também pode auxiliar na mensuração do efeito de repelência associado ao gás. Assim, estudos futuros devem incluir, essa como uma das variáveis a serem mensuradas.

Por fim, tendo em vista o manejo de *S. zeamais* em grãos de milho armazenados, genótipos que possuam reconhecida suscetibilidade ao ataque de *S. zeamais* e menor tempo de meia vida do ozônio nos grãos tratados demandarão esforço adicional para o convívio com a praga ou o emprego de táticas adicionais do manejo integrado de pragas para convívio com as mesmas ou o retratamento com o gás em menores intervalos de tempo, devendo ser evitados sempre que possível. Analogamente, sempre que possível, genótipos que possuam reconhecida resistência hospedeira e maior tempo de meia vida do gás nos grãos após o tratamento, devem ser preferidos para comporem um programa de manejo de *S. zeamais* infestando os grãos de milho armazenado.

**Tabela 1.** Médias (I.C. a 95% de probabilidade) do total de entradas, tempo total (soma dos tempos parciais de entrada em cada braço), tempo de latência para primeira escolha e tempo médio de residência (tempo total gasto em um dado braço dividido pelo número de vezes que os insetos adentraram o braço) de fêmeas de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) expostas a diferentes tratamentos (possibilidades de escolha) em diferentes genótipos de milho dispostos em um olfatômetro em X (quatro escolhas).

Genótipos	Tratamentos				Estatística $\chi^2$ (Valor de P), GL = 3	
	Branco	Ozônio 1	Ozônio 2	Ozônio 3		
Superdoce	Número de entradas				0,0238 <sup>0,9990</sup>	
	1,08 (0,8-1,4)	0,97 (0,6-1,3)	0,83 (0,5-1,1)	0,89 (0,5-1,3)		
	Tempo para a 1ª escolha (seg)					
Superdoce	13,18 (8,4-17,9)	10,20 (5,7-14,7)	9,0 (3,5-14,5)	9,75 (5,5-14,0)	0,451 <sup>0,9295</sup>	
	Tempo de residência (seg)					
	323,0 a (161,6-484,3)	121,90 b (47,4-196,4)	135,67 b (20,9-250,4)	133,12 b (2,4-263,8)		64,73 <sup>&lt;0,0001</sup>
BR 106	Total de entradas (número)				0,401 <sup>0,9400</sup>	
	1,94 (1,6-2,3)	0,83 (0,4-1,2)	0,71 (0,3-1,1)	0,77 (0,3-1,2)		
	Tempo para a 1ª escolha (seg)					
BR 106	9,84 (6,1-13,5)	12,50 (2,8-22,2)	7,0 (-0,90-14,9)	17,50 (5,6-29,4)	2,521 <sup>0,4714</sup>	
	Tempo de residência (seg)					
	393,0 a (291,0-494,9)	63,25 b (40,1-86,4)	40,25 b (7,9-72,6)	36,50 b (-3,0-76,0)		258,14 <sup>&lt;0,0001</sup>
Pipoca	Total de entradas (número)				0,636 <sup>0,8881</sup>	
	2,08 (1,6-2,6)	0,71 (0,4-1,1)	0,71 (0,4-0,9)	0,51 (0,2-0,8)		
	Tempo para a 1ª escolha (seg)					
Pipoca	11,43 (7,2-15,7)	17,62 (5,2-30,0)	11,67 (-5,2-28,6)	7,33 (-2,7-17,4)	2,214 <sup>0,5291</sup>	
	Tempo de residência (seg)					
	256,52 a (158,7-354,4)	100,12 b (22,4-177,8)	57,67 c (-119,8-235,1)	86,00 bc (-109,0-281,0)		76,644 <sup>&lt;0,0001</sup>

\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de  $\chi^2$  a  $P < 0,05$ . N = 35. \*\*Branco – grãos não ozonizados; Ozônio 1, 2 e 3 – grãos ozonizados antes da realização dos testes.



**Figura 1.** Modelo cinético de primeira ordem ajustado aos dados observados de concentração residual de ozônio para milho Superdoce, milho comum (BR 106) e milho pipoca, na temperatura de 25°C.

**Tabela 2.** Equações de regressão ajustadas em função do tempo (x) para a concentração residual do gás ozônio para milho superdoce, milho comum e milho pipoca, na temperatura de 25°C, seus respectivos coeficientes de determinação ( $r^2$ ) e meia-vida (min).

Produto	Equações ajustadas	$r^2$	Meia-vida (min)
Milho superdoce	$\hat{y}=5,9055-0,3334x$	0,97	2,08
Milho comum – BR106	$\hat{y}=5,7877-0,1087x$	0,86	6,38
Milho pipoca	$\hat{y}=6,0947-0,1019x$	0,93	6,80

## 6. CONCLUSÕES / CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todos os genótipos de milho impregnados com o gás ozônio apresentaram repelência ao gorgulho, *S. zeamais*, evidenciado através do maior tempo de residência nos grãos não tratados com ozônio em relação aos grãos tratados. Nos grãos do genótipo Superdoce, o menor tempo de meia vida do gás ozônio contribuiu para a menor magnitude do efeito de repelência observado.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- ABRAHAMSON, W.G.; WEIS, A.E. Evolutionary ecology across three trophic levels: goldenrods, gallmarkers and natural enemies. In: ABRAHAMSON, W.G.; WEIS, A.E. (Eds.). **Host plant resistance to gallmaker attack: the plant-gallmaker encounter – the plant’s perspective**. New Jersey: Princeton University Press, 1997. p.100-134.
- ARNASON J.T. et al. Role of phenolics in resistance of maize grain to the stored grain insects, *Prostephanus truncatus* (Horn) and *Sitophilus zeamais* (Motsch.). **Journal of Stored Products Research**, v28, p. 119–126, 1992.
- ARNAUD, L.; HAUBRUGE, E. Insecticide resistance enhances male reproductive success in a beetle. **Evolution**, v.56, p.2435-2444, 2002.
- ANTUNES, L.E.G.; DIONELLO, R.G. Bioecologia de *Sitophilus zeamais* Motschulsky 1885 (Coleoptera: Curculionidae). 2010. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2010\\_2/Sitophilus/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2010_2/Sitophilus/index.htm)>. Acesso em: 28 de maio de 2019.
- ANTUNES, L.E.G. et al. 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.
- BENGSTON, M. et al. Inheritance of phosphine resistance in *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Economic Entomology**, v.92, p.17-20, 1999.
- BENHALIMA, H. et al. Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities in Morocco. **Journal of Stored Products Research**, v.40, p.241-249, 2004.
- BENNETT, J.W; KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**, v.16, p. 497–516, 2003.

- BERGVINSON, D.; LARA G.S. Genetic approaches to reducing losses of stored grain to insects and diseases. **Current Opinion in Plant Biology**, v.7, p.480- 485, 2004.
- BONJOUR, E.L. et al. Efficacy of ozone fumigation against the major grain pests in stored wheat. **Journal of Economic Entomology**, v. 104, p. 308-316, 2011.
- BOOTH, R.G.; COX, M.L.; MADGE, R.B. **III guides to insects of importance to man 3. Coleoptera**. London: C.A.B. International, 1990. 384p.
- BOUTARD, A. **Beautiful corn: america's original grain from seed to plate**. Gabriola Island, B.C.: New Society Publishers, 2012. 209p.
- BRASIL. Companhia nacional de abastecimento (CONAB). **Séries históricas**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras?start=20>>. Acesso em: 6 de maio de 2019a.
- BRASIL. Companhia nacional de abastecimento (CONAB). **Histórico Mensal**. Análise mensal, milho. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-milho>>. Acesso em: 3 de julho de 2019b.
- 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: 5 de julho de 2019c.
- CABI. **Crop protection compendium global module**. 2nd ed. Wallingford: CAB International, 2005.
- CAO, Y. et al. Role of modified atmosphere in pest control and mechanism of its effect on insects. **Frontiers in Physiology**, v.10, p.206, 2019.
- CANEPELLE, M.A.B. et al. Correlation between the infestation level of *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera, Curculionidae) and the quality factors of stored corn, *Zea mays* L. (Poaceae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.47, p.625-630, 2003.
- CERUTTI, F.C.; LAZZARI, S.M.N. Combination of diatomaceous earth and powder deltamethrin for insect control in stored corn. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.49, p.580-583, 2005
- CHAUDHRY, M.Q. Phosphine resistance. **Pesticide Outlook**, v.11, p.88-91, 2000.
- COLLINS, P.J. et al. Genetics of resistance to phosphine in *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). **Journal of Economic Entomology**, v.95, p. 862-869, 2002.
- COTTON, R.T; WILBUR, D.A. Insects. In: CHRISTENSEN, C. M. (Ed.). **Storage of cereal grains and their products**. ST. Paul, Minnesota: A.O.C.S., 1982.cap.9, p. 281-318.

- COUSTAU, C. et al. 2000. Resistance to xenobiotics and parasites: can we count the cost? **Trends in Ecology & Evolution**.v.15, 378-383, 2000.
- DAVIS, E.E. Insect repellents: concepts of their mode of action relative to potential sensory mechanisms in mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v.22, p.237-243, 1985.
- DE CARLI, M. et al. Efficacy of modified atmosphere packaging to control *Sitophilus* spp. in organic maize grain. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.53, p.1469-1476, 2010.
- DETHIER, V.G.; BROWNE, L..B.; SMITH, C.N. The designation of chemicals in terms of the responses they elicit from insects. **Journal of Economic Entomology**, v.53, p.134-136, 1960.
- DOBIE, P. et al. **Insects and arachnids of tropical stored products, their biology and identification: a training manual**. Berks:Tropical Development and Research Institute, Storage Department, 1984. 273p.
- EATON, A. D. et al. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21st ed. Washington, DC : American Public Health Association, 2005.
- EVANS, D. E. The biology of stored products Coleoptera. In: **Proc. Aust. Dev. Asst.** Course on Preservation of Stored Cereals, 1981. p.149-85.
- EVANS, D.E. The influence of temperature and grain moisture content on the intrinsic rate of increase of *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v.18, p.55-66, 1982.
- FARONI, L.R.D.A. Manejo das pragas dos grãos armazenados e sua influência na qualidade do produto final. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.17, p.36-43, 1992.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). **FaoStat**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 4 de julho de 2019.
- FOSTER, S.P. et al. The ups and downs of insecticide resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae*) in the U.K. **Crop Protection**, v.19, p.873-879, 2000.
- FOUAD, H.A.; CAMARA, C.A.G. Chemical composition and bioactivity of peel oils from *Citrus aurantiifolia* and *Citrus reticulata* and enantiomers of their major constituent against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v.73, p.30-36, 2017.

- FREITAS, R.C.P. et al. Allyl isothiocyanate actions on populations of *Sitophilus zeamais* resistant to phosphine: toxicity, emergence inhibition and repellency. **Journal of Stored Products Research**, v.69, p.257-264, 2016.
- GARCÍA-LARA, S. et al. The role of pericarp cell wall components in maize weevil resistance. **Crop Science**, v.44, p.1546-1552, 2004.
- GOULD, F. Role of behavior in the evolution of insect adaptation to insecticides and resistant host plants. **Bulletin of the Entomological Society of America**, v.30, p.34–41, 1984.
- GUEDES, R.N.C. Manejo integrado para a proteção de grãos armazenados contra insetos. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.15, p.3–48, 1991.
- GUEDES, R.N.C. et al. Resistance to DDT and pyrethroids in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v.31, p.145–150, 1995.
- GUEDES, R.N.C. et al. Cost and mitigation of insecticide resistance in the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Physiological Entomology**, v.31, p.30–38, 2006.
- GURU-PIRASANNA-PANDI, G. et al. Toxicological effect of underutilized plant, *Cleistanthus collinus* leaf extracts against two major stored grain pests, the rice weevil, *Sitophilus oryzae* and red flour beetle, *Tribolium castaneum*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.154, p.92–99, 2018.
- HALSTEAD, D.G.H. External sex differences in stored products Coleoptera. **Bulletin of Entomological Research**, v.54, p.119-134, 1963.
- HAN, G.D. et al. Repellency and attractancy of plant extracts against *Plodia interpunctella* and *Sitophilus zeamais*. **Journal of Stored Products Research**, v.74, p.33-35, 2017.
- HANSEN, L.S. et al. Lethal doses of ozone for control of all stages of internal and external feeders in stored products. **Pest Management Science**, v.68, p.1311–1316, 2012.
- HANSEN, R. et al. Sweet corn profile A national information resource for value-added agriculture. 2013. Disponível em: <[http://www.agmrc.org/commodities\\_\\_products/grains\\_\\_oilseeds/corn\\_grain/sweet-corn-profile](http://www.agmrc.org/commodities__products/grains__oilseeds/corn_grain/sweet-corn-profile)>. Acesso em: 7 de julho de 2019.
- HOY, C.W. et al. Spatial heterogeneity and insect adaptation to toxins. **Annual Review of Entomology**, v.43, p.571–594, 1998.
- ISIKBER, A.A.; OZTEKIN, S. Comparison of susceptibility of two stored-product insects, *Ephestia kuehniella* Zeller and *Tribolium confusum* Du Val to gaseous ozone. **Journal of Stored Products Research**. v.45, p.159-164, 2009.

- ISIKBER, A.A.; ATHANASSIOU, C.G. The use of ozone gas for the control of insects and micro organisms in stored products. **Journal of Stored Products Research**, v.64, p.139–145, 2015.
- JONES, M. et al. An Initial Investigation of the Potential for Hermetic Purdue Improved Crop Storage (Pics) Bags to Improve Incomes for Maize Producers in Sub-Saharan Africa. Department of Agricultural Economics, Purdue University Working, p.11-13, 2011.
- KANAUJIA, K.R.; LEVINSON, H.Z. Phagostimulatory responses and oviposition behaviour of *Sitophilus granarius* L. to newly harvested and stored wheat grains. **Zeitschrift für Angewandte Entomologie**, v.91, p.417-424, 1981.
- KARABABA, E. Physical properties of popcorn kernels. **Journal of Food Engineering**, v.72, p.100-107, 2006.
- KAY, I.R.; COLLINS, P.J. The problem of resistance to insecticides in tropical insect pests. **Insect Science and its Applications**, v.8, p.715–721, 1987.
- KELLS, S. A. et al. Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. **Journal of Stored Products Research**, v.37, p.371-382, 2001.
- KHADRE, M.A. et al. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. **Journal of Food Science** v.66, p.1242-1252, 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.
- LEE, M.Y. Essential oils as repellents against arthropods. **BioMed Research International** v.2018, Article ID 6860271, 2018.
- LEWIS L. et al. Aflatoxin contamination of commercial maize products during an outbreak of acute aflatoxicosis in eastern and central Kenya. **Environmental Health Perspectives** v.113, p.1763–1767, 2005.
- LIKHAYO, P.W.; HODGES, R.J. Field monitoring *Sitophilus zeamais* and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) using refuge and flight traps baited with synthetic pheromone and cracked wheat. **Journal of Stored Products Research**, v.36, p.341–353, 2000.
- LIU, H.H. et al. Production of ozone and reactive oxygen species after welding. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v.53, p.513-518, 2007.
- LORINI, I.; SCHNEIDER, S. **Pragas de grãos armazenados: resultados de pesquisa**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 1994. 47p. (Embrapa Trigo. Documentos, 11).

- LORINI, I. et al. Detection and characterization of strong resistance to phosphine in Brazilian *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). **Pest Management Science**, v.63, p.358-364, 2007.
- LORINI, I. **Manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados**. 2. ed. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2008. 71 p. (Embrapa Trigo. Documentos, 73).
- LU, B. et al. Effect of ozone on respiration of adult *Sitophilus oryzae* (L.), *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Rhyzopertha dominica* (F.). **Journal of Insect Physiology**, v.55, p.885-889, 2009.
- LUZ, C.E.A. et al. Resistance of important bean genotypes to the Mexican bean beetle [*Zabrotes subfasciatus* (Bohemann)] during storage and its control with chemical synthetic and botanical insecticides. **Australian Journal of Crop Science**, v.11, p.1168-1175, 2017.
- MAHDI, K.R.; BEHNAM, A.B. Fumigant toxicity and repellency effect of orange leaves *Citrus sinensis* (L.) essential oil on *Rhyzopertha dominica* and *Lasioderma serricornis*. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v.21, p.577-582, 2018.
- MALGORZATA, K.; MALEJKY, N.; NOWAK-CHMURA, M. The repellent effect of plants and their active substances against the beetle storage pests. **Journal of Stored Products Research**, v.74, p.66-77, 2017.
- McCLURKIN, J.D. et al. Half-life time of ozone as a function of air movement and conditions in a sealed container. **Journal of Stored Products Research**, v.55, p.41-47, 2013.
- McKENZIE, J.A.; BATTERHAM, P. Predicting insecticide resistance: mutagenesis, selection and response. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v.353, p.1729-1734, 1998.
- MEIRELES, I.L. de O. **Resistência de milho e ozonização no manejo do caruncho *Sitophilus zeamais***. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2019, 60 p. Dissertação.
- MLYNEKOVA, Z.; CERESNAKOVA, Z. Degradation of starch and crude protein in dent and dent x flint maize hybrids in different stages of maturity. **Slovak Journal of Animal Science**, v.46, p.61-67, 2013.
- NI, X. et al. Spatial patterns of aflatoxin levels in relation to ear-feeding insect damage in pre-harvest corn. **Toxins**, v.3, p.920-931, 2011.

- NWOSU, L.C. Chemical bases for maize grain resistance to infestation and damage by the maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky. **Journal of Stored Products**, v.69, p.41-50, 2016.
- PACHECO, I.A.; SARTORI, M.R.; TAYLOR, R.W.D. Levantamento de resistência de insetos-praga de grãos armazenados à fosfina, no estado de São Paulo. **Coletânea do ITAL**, Campinas, v. 20, p. 144-154, 1990.
- PAES, M.C.D. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. Minas Gerais: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 6p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 75.).
- PALIWAL, R.L. et al. Tropical maize: improvement and production. **Fao Plant Production Protection Ser** (FAO), v.28, 374p., 2000.
- PANDISELVAM, R. et al. Numerical simulation of ozone concentration profile and flow characteristics in paddy bulks. **Pest Management Science**, v.73, p.1698–1702, 2017.
- PATERNIANI, E.; CAMPOS, M.S. Melhoramento do milho. In: BORÉM, A. (Eds.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. p. 491-552.
- PIMENTEL D. World resources and food losses to pests. In: GORHAM, J.R. (Ed.). **Ecology and management of food industry pests**. FDA technical bulletin number 4. Arlington: Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 1991. p. 5-11.
- PIMENTEL, M.A.G. et al. Phosphine resistente, respiration rate and fitness consequences in stored-product insects. **Pest Management Science**, v.63, p.876-881, 2007.
- PIMENTEL, M.A.G. et al. Resistance of stored-product insects to phosphine. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1671-1676, 2008.
- PIMENTEL, M.A.G. et al. Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschusky (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**.v.45, p.71-74, 2009.
- PHILLIPS T.W. et al. Behavioral responses to food volatiles by ecologically different stored-product Coleoptera, *Sitophilus oryzae* (Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Tenebrionidae). **Journal of Chemical Ecology**, v.19, p.723–34, 1993.
- PHILLIPS, T.W; THRONE J.E. Biorational approaches to managing stored-product insects. **Annual Review of Entomology**, v.55, p.375–397, 2010.
- REES D. P. Coleoptera. In: SUBRAMANYAM Bh. and HAGSTRUM D.W. (Eds). **Integrated management of insects in stored products**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996. p. 1–39.

- RIETDORF, K.; STEIDLE, J.L.M. Was Hopkins right? Influence of larval and early adult experience on the olfactory response in the granary weevil *Sitophilus granarius* (Coleoptera, Curculionidae). **Physiological Entomology**, v.27, p. 223–227, 2002.
- ROZADO, A.F. et al. Aplicação de ozônio contra *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 12, p.282–285, 2008.
- SADEGH, R. et al. Application of ozone to control dried fig pests *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) and *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) and its organoleptic properties. **Journal of Economic Entomology**, v.110, p.2052-2055, 2017.
- SANTIAGO, R.; MALVAR, R.A. Role of dehydroferulates in maize resistance to pests and diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v.11, p.691-103, 2010.
- SANTOS, J.P. **Controle de pragas durante o armazenamento de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 20p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 84.).
- SANTOS, J.C. et al. Toxicidade de inseticidas piretróides e organofosforados para populações brasileiras de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera:Curculionidae). **Bioscience Journal**, v.25, p.75-81, 2009.
- SILVA, G.N. et al. Ozone to control *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) in stored wheat grains. **Journal of Stored Products and Postharvest Research**, v.7, p.37-44, 2016.
- SMALE, M. et al. **Maize revolutions in Sub-Saharan Africa**. Policy research working paper 5659. The World Bank. Development research group. Agriculture and rural development team. Disponível em: <[http://www-wds.worldbank.org/servlet/WDSContentServer/WDSP/IB/2011/05/11/000158349\\_20110511144001/Rendered/PDF/WPS5659.pdf](http://www-wds.worldbank.org/servlet/WDSContentServer/WDSP/IB/2011/05/11/000158349_20110511144001/Rendered/PDF/WPS5659.pdf)>. Acesso em: 4 de junho de 2019.
- SOUSA, A.H. et al. Ozone as a management alternative against phosphine-resistant insect pests of stored products. **Journal of Stored Products Research**, v.44, p.379–385, 2008.
- SOUSA A.H. et al. Ozone toxicity to *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) populations under selection pressure from ozone. **Journal of Stored Products Research**, v.65, p.1-5, 2016.
- SOUSA, A.H. et al. Locomotor behavior of *Sitophilus zeamais* populations under sublethal ozone exposure. **Journal of Pest Science**, v.90, p.239-247, 2017.

- SPÍNDOLA, A.F. et al. Survival and behavioural responses of the predatory ladybird beetle, *Eriopis connexa* populations susceptible and resistant to a pyrethroid insecticide. **Bulletin of Entomological Research**, v.103, p.485-94, 2013.
- SUBRAMANYAM, Bh.; HAGSTRUM, D.W. Resistance measurement and management. In: SUBRAMANYAM, Bh.; HAGSTRUM, D.W. (Eds.). **Integrated Management of Insects in Stored Products**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996. p.331–397.
- SULEIMAN, R. et al. Is flint corn naturally resistant to *Sitophilus zeamais* infestation? **Journal of Stored Products**, v.60, p.19-24, 2015.
- SULEIMAN, R.; ROSENTRATER, K.A.; BERN, C.J. Evaluation of maize weevils *Sitophilus zeamais* Motschulsky infestation on seven varieties of maize. **Journal of Stored Products**, v.64, p.97-102, 2015.
- TIWARI, B.K. et al. Application of ozone in grain processing. **Journal of Cereal Science**, v.51, p.248–255, 2010.
- TREMATERRA, P.; GIRGENTI, P. Influence of pheromone and food attractants on trapping of *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae): a new trap. **Journal of Applied Entomology**, v.108, p.12–120, 1989.
- TURCHEN, L.M. et al. Bidirectional selection of walking velocity, associated behavioral syndrome and reproductive output in the maize weevil *Sitophilus zeamais*. **Journal of Pest Science**, v.91, p.1063-1071, 2018.
- UD-DIN, R.; UR-RASHID, M.M.; MANSOOR, M. Repellent responses of maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera:Curculionidae) towards entomocidal plant products. **Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research**, Series B: Biological Sciences, v.61, p.165-171, 2018.
- WALGENBACH, C.A. et al. Male-produced aggregation pheromone of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*, and interspecific attraction between three *Sitophilus* species. **Journal of Chemical Ecology**, v.9, p.831–841, 1983.
- WALGENBACH, C.A. et al. Laboratory trapping studies with *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**, v.80, p.763–767, 1987.
- WARCHALEWSKI J.R. et al. The effect of wheat a-amylase inhibitors incorporated into wheat-based artificial diets on development of *Sitophilus granarius* L., *Tribolium confusum* Duv. and *Ephestia kuehniella* Zell. **Journal of Applied Entomology**, v.126, p.161- 168, 2002.

- WILLIAMS J.H. et al. Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.80, p.1106–1122, 2004.
- WILLIAMS, M.M. Agronomics and economics of plant population density on processing sweet corn. **Field Crops Research**, v.128, p.55-61, 2012.
- WRIGHT, M.R. **An introduction to chemical kinetics**. West Sussex: John Wiley & Sons, Inc., 2004. 462 p.
- YANG, W. et al. Discrimination of hard-to-pop popcorn kernels by machine vision and neural networks. **Biosystems Engineering**, v.91, p.1-8, 2005.
- YU, J. Genetics and biochemistry of mycotoxin synthesis. In: ARORA, D.K. (Eds.). **Fungal biotechnology in agricultural, food, and environmental applications**. New York: Marcel Dekker, Inc., 2004. p.343–361.
- ZUNJARE, R. et al. Evaluation of specialty corn inbreds for responses to stored grain weevil (*Sitophilus oryzae* L.) infestation. **Indian Journal of Genetics.**, v.74, p.564-567, 2014.