

DENILSON DA SILVA SANTOS

VIABILIZAÇÃO DA ATMOSFERA MODIFICADA PELO CO<sub>2</sub> NA MANUTENÇÃO DAS  
QUALIDADES DO MILHO (*Zea mays* L.) DURANTE O ARMAZENAMENTO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Dr. Jamilton Pereira dos Santos  
Pesquisador- EMBRAPA/CNPMS

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
1995

FICHA CATALOGRÁFICA PREPARADA PELA SEÇÃO DE CATALOGAÇÃO E  
CLASSIFICAÇÃO DA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFLA

Santos, Denilson da Silva

Viabilização da atmosfera modificada pelo CO<sub>2</sub> na manutenção da qualidade do milho  
(*Zea mays* L.) durante o armazenamento. Lavras : UFLA, 1995.  
72p. : il.

Orientador: Jamilton Pereira dos Santos.  
Dissertação (Mestrado) - UFLA.  
Bibliografia.

1. Milho - Dióxido de carbono. 2. Atmosfera modificada. 3. *Sitophilus zeamais*. 4.  
Armazenamento. 5. Qualidade. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

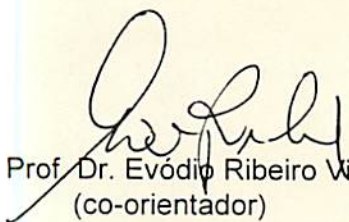
CDD-664.725

DENILSON DA SILVA SANTOS

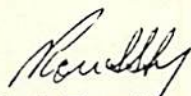
VIABILIZAÇÃO DA ATMOSFERA MODIFICADA PELO CO<sub>2</sub> NA MANUTENÇÃO DAS  
QUALIDADES DO MILHO (*Zea mays* L.) DURANTE O ARMAZENAMENTO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de "Mestre".

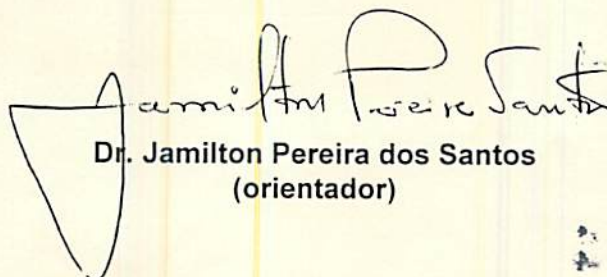
APROVADA em 13 de julho de 1995



Prof. Dr. Evódio Ribeiro Wilela  
(co-orientador)



Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu



Dr. Jamilton Pereira dos Santos  
(orientador)

## PODE ACREDITAR:

"Falará você na bondade a todo instante, mas, se não for bom, isso será inútil para a sua felicidade.

\*

Sua mão escreverá belas páginas, atendendo a inspiração superior; no entanto, se você não estampar a beleza delas em seu espírito, não passará de estafeta sem inteligência.

\*

Lerá maravilhosos livros, com emoção e lágrimas; todavia, se não aplicar o que você leu, será tão somente um péssimo registrador.

\*

Sua capacidade de orientar disciplinará muita gente, melhorando personalidades; contudo, se você não se disciplinar, a Lei o defrontará com o mesmo rigor com que ela se utiliza de você para aprimorar os outros.

\*

Você conhecerá perfeitamente as lições para o caminho e passará, ante os olhos mortais do mundo, à galeria dos heróis e dos santos; mas se não praticar os bons ensinamentos que conhece, perante as Leis Divinas recomeçará sempre o seu caminho cada vez mais dificilmente.

\*

Você chamará a Jesus: Mestre e Senhor...; se não quiser, porém, aprender e servir com ele, suas palavras soarão sem qualquer sentido."

Pelo espírito André Luiz

Aos meus pais  
Geraldo e Aracy

À minha irmã  
Lilian

Ao meu irmão  
Luiz Fernando (in memoriam)

À Wanderléia,

Dedico

## AGRADECIMENTOS

À **DEUS**, fonte de luz e vida;

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro;

À UFLA e ao Prof. Dr. Evódio Ribeiro Vilela, pela aceitação no Curso de Mestrado;

Ao Dr. Jamilton Pereira dos Santos, pela sugestão de realização do curso e orientação amigável e altamente profissional;

Ao Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu, pela composição da banca;

Aos funcionários e amigos do DCA-UFLA, pela ajuda inestimável;

Aos amigos Etel, Rogério Amaro, Marcus Vinícius, Pedro Henrique e Sérgio "Bigode";

À EMBRAPA e ao Dr. Lairson Couto - Chefe do CNPMS, pela possibilidade de condução do trabalho no Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo;

À WHITE MARTINS GASES INDUSTRIAIS, na pessoa do Sr. Wilton Fernando dos Santos, pelo apoio técnico e cessão dos gases utilizados;

Aos meus amigos do setor de oficina, pelas modificações nos tambores e a amizade;

Ao Chefe do Setor de Sementes do CNPMS, Dr. Ramiro Vilela de Andrade, pela cessão do espaço físico para implantação do experimento;

A todos os pesquisadores e funcionários do Setor de Sementes, em especial aos amigos Adilson Barcelos, Eros Geraldo, Laécio, Clemente e Valdomiro;

Ao laboratorista e amigo Frederico Avelar e à estagiária Regina Correia, pela imprescindível ajuda e amizade;

Ao técnico Agrícola Mauro Paulinelli e turma, pela ajuda sempre necessária;

Ao Dr. Antônio Carlos de Oliveira, pela orientação estatística;

Aos Drs. Maurício Antônio Lopes e Paulo Evaristo de O. Guimarães, pelos dados sobre o milho BR-451;

À nutricionista Maria Cristina Dias Paes, pela coordenação das análises químicas;

Aos funcionários da CPD, pela cessão dos computadores;

Aos grandes amigos que neste Centro de Pesquisa fiz: Vânia Reis, Thomaz e Paulo Henrique (mecanização), Marília, Flávia Matos, José Eduardo e Renata (Bromatologia), Maria Teresa, Conceição

e Vânia (Biblioteca), Julinho, Adelson e Eustáquio (Campos Experimentais); Toninho Horta, Gilberto, Ronaldo Braga e Flávio (Laboratórios); Doca, Léo, Ninica e Beló (Oficina) e Rômulo Marques (Serviços Auxiliares).

Um agradecimento a todos, que de forma direta ou indireta, ajudaram-me no trabalho ou fizeram minha estadia na bela cidade de Sete Lagoas ter sido a melhor possível.

Que **DEUS** abençoe a todos.

Julho de 1995

## ÍNDICE

	Página
LISTA DE GRÁFICOS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS E QUADRO.....	xii
RESUMO.....	xiii
SUMMARY.....	xiv
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>5</b>
2.1 O milho BR-451.....	5
2.2 Características das pragas de grãos armazenados.....	7
2.3 Controle químico e aumento da resistência dos insetos aos defensivos químicos.....	9
2.4 Atmosfera modificada para controle de pragas de grãos armazenados.....	13
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>19</b>
3.1 Matéria prima.....	19
3.2. Criação dos insetos.....	20
3.3 Câmaras de expurgo.....	22
3.4 Preparação das amostras e implantação nas câmaras.....	23
3.5 Fumigação com dióxido de carbono.....	24
3.6 Avaliação das amostras após exposição ao dióxido de carbono.....	25
3.7 Análises fisiológicas do milho.....	26
3.8 Análises químicas do milho.....	26
3.9 Delineamento experimental.....	27

<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>29</b>
4.1 Uso do dióxido de carbono na manutenção das qualidades do milho BR-451.....	29
4.1.1 - Proteína.....	29
4.1.2 - Triptofano.....	30
4.1.3 - Lisina.....	32
4.1.4 - Carboidratos.....	33
4.2 Utilização do dióxido de carbono visando alterações na germinação e vigor de sementes do milho BR-451.....	34
4.3 Utilização do dióxido de carbono no controle do <i>Sitophilus zeamais</i> .....	38
4.3.1 - FASE UM COM 0 a 6 DIAS DE IDADE (Ovo).....	38
4.3.2 - FASE DOIS COM 7 a 12 DIAS DE IDADE (LARVA 1° INSTAR).....	41
4.3.3 - FASE TRÊS COM 13 a 18 DIAS DE IDADE (LARVA 2° INSTAR).....	44
4.3.4 - FASE QUATRO COM 19 a 24 DIAS DE IDADE (LARVA 3° INSTAR).....	46
4.3.5 - FASE CINCO COM 25 a 30 DIAS DE IDADE (LARVA 4° INSTAR).....	49
4.3.6 - FASE SEIS COM 31 a 36 DIAS DE IDADE (PUPA).....	53
4.3.7 - FASE SETE COM MAIS DE 37 DIAS DE IDADE (ADULTOS).....	55
<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>59</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>61</b>



## LISTA DE GRÁFICOS

Página

- Gráfico 1: Número de *Sitophilus zeamais* com idade de 0 a 6 dias de idade (predominantemente ovos) sobreviventes à exposição a diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e ao controle (1,0 g p.a./m<sup>3</sup> - fosfina).....39
- Gráfico 2: Número de *Sitophilus zeamais* com idade de 7 a 12 dias de idade (predominantemente larva 1° instar) sobreviventes à exposição a diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e ao controle (1,0 g p.a./m<sup>3</sup> - fosfina).....42
- Gráfico 3: Número de *Sitophilus zeamais* com idade de 13 a 18 dias de idade (predominantemente larva 2° instar) sobreviventes à exposição a diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e ao controle (1,0 g p.a./m<sup>3</sup> - fosfina).....44
- Gráfico 4: Número de *Sitophilus zeamais* com idade de 19 a 24 dias de idade (predominantemente larva 3° instar) sobreviventes à exposição a diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e ao controle (1,0 g p.a./m<sup>3</sup> - fosfina).....47
- Gráfico 5: Número de *Sitophilus zeamais* com idade de 25 a 30 dias de idade (predominantemente larva 4° instar) sobreviventes à exposição a diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e ao controle (1,0 g p.a./m<sup>3</sup> - fosfina).....51

Gráfico 6: Número de *Sitophilus zeamais* com idade de 31 a 36 dias de idade (predominantemente pupas) sobreviventes à exposição a diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e ao controle (1,0 g p.a./m<sup>3</sup> - fosfina).....53

Gráfico 7: Número de *Sitophilus zeamais* com idade de mais de 37 dias de idade (insetos adultos) sobreviventes à exposição a diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e ao controle (1,0 g p.a./m<sup>3</sup> - fosfina).....56

## LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1: Teores de proteína (%) obtidos em análise de amostras de milho branco BR-451 tratadas com dióxido de carbono em cinco concentrações e em quatro períodos de exposição.....	30
Tabela 2: Teores de triptofano (g/100g proteína) obtidos em análise de amostras de milho branco BR-451 tratadas com dióxido de carbono em cinco concentrações e em quatro períodos de exposição.....	31
Tabela 3: Teores de lisina (g/100g de proteína) obtidos em análise de amostras de milho branco BR-451 tratadas com dióxido de carbono em cinco concentrações e em quatro períodos de exposição.....	32
Tabela 4: Teores de carboidratos (%) obtidos em análise de amostras de milho branco BR-451 tratadas com dióxido de carbono em cinco concentrações e em quatro períodos de exposição.....	34

Tabela 5: Separação de médias e nível de controle obtido (%) pelos teores de CO <sub>2</sub> e 1,0 g p.a. de fosfina/m <sup>3</sup> , em relação ao número de insetos sobreviventes na média das testemunhas na fase 1 (ovo).....	40
Tabela 6: Separação de médias e nível de controle obtido (%) pelos teores de CO <sub>2</sub> e 1,0 g p.a. de fosfina/m <sup>3</sup> , em relação ao número de insetos sobreviventes na média das testemunhas na fase 2 (larva 1° instar).....	43
Tabela 7: Separação de médias e nível de controle obtido (%) pelos teores de CO <sub>2</sub> e 1,0 g p.a. de fosfina/m <sup>3</sup> , em relação ao número de insetos sobreviventes na média das testemunhas na fase 3 (larva 2° instar).....	45
Tabela 8: Separação de médias e nível de controle obtido (%) pelos teores de CO <sub>2</sub> e 1,0 g p.a. de fosfina/m <sup>3</sup> , em relação ao número de insetos sobreviventes na média das testemunhas na fase 4 (larva 3° instar).....	48
Tabela 9: Separação de médias e nível de controle obtido (%) pelos teores de CO <sub>2</sub> e 1,0 g p.a. de fosfina/m <sup>3</sup> , em relação ao número de insetos sobreviventes na média das testemunhas na fase 5 (larva 4° instar).....	52

Tabela 10: Separação de médias e nível de controle obtido (%) pelos teores de $\text{CO}_2$ e 1,0 g p.a. de fosfina/ $\text{m}^3$ , em relação ao número de insetos sobreviventes na média das testemunhas na fase 6 (pupa).....	54
Tabela 11: Separação de médias e nível de controle obtido (%) pelos teores de $\text{CO}_2$ e 1,0 g p.a. de fosfina/ $\text{m}^3$ , em relação ao número de insetos sobreviventes na média das testemunhas na fase 7 (adultos).....	57

## LISTA DE FIGURAS E QUADRO

	Página
Figura 1: Ciclo evolutivo do <i>Sitophilus zeamais</i> Motschulsky, 1855.....	21
Figura 2: Esquema representativo de modelo de câmara utilizada no experimento.....	23
Quadro 1: Percentual de germinação e vigor das sementes de milho BR-451 tratadas com dióxido de carbono em diversas doses e diversos períodos de exposição.....	36

## RESUMO

SANTOS, D. da S. **Viabilização da atmosfera modificada pelo CO<sub>2</sub> na manutenção das qualidades do milho (*Zea mays* L.) durante o armazenamento.** Lavras: UFLA, 1995. 96p.(Dissertação - Mestrado em Ciência dos Alimentos)\*

No presente trabalho utilizou-se o dióxido de carbono nos teores de 20%, 30%, 40%, 50% e 60% nos períodos de exposição de 5, 10, 15 e 20 dias. Foram utilizadas 21 câmaras de 200 litros de capacidade e colocados 150 kg de milho branco BR-451, de alta qualidade protéica. Os tratamentos, em 3 repetições, constaram dos cinco teores de dióxido de carbono, um tratamento controle (1,0g p.c./m<sup>3</sup> de fosfina) e duas testemunhas, sendo uma de campo e uma de laboratório. Foram avaliadas amostras de insetos que correspondiam às fases de desenvolvimento do *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855, com as idades de 0-6 dias, ovo; 7-12 dias, larva 1º instar; 13-18 dias larva 2º instar; 19-24 dias larva 3º instar; 25-30 dias, larva 4º instar; 31-36 dias, pupa e mais os insetos adultos. Cada câmara recebeu um conjunto de sete amostras, um lote de sementes para análise fisiológica e um lote de grãos para análises químicas. Os resultados indicaram que o dióxido de carbono não foi eficiente, em nenhum dos teores estudados, no período de exposição de 5 dias. Entretanto, no período de exposição de 10 dias, foi eficiente nos teores de 50% e 60%. No período de exposição de 15 dias, os teores de 40%, 50% e 60% de CO<sub>2</sub> obtiveram 100% de controle. O mesmo resultado obteve o período de exposição de 20 dias. As análises de germinação e vigor indicaram que o dióxido de carbono não afetou a germinação e vigor das sementes, mantendo-se o teor de umidade ao redor de 12,5%, porém os resultados não foram conclusivos. Os resultados apresentados pelas análises químicas também indicam que o dióxido de carbono não afeta a composição química dos grãos tratados.

---

\*Orientador: Dr. Jamilton Pereira dos Santos. Membros da banca: Dr. Evódio Ribeiro Vilela (co-orientador) e Dr. Luiz Ronaldo de Abreu

## SUMMARY

### **Viabilization of the modified atmosphere for CO<sub>2</sub> in the maintenance of the qualities of maize (*Zea mays* L.) during storage**

In the present work, five levels of carbon dioxide (20%, 30%, 40%, 50% and 60%) were utilized during 5, 10, 15 and 20 days of exposition periods. Twenty one chambers with capacity of 200 liters and 150 kg were used containing the white maize BR-451, QPM variety. The treatments consisted of five levels of carbon dioxide, one control treatment (1,0 g p.c./m<sup>3</sup> of phosphine) and two check treatments, one for field and one for laboratory. Samples of different maturation stages of *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855, developmental with the periods 0-6 days, eggs; 7-12 days, 1<sup>st</sup> instar larva; 13-18 days, 2<sup>nd</sup> instar larva; 19-24 days, 3<sup>rd</sup> instar larva; 25-30 days, 4<sup>th</sup> instar larva; 31-36 days, pupa and adults insects. Each chamber received a group of seven-insect samples, one lot of seeds for physiological analysis and a sample of grains for chemical analysis. The results showed that the carbon dioxide did not control the insects efficiently during 5 days of exposition in all the levels of CO<sub>2</sub> utilized. However, for the exposition of 10 days it was observed a total control in all stages of *Sitophilus zeamais* using the tenors of 50% and 60%. In the 15 days exposition period, the concentrations of 40%, 50%, and 60% of CO<sub>2</sub> controlled 100% of all stages of *Sitophilus zeamais*. The same level of control was obtained with 20 days exposition period for 40%, 50%, and 60%. The analysis carried out for germination and vigour did not show conclusive results, but indicated that carbon dioxide may not affect the germination and vigour of seeds, with moisture content near 12,5%. The chemical analysis indicated that carbon dioxide did not affect the chemical composition of treated grains.



## 1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho, o mais tradicional cereal produzido no Brasil, tem passado por notáveis transformações. Apesar de não estarem havendo grandes incrementos de área plantada nos últimos anos, a adoção da tecnologia e utilização de espécies melhoradas geneticamente tem resultado em aumentos consideráveis na produção. A produção brasileira atinge, em 1995, mais de trinta e cinco milhões de toneladas. Um dado apresentado por Santos *et al.* (1994) indica que apesar do milho ser uma cultura apropriada ao uso de alta tecnologia, no Brasil o que predomina é a baixa tecnologia, refletida na baixa produtividade de 1,8 ton. / ha.

O milho sempre foi um importante alimento para a população brasileira, sendo consumido "in natura", na forma de canjica e vários outros produtos industrializados. De acordo com Paes (1994), um estudo de consumo alimentar realizado nas capitais brasileiras, em 1993, ressalta sua importância na alimentação. Em Belém a população chega a consumir duas vezes mais milho do que o arroz e em São Paulo e Porto Alegre, reconhecidamente dois grandes consumidores de trigo, o total de milho consumido chega a ser 50% do consumo de trigo. Entretanto, a proteína do milho é deficiente em dois aminoácidos essenciais, lisina e triptofano. Para solucionar esta deficiência desenvolveu-se os milhos chamados QPM (Quality Protein Maize), os quais possuem grande potencial de utilização tanto na alimentação humana quanto animal, pelos maiores teores de lisina e triptofano.

Energia é um importante requerimento nutricional e esta é uma das razões pela qual o milho é largamente empregado na alimentação animal como fonte energética. A utilização do grão na alimentação de aves e suínos é extremamente conhecido.

Segundo Hall (1971), existem muitos fatores que podem ocasionar a deterioração dos produtos após a colheita. A composição e as características do comportamento (forças internas) dos grãos são variáveis que se encontram sempre submetidas às forças externas, entre elas os fatores físicos, tais como temperatura e umidade; os fatores químicos, como a disponibilidade de oxigênio; os agentes biológicos, tais como bactérias, fungos, insetos, roedores e o homem, pelos seus métodos de beneficiamento, armazenamento, transporte e desinfestação dos produtos.

Santos (1993b) afirma que, junto com o esforço para o aumento da produção, necessariamente há que se incrementar as condições de armazenagem dos grãos. Uma característica positiva dos grãos é a possibilidade de serem armazenados por um longo período de tempo, sem perdas significativas da qualidade. Entretanto, o armazenamento prolongado só pode ser realizado quando se adotam corretamente as práticas de colheita, limpeza, secagem e combate a insetos e fungos. As principais pragas dos grãos armazenados são o caruncho do milho (*Sitophilus zeamais* e *Sitophilus oryzae*), a traça dos cereais (*Sitotroga cerealella*) e a broca pequena dos grãos (*Rhizopertha dominica*), sendo o *S. zeamais* a mais importante praga no Brasil, por ser a mais difundida e devido também a intensidade de seu ataque.

Para se realizar o combate de insetos-praga dos grãos armazenados, utiliza-se, no Brasil, os inseticidas protetores, que são misturados ao grão e atuam por contato e/ou ingestão, eliminando os insetos, mas que também podem incorporar resíduos tóxicos aos grãos além dos limites. O surgimento de resistência nos insetos tem provocado constantes aumentos nas doses de inseticidas, o que aumenta os resíduos nos grãos, bem como o risco de intoxicação de trabalhadores que manuseiam grãos e sementes.

A fumigação é a arte de se aplicar gases, fumaça ou vapores, confinados em um ambiente hermético, com o propósito principal de desinfestação. O uso seguro e eficiente dos fumigantes depende, em parte, do conhecimento de suas principais propriedades físicas, químicas e biológicas. O brometo de metila e a fosfina são, atualmente, os fumigantes mais utilizados contra as pragas de grãos armazenados. O efeito do brometo de metila no homem e nos animais pode variar de acordo com a intensidade de exposição. Concentrações elevadas pode ocasionar a morte do indivíduo por lesão pulmonar, além de problemas circulatórios, enquanto que concentrações sub-letais acarretam problemas neurológicos. Por exigir um equipamento especial para sua aplicação, ser absorvível pelo grão e por

prejudicar a germinação de sementes, o brometo de metila teve sua utilização suplantada pela fosfina, que hoje é o fumigante mais empregado no mundo para desinfestação de grãos armazenados. Todavia, esta utilização, muitas vezes de forma indevida, levou ao surgimento de populações de insetos resistentes e detecção de resíduos em grãos expurgados com alto teor de umidade. A partir de tais fatos, outros fumigantes alternativos começaram então a serem investigados (Santos, 1994).

✧ Uma alternativa para a solução definitiva no controle de insetos que destroem os grãos é a adoção de métodos físicos, ou seja, através da modificação da atmosfera no interior da estrutura armazenadora. A atmosfera pode ser modificada através da substituição parcial do oxigênio intergranular por  $\text{CO}_2$  em altas concentrações (maiores que 20%), aumentando a taxa respiratória dos insetos e potencializando a atuação do  $\text{CO}_2$ , que é um gás tóxico porém inerte, apresentando, assim, grãos completamente desinfestados e com máxima qualidade, sem resíduos tóxicos.

✧ O armazenamento seja ele de grãos ou de outros produtos, é um processo dinâmico e exige tecnologia, conhecimento e cuidados constantes. O produto armazenado tem valor comercial, é fruto de trabalho árduo e as perdas que possam ocorrer representam, em última análise, prejuízos para toda a sociedade. Deve-se, portanto, dar a devida atenção a esta importante fase do processo produtivo, de maneira a garantir a qualidade e minimizar as perdas dos produtos (Pereira, 1993).

O Brasil produz aproximadamente 70 milhões de toneladas de grãos e, deste total, estima-se que 20% são desperdiçadas no processo de colheita, no transporte e no armazenamento (Brasil, 1993). As perdas por ataque de pragas chegam a 10% da produção armazenada, atualmente. Na situação da falta de alimentos para grande parte da população brasileira que sofre com a fome e, considerando-se o oneroso esforço da sociedade em produzir estes grãos, não se admitem estas elevadas perdas na produção de grãos (Lorini, 1993).

O objetivo principal deste trabalho foi desenvolver um sistema de expurgo que viabilizasse a utilização do dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), de modo a se obter grãos armazenados por longo período de tempo livre de insetos e de resíduos tóxicos. Especificamente, o trabalho propôs:

a) Estudar a influência do dióxido de carbono na qualidade do milho branco QPM BR-451 durante a operação de eliminação do inseto-praga *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855, através de análises químicas (em grãos) e fisiológicas (em sementes);

- b) Estudar combinações de intervalos de tempo e de teor de dióxido de carbono a serem utilizados para se atingir uma maximização da eficiência da fumigação;
- c) Comparar a efetividade do dióxido de carbono como fumigante em relação à fosfina, que é o fumigante mais difundido em expurgos comerciais e que já apresenta problemas relativos a resistência por parte dos insetos e resíduos tóxicos nos grãos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 O MILHO BR - 451

De acordo com Paes (1994), uma pesquisa realizada pelo Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição em 1989 revelou que a desnutrição energético protéica atinge 31% das crianças menores de cinco anos e a baixa estatura encontra-se presente em 20% dos adultos jovens brasileiros. A pesquisa ainda revelou que 25% dos idosos brasileiros apresentam baixo peso.

Peixoto *et al.* (1990) apresentam o milho como a principal fonte alimentar de 200 milhões de pessoas, onde se inclui metade da população mundial considerada cronicamente subnutrida. As variedades de milho tradicionalmente plantadas são limitadas na qualidade nutricional. Metade da proteína do grão de milho é deficiente em dois aminoácidos essenciais: lisina e triptofano. Isto significa que, sem suplementação protéica, o milho não pode, sozinho, sustentar o desenvolvimento e a saúde normais de animais monogástricos, como o homem. Em 1963 foi descoberto um mutante de milho chamado Opaco-2, contendo uma proteína de alto valor nutritivo, que podia ser comparada à proteína do leite, porém apresentava baixa produtividade, grãos moles e alta susceptibilidade a doenças e insetos. Em 1980, um grupo de melhoristas do Centro Internacional de Melhoramento de Milho e Trigo (CIMMYT) anunciou o desenvolvimento de variedades, a partir do Opaco-2, que associavam alto teor protéico com características agrônômicas adequadas, sendo agrupadas sob a denominação de QPM (Quality Protein Maize). Estas variedades de milho apresentavam características agrônômicas idênticas ao milho comum

e altos teores de lisina e triptofano. Em 1983, o CNPMS-EMBRAPA introduziu 23 variedades de milho QPM e, após cinco anos de trabalho, lançou uma cultivar de milho branco, a "BR - 451", de alto valor protéico, alto rendimento de fubá e uma produtividade elevada nas mais diferentes regiões brasileiras (Guimarães *et al.* (1992)).

Pelos estudos de Maciel e El Dash (1988) e Mazzari *et al.* (1982), a proteína considerada como padrão nutricional é a caseína do leite, que possui uma eficiência relativa da proteína (PER) com valor 2,5. Os outros alimentos sempre tem o seu PER comparado com aquele da caseína. Os autores apresentam a eficiência relativa da proteína do trigo e a de suas misturas com as farinhas de milho e sorgo. Verificou-se que existe uma complementação de aminoácidos entre o trigo e o milho, de tal forma que a mistura de 80% de farinha de trigo com 20% de fubá de milho possui um PER de 1,31; para o trigo puro este valor é de 0,82. Ainda não foram realizados estudos do PER das misturas de farinha de trigo com fubá de milho QPM, mas espera-se que estes valores sejam mais altos que aqueles obtidos com a mistura farinha de trigo x fubá de milho comum.

Magnavaca *et al.* (1988) recomendam a utilização de milhos brancos QPM, além de suas boas características agrônômicas, para uso industrial para misturas em farinhas, devido aos altos teores de lisina e triptofano. Outra vantagem do milho branco é não modificar a coloração da farinha.

Num programa de farinhas mistas, deve-se preferir a alternativa que modifique o menos possível as características gerais do produto final. Dentro deste contexto, um parâmetro que exerce influência na opção de compra do consumidor é a cor do produto. No caso do pão francês e do pão de forma, quanto mais claro for o produto, melhor é a sua aceitação pelo consumidor. A avaliação da cor das farinhas é comumente feita usando-se a metodologia descrita por Kent-Jones e Amos (1967). Nessa escala, quanto menor for o valor, mais clara é a farinha. A cultivar BR-451 produziu fubá mais claro que as amarelas (5,6 contra uma média de 11,7 nas amarelas). No caso de se utilizar o chamado grão degerminado, para a produção do fubá mimoso, este valor de cor na farinha na variedade BR-451 cairia para 4, sendo que a farinha desengordurada teria valor de cor 3 (Peixoto *et al.*, 1990).

O chamado rendimento de fubá é a porcentagem de fubá possível de ser obtido a partir do grão integral, sendo uma característica fundamental para maximizar o retorno econômico do produtor de fubá. A cultivar branca BR-451 apresentou rendimento de fubá em torno de 68%, enquanto as cultivares de

milho existentes no mercado apresentam rendimento de 58%. O trigo apresenta rendimento de 72% (Maciel e El Dash 1988).

Paes (1994) afirma que a substituição dos milhos comuns pelos milhos de alta qualidade protéica na produção de derivados destinados à alimentação humana, como os obtidos através da moagem seca e úmida, resultará em um incremento considerável no valor nutricional dos produtos finais, sem alteração de processos industriais, custos ou hábitos do consumidor.

Segundo Storey (1987), se o milho é armazenado por um período extenso, providências devem ser tomadas para preservar sua qualidade e prevenir perdas econômicas devido a infestações por insetos. Danos no milho por insetos podem ser diretos, através da alimentação, e indiretos, pela contaminação do grão por excreções, restos de pele, teia e partes do corpo. Eles também contribuem para criação de condições que permitem a proliferação de fungos, resultando em mofos e danos por aquecimento.

## 2.2 CARACTERÍSTICAS DAS PRAGAS DE GRÃOS ARMAZENADOS

Danos em grãos armazenados frequentemente ocorrem sem aviso prévio. A maior parte das infestações por insetos iniciam-se de maneira insignificante em áreas localizadas da massa de grãos que promovem microambientes com temperaturas, teores de umidade e substrato alimentar favorável para alimentação e disseminação a partir de poucos indivíduos (Sinha; Wareter e Muir 1986).

No Brasil, as perdas causadas por insetos em grãos armazenados atingem níveis médios superiores a 10% dos grãos produzidos nas lavouras (Brasil 1993). As perdas variam desde níveis inferiores a 1% em armazéns bem manejados até a perda total, quando o produto encontra-se depositado, após o esforço e os riscos de produção nas lavouras (Gassen, 1993).

De acordo com a biologia e os hábitos alimentares, Santos (1993a) classifica os insetos-praga dos grãos armazenados como pragas primárias, que são aquelas capazes de danificar grãos inteiros, e pragas secundárias, que infestam grãos já previamente danificados. O ataque das pragas primárias predispõe os grãos a serem atacados pelas pragas secundárias. As pragas primárias internas incluem os

insetos cujas fases de desenvolvimento ocorrem no interior dos grãos, alimentando-se deles e destruindo-os. Exemplos de pragas primárias internas são o caruncho do milho (*Sitophilus zeamais*) e a traça dos cereais (*Sitotroga cerealella*). As pragas primárias externas incluem os insetos cujas diversas fases de desenvolvimento alimentam-se da parte externa dos grãos, embora esporadicamente possam também atacar as partes internas dos grãos. Exemplos deste tipo são a broca pequena do grão (*Rhizopertha dominica*), a broca grande dos grãos (*Prosthephanus truncatus*) e a traça da farinha (*Plodia interpunctella*). As pragas secundárias são assim chamadas pois somente conseguem atacar aqueles grãos que já foram atacados pelas pragas primárias ou que estejam quebrados ou trincados. Exemplos deste tipo de praga são o tribólio (*Tribolium castaneum* e *T. confusum*) e a criptoleste (*Cryptolestes ferrugineus*). As outras pragas são os ácaros e os roedores.

Várias das mais destrutivas pragas de grãos armazenados vivem dentro do grão em seu estado larval ou de pupa, ocultos à visão, onde destróem o endosperma e deixam seu refúgio cheio com seu excremento. Esta infestação interna não pode ser completamente removida através de processos de limpeza comuns, de modo que, quando o grão infestado é moído, os insetos e seus excrementos são triturados junto com os grãos (Cotton, 1963).

Segundo Puzzi (1986), os insetos que vivem nos grãos armazenados apresentam características para adaptação em um ambiente que apresenta uma estrutura porosa, constituída pelos próprios grãos e do espaço intergranular. São pequenos, podendo se locomover nos espaços intersticiais da massa de grãos e adaptados para viver em um ambiente escuro.

O caruncho do milho, *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855, é uma praga cosmopolita de destacada importância econômica. No Brasil, dentre outras espécies do gênero *Sitophilus*, essa é a mais severa pelos prejuízos inflingidos aos grãos armazenados, notadamente o milho (Rosseto, 1972). Tais prejuízos decorrem de danos quantitativos e qualitativos, tais como perda de peso, alteração do valor nutritivo e redução do poder de germinação dos grãos (Braga *et al.*, 1991 e Santos, Maia e Cruz, 1990).

Além das perdas já mencionadas anteriormente, o ataque de insetos ainda altera o sabor e o odor natural dos grãos e seus produtos. A presença de insetos vivos ou mortos, partes do corpo dos insetos como patas, asas, escamas, somado às excreções que permanecem na massa de grãos,



constituem contaminantes. Essas matérias estranhas frequentemente excedem os limites de tolerância, tornando os grãos ou seus produtos impróprios para o consumo humano ou até mesmo animal (Santos 1993b).

Rosseto (1972) estudou a biologia do *S. zeamais* em milho armazenado, obtendo um período médio de pré-ovoposição de 5,87 dias, um número médio por fêmea de 282,5 ovos, um período de ovoposição de 104,26 dias, um número médio de 2,7 ovos por fêmea por dia, uma longevidade média das fêmeas de 140,53 dias, uma longevidade média dos machos de 142 dias, um período médio de ovo à emergência do adulto de 34 dias, um período médio de Incubação de 3 a 6 dias, um percentual de adultos emergidos de 48,1% machos e 51,9% fêmeas e uma porcentagem de ovos que se desenvolveram até a emergência dos adultos de 26,9%.

Segundo Tipping *et al.* (1989), uma redução completa dos níveis de infestação de insetos deve ocorrer sem o aumento no uso de inseticidas devido a incidência de resistência pelas pragas de grãos armazenados. O crescente número de restrições e cancelamentos em relação ao uso de inseticidas se deve às preocupações maiores em relação à saúde da população.

O controle preventivo com inseticidas é a mais usual alternativa de controle de pragas usada em grãos armazenados. Em geral não é caro, é de ação rápida e apresenta persistência aceitável. A contaminação dos grãos e a seleção de populações de pragas resistentes aos inseticidas são os fatores que mais preocupam a pesquisa de proteção de grãos armazenados (Gassen, 1993).

### 2.3 CONTROLE QUÍMICO E AUMENTO DA RESISTÊNCIA DOS INSETOS AOS DEFENSIVOS QUÍMICOS

De acordo com Badmin (1990), para o termo "resistência" ser aplicado, os seguintes critérios são necessários:

- O produto pela qual a resistência está sendo reivindicada conduz a uma recomendação de uso contra particular peste mencionada e possui uma história de performance bem sucedida;

- A falha na proteção do produto não é uma consequência de armazenagem incorreta, diluição ou aplicação do produto e não é devido a condições não usuais de clima e ambiente;
- A dose recomendada falhou na supressão da praga abaixo do nível econômico;
- A falha para controlar é devido a uma mudança hereditária na susceptibilidade da população de pragas ao produto utilizado.

De acordo com Bateman (1985), os dias das indiscriminadas iscas de profundidade, "sprayers" e pulverizadores estão certamente contados. Já existem sinais que os custos aumentaram para o desenvolvimento e registro de novos pesticidas, que ocasionam uma redução no número de produtos químicos alternativos disponíveis. Resíduos de pesticidas estão tornando-se cada vez mais inaceitáveis, provavelmente na mesma proporção que as próprias pragas, ou seus traços, são inaceitáveis. Níveis máximos permitidos irão decrescer independentemente se eles produzam ou não algum tipo de dano nos produtos expurgados, quer seja por pressão política de grupos de defesa dos consumidores e entidades regulamentadoras governamentais, quer seja pelo fato dos inseticidas estarem tornando-se ineficazes contra espécies cada vez mais resistentes de insetos, roedores e ácaros.

Segundo Annis (1986), a fumigação tem sido utilizada como um método rápido para eliminar insetos, quer para satisfazer um requerimento específico de quarentena ou fazer parte de um programa contínuo de supressão de insetos, aplicado quando o número de insetos ultrapassa um patamar nominal. Nestes casos, não há propósito para proteção contínua. O objetivo é reduzir danos causados por insetos tanto quanto possível e comercializar uma mercadoria com um nível de infestação aceitável ou de acordo com padrões estabelecidos por autoridades reguladoras.

Os produtos empregados para a fumigação devem apresentar certas características, como elevado índice de toxidez para o inseto, grande difusividade, apresentar estabilidade química, não devendo ser inflamável, corrosivo, solúvel em água, tóxico a animais de sangue quente e nem fitotóxico, conforme Ávila Júnior (1973).

Os fumigantes são mal utilizados quando eles são incorretamente aplicados ou quando eles são aplicados sob premissas incorretas. Os fumigantes foram no passado muitas vezes usados em boas condições de manejo, mas também foram muito utilizados, por exemplo, cumprindo termos de contrato sem consideração à eficácia no controle de insetos. O mal uso não somente causa desperdício de

materiais mas pode também diminuir grandemente o objetivo principal registrado nos fumigantes, que é o controle de pragas (Bond, 1990).

O número de fumigantes disponíveis para o controle de pragas em produtos armazenados tem decrescido nos últimos anos e, atualmente, estão limitados principalmente aos compostos brometo de metila e fosfina. Mesmo o uso contínuo destes dois compostos é amplamente dependente da sua aceitação contínua para as autoridades registradas e o público em geral (Bond e Miller, 1988). No Brasil, entre os fumigantes utilizados em silos e armazéns, Gallo *et al.* (1978) e Puzzi (1977) destacaram o brometo de metila e a fosfina.

As limitações, segundo Reichmuth (1985), quanto ao uso do brometo de metila são o ponto de ebulição de 4°C e problemas de condensação, uma tendência de produção de resíduos, especialmente em produtos de alto teor de gorduras e suspeita de ser cancerígeno.

Quanto à fosfina, foi amplamente introduzida na década de 60 e é atualmente o mais utilizado fumigante nos trópicos pelo seu baixo custo, facilidade de manuseio e efetividade (Hayward, 1984 e Krishnamurthy, 1973). A fosfina cumpre muitos dos requerimentos de uma fumigação para controle de pestes, mas possui algumas desvantagens, que são períodos de exposição relativamente grandes, possuir alta toxicidade específica para mamíferos, ser corrosivo para vários metais e apresentar altos níveis de resistência devido a predominância de práticas incorretas de fumigações (Reichmuth, 1985).

A resistência à fosfina é outra consequência séria de uso inadequado dos fumigantes. Um número de relatórios no passado aludiu a possibilidade do aumento das resistência dos insetos à fosfina e Taylor e Halliday, citados por Bond (1990) confirmaram a amplitude geográfica da resistência à fosfina em várias pragas coleópteras de produtos armazenados. A vedação insatisfatória de armazéns, que leva a rápidas perdas de gases e consequente exposição inadequada dos insetos, foi sugerida como a razão para a resistência e algumas espécies tem sido amplamente difundidas em certas regiões do mundo.

Insetos resistentes não são somente aptos a tolerar doses de pesticidas que poderiam matar formas primárias susceptíveis como também possuem a capacidade de passar sua habilidade aos seus descendentes. Resistência é, assim, essencialmente um fenômeno genético tanto quanto um problema toxicológico (Dyte, 1990).

Os problemas criados pela resistência são, por exemplo, o custo de se usar doses mais elevadas, o acréscimo do tempo de exposição requerido para expurgos contínuos ou o aumento do número de aplicações de fumigantes e a produção de níveis inaceitáveis de resíduos com relação a alguns fumigantes (Annis, 1990).

O fato é que as maiores ocorrências de resistência tem sido em regiões tropicais e irão apresentar sérias consequências para o controle de pragas em produtos armazenados nestas áreas, mas o fenômeno também possui implicações de longo prazo para áreas temperadas onde mercadorias tropicais são comercializadas (Bond, 1990).

Os recentes cancelamentos dos registros de fumigantes líquidos devido ao seu possível efeito cancerígeno em seres humanos tem resultado em um aumento de confiança na fosfina para tratamentos em grãos e farinhas. Futuros cancelamentos e restrições adicionais e o perigo de desenvolvimento de resistência pelos insetos à fosfina ou brometo de metila podem levar a sérios efeitos econômicos. Estes problemas potenciais podem se tornar mais difíceis para manter o requerimento regulatório de tolerância zero para pragas de produtos armazenados no grão de exportação. Então, a possibilidade do uso de atmosferas controladas para matar pragas de armazenamento, como uma alternativa aos fumigantes comerciais atuais, é possível (White, Jayas e Sinha 1990). Fumigantes como fosfina, brometo de metila e ácido cianídrico e inseticidas como lindane e piretróides, entre outros, utilizados para controle de pragas estão sob pressão pública devida à sua toxicidade. Esta discussão e o crescente problema da resistência levam a investigação de possibilidades alternativas para controle de pragas, especialmente pragas em produtos de alto valor como ervas e temperos (Prozell e Reichmuth, 1990).

Atmosferas modificadas ou controladas oferecem uma alternativa ao uso de fumigantes químicos convencionais produtores de resíduos para controle de insetos-praga que atacam grãos armazenados, sementes oleaginosas, mercadorias processadas e alguns alimentos embalados. Uma atmosfera modificada é criada para substituir a atmosfera existente em um container armazenador, com uma dose letal para os insetos, por adição de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), nitrogênio ( $\text{N}_2$ ) ou ar sem oxigênio ( $\text{O}_2$ ), através da aplicação ou combustão de gases por um queimador ou gerador de atmosfera modificada ou inerte. Estas atmosferas também reduzem ou previnem o crescimento de fungos e

também são efetivos na limitação da produção de micotoxinas, como as aflatoxinas (Jay e d'Orazio, 1984).

## 2.4 ATMOSFERA MODIFICADA PARA CONTROLE DE PRAGAS DE GRÃOS ARMAZENADOS

Atmosferas controladas oferecem alternativas atrativas para a prática da fumigação. A manipulação de constituintes atmosféricos normais para criar condições letais para os insetos é muito mais compatível com as filosofias modernas de controle de pragas do que o uso de pesticidas tóxicos. Entretanto, informações adicionais e aperfeiçoamento da tecnologia são requeridas para explorar o completo potencial das atmosferas controladas (Bond, 1990).

Segundo Banks (1984), técnicas de atmosfera controlada tem uma importante função em sistemas integrados para proteção de grãos, com particular aplicação onde tratamentos livres de insetos e de resíduos são necessários. Com o aumento das restrições sendo impostas aos tratamentos químicos de grãos, técnicas de atmosfera controlada serão provavelmente muito mais usadas num futuro próximo.

Atmosferas controladas quando usadas em grãos armazenados são misturas daqueles gases normalmente encontrados nas atmosferas de armazenamento: gases como nitrogênio, oxigênio e dióxido de carbono. Em atmosferas controladas, a concentração de oxigênio é reduzida e/ou a concentração de dióxido de carbono é aumentada. Atmosferas controladas específicas são nomeadas pelos meios de produção, manutenção ou componente ativo e usualmente designadas como um dos tipos de atmosfera: modificada, deficiente em oxigênio, baixo oxigênio, enriquecida com dióxido de carbono, alto teor de dióxido de carbono, nitrogênio, queimador de gás e armazenamento hermético (Annis, 1987).

A concentração normal de dióxido de carbono no ar é abaixo de 0,03%; o padrão higiênico (que é a concentração para que um trabalhador possa ser exposto continuamente sem que hajam efeitos maléficos) em muitos países é na ordem de 0,05%. Concentrações na ordem de 2,0 - 5,0% causam um aumento notável na taxa de respiração; de 5,0 - 10,0%, a respiração pode ser voluntariamente suportada

por apenas alguns minutos. Exposição a níveis de 12,0 - 15,0% causa perda da consciência, ao passo que 25,0% levará à morte em poucas horas (AFHB/ACIAR, 1989).

De acordo com Annis e Graver (1987), fumigantes e atmosferas controladas são tratamentos gasosos e possuem muito em comum tanto na teoria quanto na prática da sua aplicação. Eles requerem facilidades similares, podem possuir uma regra similar em um sistema de manejo integrado de produtos e seu uso possui indiretas mas importantes consequências levando à manutenção da qualidade.

Atmosferas controladas, com redução substancial da concentração de oxigênio, possuem o potencial para matar animais (insetos, ácaros e roedores), reduzir outras atividades biológicas (mofos, fungos e respiração do grão) e reduzir degradação oxidativa. Entretanto, atmosferas controladas com altas concentrações de CO<sub>2</sub> no ar e que possuem um significativo conteúdo de oxigênio, agem como gases tóxicos somente. Embora aptos para matar insetos eles são pouco prováveis de possuírem qualquer outro efeito direto na preservação da qualidade (Banks, 1983; Bond e Miller, 1988). Devido aos gases componentes da atmosfera controlada serem os mesmos da atmosfera do armazenamento (componentes normais), é improvável que eles causem diretamente degradação da qualidade pela formação de resíduos. Existem, entretanto, algumas evidências que altas concentrações de CO<sub>2</sub> na atmosfera não causam efeitos adversos na germinação, porém existem circunstâncias específicas onde a germinação pode ser afetada ( Banks e Grass, 1982; Peterson *et al.*, 1956 e Ponton e Briggs, 1969).

Em geral não existem notícias da degradação da qualidade quando dióxido de carbono tem sido aplicado para grãos secos e mercadorias similares, como sementes oleaginosas e legumes, entre outros. No entanto, cuidados na aplicação são necessários e recomendações devem ser seguidas se a manutenção da qualidade ou germinação são cruciais (AFHB/ACIAR, 1989).

Conforme estudos de Banks, Annis e Graver (1990), não se tem notado efeitos adversos em mercadorias secas ( $a_w < 0,65$ ), armazenadas em atmosfera controlada a temperaturas normais de armazenamento (menos de 30°C). Existem algumas evidências que o alto teor de dióxido de carbono associado a altas temperaturas (maiores que 60°C) são levemente prejudiciais à germinação e pode aumentar o tempo de desenvolvimento de massa para farinhas de trigo tratadas. Nestas condições é possível que haja algum efeito adverso na germinação de sementes de milho e cevada sob atmosferas

contendo muito pouco oxigênio (em torno de 0,2%). Em geral, os efeitos prejudiciais da atmosfera controlada, se existirem, são menores que aqueles causados por pequenas mudanças na umidade e temperatura e são improváveis de serem significantes.

De acordo com White e Jayas (1991), o dióxido de carbono não deixa resíduos químicos nos alimentos, é menos perigoso para manejo que fumigantes químicos sintéticos e pode ser mais econômico. Armazenamento em atmosfera controlada por períodos prolongados pode também controlar o crescimento de fungos a ajudar na manutenção da germinação em grãos armazenados. O dióxido de carbono, entretanto, pode ser absorvido por concreto, assim afetando potencialmente a integridade do silo; altos níveis de  $\text{CO}_2$  pode afetar a qualidade do cozimento de farinhas e a resistência ao dióxido de carbono pode aparecer em alguns insetos, em fumigações mal conduzidas.

O objetivo principal de um tratamento gasoso deve ser de matar todos os insetos-alvo. Isto é verdadeiro tanto se o tratamento for uma quarentena quanto se for um componente de um armazenamento de longo prazo. Um completo extermínio dos insetos somente pode ser assegurado pela manutenção de uma concentração adequada de gás ativo pelo tempo requerido para o expurgo e durante toda a armazenagem para alcançar o efeito requerido (no caso da atmosfera deficiente de oxigênio, uma concentração suficientemente baixa é o objetivo). Em controle de pragas, isto representa 100% de mortalidade em todos os estágios de todas as espécies presentes. É frequentemente difícil estar certo de quais espécies estão presentes. A dosagem, em termos de tempo e concentração tem que, por isso, assegurar o completo extermínio do mais tolerante inseto que provavelmente esteja presente (Annis, 1990).

As propriedades inseticidas do dióxido de carbono em uma situação de armazenamento, em atmosfera controlada, tem sido estudada na Austrália há anos consecutivos. Desde 1975, 250.000 toneladas de trigo tem sido tratadas com  $\text{CO}_2$ . Atualmente, 2,5 milhões de toneladas do sistema de manejo de armazenamento de grãos na Austrália requerem pequenos esforços para manterem-se num padrão que permite tratamentos econômicos de grãos com  $\text{CO}_2$  (Wilson, Buchanan e Sharp, 1984).

Conforme Guiffre e Segal (1984), o dióxido de carbono tem sido usado com sucesso na Austrália por um período de vários anos em experiências, em uma base comercial. A sua utilização é

relativamente segura e é menos tóxico para o ser humano que a fosfina e o brometo de metila. O método tem promovido trigo livre de insetos e resíduos químicos a custos de tratamento cada vez mais competitivos em relação aos inseticidas de contato. Existe grande interesse no uso do  $\text{CO}_2$  para desinfestação de grãos armazenados pelos produtores e autoridades que comercializam e manipulam os grãos na Austrália para o fornecimento de grãos livres de resíduos para mercados locais e internacionais devido ao fato da demanda por este produto aumentar.

Se um depósito pode ser mantido selado por várias semanas, gases como o nitrogênio ( $\text{N}_2$ ), dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) ou monóxido de carbono (CO), sem toxicidade aguda, podem ser usados para matar os insetos que se encontram no interior do depósito. Os efeitos causados pelos diferentes gases nos insetos são distintos (Banks, 1983). Fleurat Lessard e Le Torc'h (1986) relatam que uma atmosfera inerte pode controlar infestações utilizando-se altos níveis de  $\text{CO}_2$ , que é biologicamente ativo em animais e tóxico em concentrações acima de 40% no ar. No caso, o  $\text{CO}_2$  é tóxico e a sua toxicidade aumenta quando persistem baixos níveis de  $\text{O}_2$  (Jay, 1986; Navarro, 1978). Diante disso, verifica-se a importância da condição de hermeticidade da estrutura de armazenamento, para a anaerobiose, que é similar à requerida para o uso de fosfina, quando o enriquecimento de  $\text{CO}_2$  no ar é usado (Jay e Pearman, 1980).

Estudos realizados por White e Jayas (1991) indicam que a maior limitação ao uso do dióxido de carbono em fazendas é que muitos silos de armazenamento não são herméticos e altos níveis de dióxido de carbono (60-95%) devem ser mantidos por dias ou baixos níveis de  $\text{CO}_2$  (menores que 20%) devem ser mantidos por semanas. Atenções devem ser tomadas para selar as estruturas de armazenagem para minimizar a perda de gases causadas por difusão, vento, correntes convectivas e mudanças na pressão barométrica.

O dióxido de carbono é um fumigante mais efetivo que o nitrogênio devido a ele estimular a respiração do inseto enquanto o oxigênio é removido. O nitrogênio mata os insetos apenas por remoção do oxigênio a níveis menores que 1% no ar. Aumentos na concentração de dióxido de carbono a uma dada umidade relativa e temperatura constantes usualmente produz aumento na mortalidade com decréscimo do tempo de exposição. A efetividade do dióxido de carbono é reduzida com o decréscimo



da temperatura e o acréscimo da umidade relativa. Atmosferas contendo níveis de dióxido de carbono de 10 a 30%, baixo teor de oxigênio (0,5-2,6%) e balanço de nitrogênio causado por combustão de combustíveis à base de hidrocarbono também são efetivos no controle das pragas de grãos armazenados (White, Jayas e Sinha 1990).

De acordo com Graver (1990), para assegurar o contínuo uso da fumigação nos trópicos, é essencial estabelecer um alvo ou padrão para efetivas fumigações. Fumigações efetivas são aquelas em que existe uma mortalidade total dos insetos, isto é, nenhum sobrevivente da infestação original. Para propósitos práticos tais fumigações podem ser definidas em termos da concentração de gás atingida ao fim do período de exposição. Para o dióxido de carbono, a concentração a ser atingida é de 35% (ou mais) ao fim de um período mínimo de 15 dias.

Jay e Pearman (1971) afirmam que o efeito da temperatura no período de tempo necessário para obter um bom controle com atmosfera modificada é tão importante quanto nos fumigantes convencionais. A utilização do dióxido de carbono deve ser adotada quando longo tempo de armazenagem for planejado (mais de 15 dias), onde os produtos devem ser livres de resíduos, onde tratamentos com brometo de metila, fosfina e ácido cianídrico não são aceitos pelos mercados consumidores, onde uma morte rápida de roedores é desejável e o ácido cianídrico não é aconselhado e onde tratamentos devem ser seguramente isolados de locais de serviço e/ou habitações. Por outro lado, o dióxido de carbono não deve ser usado quando o tratamento exigir menos de 15 dias para ser cumprido, onde *Trogoderma granarium* estiver presente e onde a germinação e viabilidade de sementes podem ser afetadas (AFHB/ACIAR, 1990).

Segundo Ripp *et al.* (1984), atenção a todos os detalhes estruturais e controle preciso do uso do CO<sub>2</sub> são, acima de tudo, importantes para assegurar um retorno econômico dos grãos, principalmente quando recebidos a um teor de umidade de 12% ou próximo deste.

Segundo Annis (1986), nas normas comerciais para exportação de produtos alimentícios, o nível residual de produtos químicos utilizados para controle de pragas de grãos armazenados torna-se cada dia mais baixo, evidenciando uma preocupação das autoridades com os efeitos que estes produtos possam promover no corpo humano (por via direta pela ingestão do próprio produto) ou por via indireta (para o caso de cereais que tem por objetivo a alimentação ou complementação alimentar de animais

domésticos, tais como bovinos e suínos). Como uma das tentativas de eliminação do problema do teor residual dos inseticidas químicos, a desinfestação de grãos armazenados pelo uso de dióxido de carbono vem atraindo a atenção de muitas pessoas ligadas à área de pós-colheita de cereais, principalmente.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nas instalações da EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, localizado na cidade de Sete Lagoas - MG. O CNPMS possui as coordenadas geográficas de 19°28' (latitude Sul) e 44°15'08" (longitude) WGrW, a uma altitude de 732m em sua estação climática. O clima da região é do tipo Aw, segundo a classificação de Koeppen (clima de savana com inverno seco e temperatura média do ar no mês mais frio acima de 18°C (EMBRAPA/CNPMS, 1994)). O período de condução do experimento foi de janeiro de 1994 a abril de 1995.

#### 3.1 MATÉRIA-PRIMA

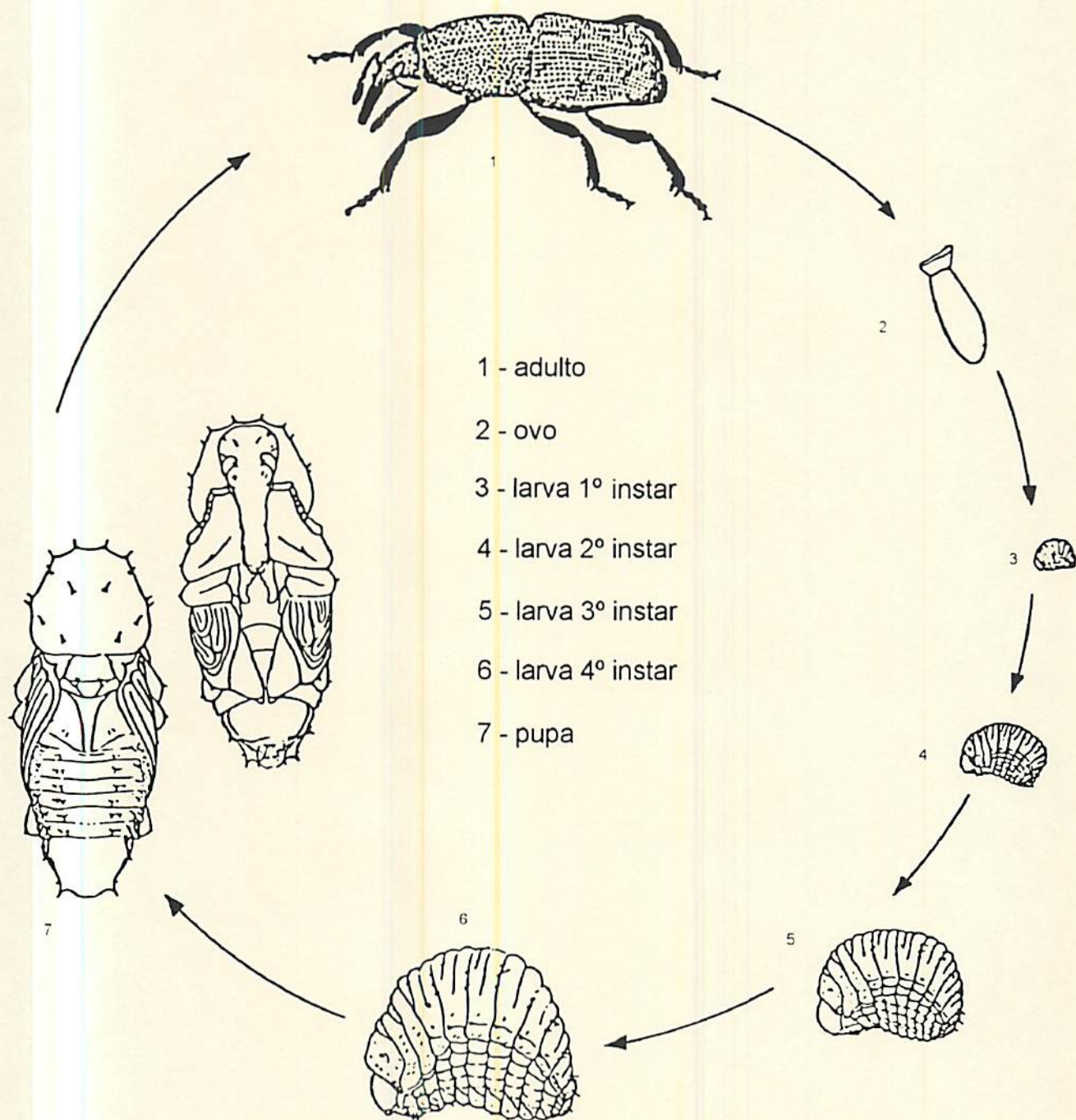
O material utilizado foi o milho branco "QPM" BR-451, cultivado nos campos da EMBRAPA/CNPMS. O milho foi colhido através de colheita mecanizada, sofrendo a posteriori todos os procedimentos normais de beneficiamento de grãos, passando por máquinas de pré-limpeza, para retirada de impurezas mais grosseiras e máquinas de limpeza, para a retirada de impurezas mais finas. Após a retirada das impurezas, o milho branco BR-451 sofreu redução de umidade através da passagem por um secador. O teor de umidade desejado para o milho no presente trabalho foi de 12,5%±0,1%. Cumprido todos estes requerimentos, considerados adequados para uma boa armazenagem, o milho foi acondicionado em sacaria de aniagem antes de ser utilizado no experimento. Para este trabalho, foram necessárias 4,2 toneladas do milho branco BR-451.

### 3.2 CRIAÇÃO DOS INSETOS

Para não se avaliar somente os insetos adultos, realizou-se uma criação de insetos, visando obter todas as formas do *S. zeamais* (figura 1). A criação dos insetos constou da colocação dentro de um pote de vidro com capacidade de 1.100g, de grãos de milho BR-451 íntegros, secos e separados das impurezas, grãos quebrados e/ou trincados e da colocação de 1000 insetos adultos. Após a colocação dos insetos adultos dentro dos potes, estes foram transferidos para uma sala com temperatura (27°C) e umidade relativa (70%) controladas, onde permaneceram por seis dias, quando se realizava a retirada dos insetos adultos e a sua transferência para outro pote previamente preparado com milho BR-451 limpo, seco e catado. Na retirada e transferência dos insetos do primeiro pote para o seguinte, os grãos do primeiro pote permaneciam com os ovos do *S. zeamais*. Assim, ao fim de 60 dias, 10 potes com grãos já haviam sido infestados e os potes mais antigos apresentavam insetos adultos, ao passo que o pote mais recente apresentava ovos e formas recém-eclodidas de larvas. O objetivo desta criação foi poder levar para o experimento amostras de cada fase para se verificar qual fase do inseto apresentou-se como a mais resistente.

Desta forma, cada tambor recebeu sete amostras, correspondente às idades de 0 a 6 dias, que corresponde a maioria das formas de vida composta por ovos; idade de 7 a 12 dias, que corresponde a uma maioria composta por larvas do 1° instar; idade de 13 a 18 dias, que corresponde a uma maioria de larvas do 2° instar; idade de 19 a 24 dias, que corresponde a uma maioria de larvas do 3° instar; idade de 25 a 30 dias, que corresponde a uma maioria composta por larvas do 4° instar/pré-pupa; idade de 31 a 36 dias, que corresponde a uma maioria de formas de vida no estágio de pupa e insetos adultos, com idade acima de 36 dias.

Figura 1: ciclo evolutivo do *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855



### 3.3 CÂMARAS DE EXPURGO

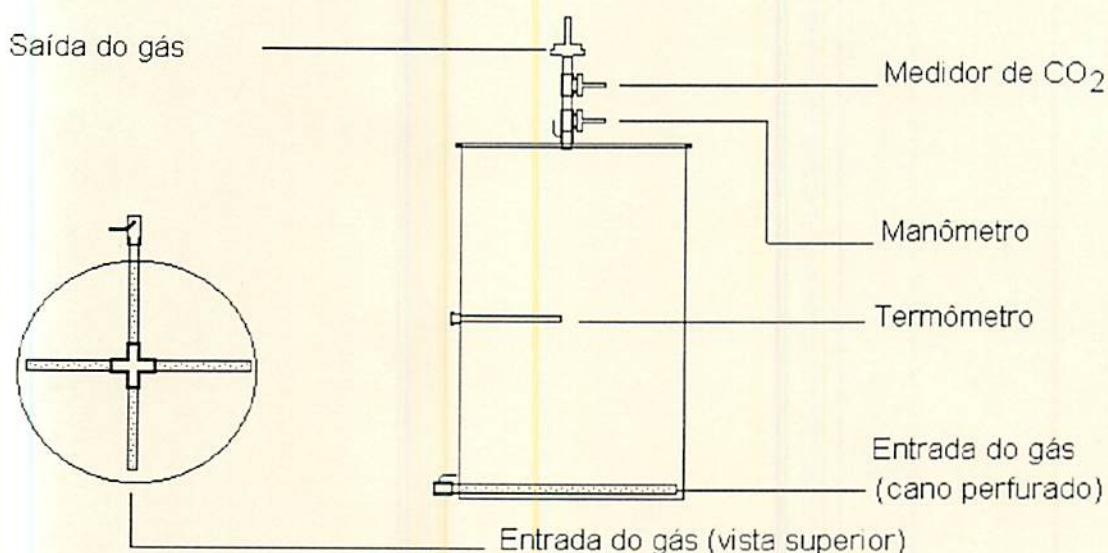
As câmaras que foram utilizadas no experimento comporam-se de latões comerciais com capacidade para 200 litros, que sofreram modificações para atender à condição de hermeticidade e de entrada e saída de gases (figura 2). Foram necessários 21 câmaras para se conduzir este projeto de pesquisa.

Para que o experimento fosse corretamente conduzido, foi necessário que as câmaras atendessem a condição de hermeticidade, pela aplicação de um vedante a base de silicone nas tampas. Antes de se iniciar a coleta dos dados, testou-se a hermeticidade das câmaras. O teste de pressão teve por objetivo verificar o tempo de recuperação da pressão atmosférica no interior das câmaras, após a geração de um vácuo ou pressão negativa. Através destes testes, determinou-se a quantidade de CO<sub>2</sub> necessária para a primeira injeção e a quantidade requerida para posteriores reinjeções, determinadas com a utilização de um equipamento chamado "Bacharat", que é um medidor de teores de CO<sub>2</sub> por reação do gás num líquido específico que, ao contato, aumentava de volume e subia por uma coluna graduada, que variava de 0 até 60%. O vácuo (parcial) foi gerado através de um pequeno compressor.

Outros equipamentos utilizados no experimento, tais como cilindros de 45 kg de misturas CO<sub>2</sub> - ar artificial, medidor do teor de CO<sub>2</sub> (Bacharat), fluxômetros, termômetro, bomba para gases, manômetros e orientação complementar acerca do uso do dióxido de carbono foram fornecidos pela empresa White Martins Gases Industriais, que colaborou com o presente projeto de pesquisa.

Para que se houvesse a dosagem exata de CO<sub>2</sub> no controle do *S. zeamais*, optou-se pela utilização de misturas CO<sub>2</sub>-ar artificial elaboradas pelos laboratórios da White Martins Gases Industriais. A opção deveu-se principalmente pela necessidade de se utilizar medidas exatas e não se trabalhar com intervalos.

Figura 2: Esquema representativo de modelo de câmara utilizada no experimento.



### 3.4 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS E IMPLANTAÇÃO NAS CÂMARAS

Com o objetivo de se avaliar a eficiência do  $\text{CO}_2$  no controle de todas as formas de vida do *S. zeamais*, optou-se pela elaboração de amostras relativas a cada fase do inseto, em quantidade pequena porém representativa do comportamento do inseto no interior da câmara. As amostras pesaram 50g e foram envolvidas por um tecido altamente permeável, de malha fina porém resistente o bastante para impedir a fuga dos insetos adultos e a mistura da amostra de milho contaminada com os insetos com o milho que foi colocado no interior da câmara para simular uma situação real de armazenamento. Cada câmara recebeu sete (7) amostras de 50g, correspondendo às fases do ciclo biológico do inseto. Estas amostras foram dispostas de forma circular no ponto médio do tambor, que já se encontrava previamente cheio até a metade para receber as amostras. Em seguida, os tambores foram preenchidos completamente, tampados e lacrados com o vedante silicone. Após uma (1) hora, os tambores sofriam injeção do dióxido de carbono.

Para que se pudesse detectar a mortalidade dos insetos dentro do tambor por algum motivo que não fosse a atuação do dióxido de carbono, realizou-se a partição da testemunha em duas, uma que foi levada ao campo e conduzida da mesma maneira que foi conduzida as amostras tratadas e outra que foi levada para uma sala com temperatura e umidade relativa controladas (27°C e 70% de UR). Após o cumprimento de cada período de exposição, as testemunhas foram avaliadas e submetidas a análise estatística, juntamente com as demais amostras. Como não ocorreu diferenciação estatística entre as duas testemunhas, optou-se por trabalhar nos resultados com uma média aritmética das duas testemunhas de cada período de exposição.

### 3.5 FUMIGAÇÃO COM DIÓXIDO DE CARBONO

A fumigação foi conduzida em períodos pré-determinados de 5, 10, 15 e 20 dias, para se estabelecer um período de aplicação eficiente. A outra variável de interesse foi o teor de gás necessário em função do intervalo de exposição utilizado. Para este trabalho utilizou-se CO<sub>2</sub> nas concentrações de 20%, 30%, 40%, 50% e 60%. Utilizou-se também, neste trabalho, um expurgo que foi utilizado como comparativo. Trabalhou-se com a fosfina na concentração de 1,0 g p.a./m<sup>3</sup>, com período de exposição fixo de 5 dias, independente dos períodos utilizados para o CO<sub>2</sub>. O expurgo com a fosfina, apesar de possuir um período de exposição fixo, foi realizado quatro vezes, uma para cada período de exposição do dióxido de carbono.

Na câmara já preparada com as amostras e lacradas com o vedante silicone, introduziu-se o gás por intermédio de uma mangueira que realizou a ligação entre o cilindro e um divisor de fluxo, que dividia o fluxo de gás em três partes, permitindo assim que se realizasse a operação de injeção de gases em três tambores ao mesmo tempo. A vazão medida pelos fluxômetros que se conectavam diretamente com as câmaras foi de 15 litros/minuto. O tempo de aplicação para a primeira injeção foi de 30 minutos. A vazão total injetada em cada tambor foi de 450 litros. Para cada tambor foi realizada uma reinjeção a cada 5 dias. Para o intervalo de tempo de 5 dias, realizou-se uma reinjeção três dias após a primeira. Para os demais períodos de exposição, o intervalo de reinjeção foi de cinco dias. Cada reinjeção levou 20 minutos, consumindo assim 300 litros por reinjeção. Assim, para os períodos de 5 e 10 dias,



necessitou-se de 750 litros; para o período de 15 dias, 1050 litros e para o período de 20 dias, 1350 litros.

### 3.6 AVALIAÇÃO DAS AMOSTRAS APÓS EXPOSIÇÃO AO DIÓXIDO DE CARBONO

Após o encerramento da exposição das amostras de milho BR-451 infestadas com todas as formas de vida do *S. zeamais* ao dióxido de carbono, as amostras retornaram ao laboratório de pesquisa sobre pragas de grãos armazenados da EMBRAPA/CNPMS onde foram transferidas dos envoltórios de pano permeável (vual) para copinhos de plástico de 100 ml. O objetivo da transferência das amostras para os recipientes plásticos foi avaliar, com excessão da forma adulta, cuja avaliação foi logo após o fim do expurgo, a evolução das formas mais jovens que haviam sido enviadas para as câmaras e não haviam completado seu ciclo biológico ao fim do experimento. As avaliações ocorreram em dias alternados até em torno de 70 dias após a ovoposição da fêmea (data apresentada no rótulo dos potes de 1100g por ocasião da infestação dos grãos). Ao fim deste período, os dados obtidos pelas avaliações eram somados, tomando-se o devido cuidado de não se contabilizar a segunda geração que pudesse ser iniciada no período de avaliação das amostras, pois o ciclo do *S. zeamais* pode ser completado com menos de 40 dias. As avaliações constaram de passar as amostras por uma peneira de malha 3,36 mm (Tyler n° 6, que equivale a 6 mesh) e realizar a contagem dos insetos que passavam pela malha. As avaliações aconteceram a cada dois dias, durante setenta dias, tempo suficiente para que a fase mais jovem eclodisse completamente. O CO<sub>2</sub> promoveu um atraso no cumprimento do ciclo em cerca de 12 - 14 dias, nos tratamentos em que o gás não realizou efetivamente o objetivo de eliminar os insetos.

Após o cumprimento desta etapa, os dados foram tabulados e submetidos a uma análise estatística.

### 3.7 ANÁLISES FISIOLÓGICAS DO MILHO

Foram incorporadas ao experimento lotes de 400 sementes por tambor para se avaliar o vigor e a germinação, visando a determinação de possíveis prejuízos que pudessem ocorrer através da utilização do CO<sub>2</sub>. A metodologia de análise das sementes seguiu-se a Regra de Análise de Sementes (Brasil 1976), sendo utilizadas 200 sementes do milho BR-451 para análise de vigor e 200 sementes para análise de poder germinativo. As amostras foram avaliadas em função do período de exposição (5, 10, 15 e 20 dias) e dos teores do dióxido de carbono (20%, 30%, 40%, 50% e 60%, além de uma amostra não tratada - testemunha). A fosfina não foi considerada nesta fase.

### 3.8 ANÁLISES QUÍMICAS DO MILHO

Visando determinar possíveis modificações no milho durante a condução do experimento, amostras foram retiradas do lote de grãos antes e após a execução do expurgo com dióxido de carbono e analisadas em laboratório. O objetivo foi determinar se ocorreram modificações no milho pelo uso do CO<sub>2</sub> nos expurgos que visam eliminar todas as fases do inseto *S. zeamais*. As análises que foram executadas foram carboidratos, proteína, lisina e triptofano.

Todas as análises foram conduzidas nos laboratórios de Bromatologia e Biotecnologia da EMBRAPA/CNPMS. Os outros componentes do grão não foram analisados por não poderem ser afetados pela utilização do CO<sub>2</sub>, sendo mais influenciados por características inerentes a qualidade de semente, tipo de solo (fertilidade), época e modo de colheita e secagem.

A determinação dos carboidratos ácido-digeríveis consistiu em se deixar amostras de alimentos em contato com ácido clorídrico diluído, em ebulição, por duas horas e meia. Após esta hidrólise ácida, os monossacarídeos resultantes são determinados colorimetricamente pelo reagente de Teles.

O teor de proteína obtido pelas amostras de milho foram obtidas, por cálculo, através da dosagem de nitrogênio total pelo método Kjeldahl. Neste método, as proteínas e outros compostos hidrogenados foram decompostos na presença de ácido sulfúrico concentrado, a quente, com produção

de sulfato de amônio. Sulfato de sódio foi adicionado com o objetivo de aumentar o ponto de ebulição do ácido sulfúrico, visando apressar a digestão. O sulfato de amônio resultante, em presença de solução de hidróxido de sódio concentrada, libera  $\text{NH}_3$  que é então recebido na solução de ácido bórico. A amônia, na solução de ácido bórico, é titulada com ácido sulfúrico. Para se realizar o cálculo da proteína, utiliza-se o fator 6,25.

A análise de triptofano consistiu de se pesar 80 mg da amostra de milho BR-451 em triplicata e adicionar 4ml de papaína, levando à agitação em vórtex. Após a incubação das amostras a  $63^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  por 16 horas, as amostras foram agitadas e resfriadas à temperatura ambiente e em seguida centrifugadas a 2500 rpm durante 5 minutos. Após a centrifugação, pipetou-se as amostras com 1 ml de solução de acetato de sódio 0,1N pH 7 e adicionado 4 ml de uma solução contendo 270 mg de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  + 0,5 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  + 3% de anidrido acético e 80 ml de ácido sulfúrico 30N. Após a agitação e a incubação por 15 minutos a  $63^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ , a amostra foi resfriada a temperatura ambiente e se realizou a leitura em espectrofotômetro a 560 nm, após calibração.

Os valores de lisina foram obtidos através da seguinte equação:

$$Y = 0,3601 + 4,0745 x, \text{ onde:}$$

Y = % de lisina

x = % de triptofano na proteína

### 3.9 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Através das variáveis em estudo, o delineamento mais adequado para o experimento foi o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), cujos tratamentos foram dispostos numa estrutura fatorial 7 (Fases dos insetos) x 4 (Intervalos de tempo) x 8 tratamentos (5 teores de  $\text{CO}_2$ , controle - fosfina e testemunhas), com três repetições. A fosfina foi um parâmetro para se testar a eficácia do tratamento. O teste de médias escolhido para se avaliar a eficácia dos teores de dióxido de carbono, em relação à fosfina foi o teste de múltiplas médias de Duncan, considerado bastante adequado para este experimento. O nível de significância utilizado nos testes foi de 1% de probabilidade. Para o cálculo das

médias, trabalhou-se com os dados sofrendo uma transformação, através da fórmula  $\sqrt{x+0,5}$ . Os resultados obtidos foram então colocados nas tabelas de eficiência dos tratamentos.

O quadro da ANAVA possuiu a seguinte estrutura :

CAUSAS DE VARIAÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE
TRATAMENTOS	7
INTERVALOS DE TEMPO (I)	3
FASES DOS INSETOS (F)	6
T x I	21
T x F	42
I x F	18
T x I x F	126
ERRO	448
TOTAL	671

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 USO DO DIÓXIDO DE CARBONO NA MANUTENÇÃO DAS QUALIDADES DO MILHO BR-451

#### 4.1.1 PROTEÍNA

Analisando-se as amostras de milho branco "QPM" BR-451 expostas aos quatro períodos nas cinco doses de dióxido de carbono, obteve-se os resultados que estão apresentados na tabela 1.

Trabalhando com 16 linhagens de milhos de alta qualidade protéica (QPM), Parentoni *et al.* (1992) encontraram valores de proteína que variavam de 8,50% (o mais baixo) até valores de 11,16% (o mais alto). Comparando os dados do experimento com os dados dos autores, os valores obtidos pelos teores de gases e períodos de exposição encontram-se dentro dos intervalos e pode-se concluir que não existiu variação do percentual de proteína motivado pelos teores de gás e períodos de exposição. A excessão foi constatada pelos teores de 20% e 30% no período de exposição de 15 dias, que merece ser estudada mais especificamente.

Tabela 1: Teores de proteína (%) obtidos em análise de amostras de milho branco BR-451 tratadas com dióxido de carbono em cinco concentrações e em quatro períodos de exposição.

Teor de CO <sub>2</sub> (%)	Período de exposição (dias)			
	5	10	15	20
20	8,89	9,40	12,17	8,91
30	9,10	9,20	12,61	8,94
40	9,63	9,58	9,44	8,84
50	9,67	9,38	9,71	9,12
60	9,31	9,87	10,32	8,96
zero*		10,00		

\*Média das testemunhas

Uma explicação para a grande variação dos resultados que ocorreram pode ser devido ao material que foi objeto do estudo (o milho BR-451) ser uma variedade de milho. Um milho híbrido apresentaria menor variabilidade e talvez apontasse mais claramente as variações que viessem a ocorrer.

#### 4.1.2 TRIPTOFANO

Os resultados encontrados pelos períodos de exposição e os diversos teores de dióxido de carbono estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Teores de triptofano (g/100g proteína) obtidos em análise de amostras de milho branco BR-451 tratadas com dióxido de carbono em cinco concentrações e em quatro períodos de exposição.

Teor de CO <sub>2</sub> (%)	Períodos de exposição (dias)			
	5	10	15	20
20	0,92	0,72	0,82	1
30	0,97	0,76	0,84	0,93
40	0,92	0,8	0,86	0,98
50	0,87	0,77	0,9	0,97
60	1,02	1,03	0,85	1,11
zero*		0,88		

\*Médias das testemunhas

No período de exposição de 5 dias, em relação à média das testemunhas, apenas o teor de dióxido de carbono de 60% apresenta um valor considerado alto em relação à média das testemunhas. No período de exposição de 10 dias, mantém o padrão observado no período de exposição de 5 dias, com o teor de 60% sendo destoante dos valores apresentados pelos demais teores. Os valores de triptofano apresentados pelos teores de CO<sub>2</sub> no período de exposição de 15 dias apresentam-se bastante próximos do valor da testemunha, não se constatando influência dos teores de gás ou influência do período de exposição. O resultado que merece estudos mais aprofundados foi observado no período de exposição de 20 dias, que se apresentaram acima do valor da testemunha e com o teor de 60% de CO<sub>2</sub> sendo elevado e merecendo um estudo complementar. Apesar disto, no estudo das cultivares do banco de germoplasma da EMBRAPA/CNPMS, Peixoto *et al.* (1991) obtiveram, nas cultivares de alta qualidade protéica, um valor médio de triptofano de 0,89%, com o valor máximo obtido de 1,11% e um valor mínimo de 0,64%. Comparando-se os resultados obtidos com os resultados da autora, constata-se que os resultados obtidos foram estritamente dentro do intervalo, podendo-se

considerar as variações decorrente de uma margem normal de variação decorrente da própria análise do grão.

#### 4.1.3 LISINA:

Uma das características do milho "QPM" BR-451 é o seu alto teor de lisina, em contraste com as variedades usualmente cultivadas, por isso, a quantificação deste propriedade é de grande importância na viabilização do expurgo com dióxido de carbono.

Os valores obtidos para lisina pelas amostras de BR-451 estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3: Teores de lisina (g/100g de proteína) obtidos em análise de amostras de milho branco BR-451 tratadas com dióxido de carbono em cinco concentrações e em quatro períodos de exposição.

Teor de CO <sub>2</sub> (%)	Períodos de exposição (dias)			
	5	10	15	20
20	4,11	3,29	3,69	4,43
30	4,31	3,46	3,78	4,15
40	4,11	3,42	3,87	4,35
50	3,90	3,62	4,01	4,31
60	4,52	3,50	3,81	4,88
zero*		4,02		

\* Média de todas as testemunhas

Pelos resultados obtidos, constata-se que os valores não diferiram muito da média das testemunhas. Pelos dados do período de exposição de 5 dias, constata-se que os valores de lisina dos teores (excessão dada ao teor de 50% de CO<sub>2</sub>), apresentam-se ligeiramente acima do valor obtido pela



média. A média das testemunhas constou do somatório de todos os valores obtidos pelas testemunhas obtidas dividido por quatro (períodos de exposição). Isto foi adotado visando uma comparação global dos valores dos períodos, uma vez que as testemunhas não receberam dose de dióxido de carbono. O período de exposição de 10 dias apresentou todos os valores abaixo do valor da testemunha. O mesmo resultado obtido pelo período de exposição de 15 dias. O período de exposição de 20 dias apresentou, por sua vez, todos os valores acima da média.

Realizando uma caracterização protéica das cultivares de milho do banco ativo de germoplasma da EMBRAPA/CNPMS, Peixoto *et al.* (1991) obtiveram um valor médio de lisina, entre 16 cultivares de milhos opacos de alta qualidade protéica, um valor médio de lisina de 3,99%, com valor mínimo de 2,97% e valor máximo de 4,88%. Diante destes valores, constata-se que o teor de dióxido de carbono e o período de exposição não possuem influência sobre a qualidade da lisina presente no grão tratado.

#### 4.1.4 CARBOIDRATOS

Os valores de carboidratos, obtidos pelos teores de dióxido de carbono e pelos diversos períodos de exposição estão apresentados na Tabela 4.

Em relação à testemunha, os valores obtidos pelos teores de dióxido de carbono diferiram bastante do valor obtido pela média das testemunhas. Apesar de não serem distoantes de outros valores (76,98%, obtido por Travaglini *et al.* (1980) e 65,27%, obtido por Lima (1982)), os valores apresentam uma amplitude de variação considerável, se for levado em consideração que todas as amostras fizeram parte de um mesmo de grãos, não existindo possibilidade de ocorrer variações devido a fatores aleatórios, como fertilidade de solo, método de secagem, características de semente, entre outros. Pode-se considerar que possa realmente existir um efeito motivado pela utilização de dióxido de carbono, principalmente nos períodos extremos (5 e 20 dias). Neste caso, recomenda-se a realização de estudos específicos e também análises de ganho (ou perda) de peso através de cobaias (ratos, por exemplo). Outro tipo de estudo que pode definir o grau de influência do dióxido de carbono (se houver) seria através de análise de características industriais (panificação, tempo de desenvolvimento de massa e tempo de cozimento).

Tabela 4: Teores de carboidratos (%) obtidos em análise de amostras de milho branco BR-451 tratadas com dióxido de carbono em cinco concentrações e em quatro períodos de exposição.

Teor de CO <sub>2</sub> (%)	Período de exposição (dias)			
	5	10	15	20
20	66,69	56,43	55,85	65,79
30	66,24	56,20	55,11	66,24
40	66,02	58,41	57,61	63,99
50	67,81	56,43	57,22	65,11
60	64,21	55,75	56,28	65,79
zero*		56,94		

\*Média das testemunhas

#### 4.2 UTILIZAÇÃO DO DIÓXIDO DE CARBONO VISANDO ALTERAÇÕES NA GERMINAÇÃO E VIGOR DE SEMENTES DO MILHO BR-451

O valor médio da germinação dos teores de CO<sub>2</sub> foi de 84,52%, o que confirma os trabalhos que apontam o CO<sub>2</sub> como passível de utilização e tratamento de sementes, tomando-se o devido cuidado com a manutenção de baixos níveis de umidade. O valor da germinação, apesar de ser, em média, maior que o valor de germinação da testemunha (83%), não é suficientemente distoante para se poder afirmar que o dióxido de carbono implementa a germinação da semente, mesmo porque isto vai de encontro ao fato de, tanto grão quanto semente, no período de armazenamento, não existir melhoria da qualidade dos produtos. O máximo que o armazenamento pode permitir é a manutenção dos níveis de

germinação e vigor dos grãos/sementes quando eles vem do campo. Os resultados estão apresentados no quadro 1:

Analisando-se o vigor das sementes, nota-se a tendência de manutenção de um valor bem próximo ao da testemunha. O valor médio obtido pelos 5 teores de CO<sub>2</sub> e quatro períodos de exposição foi de 72,3%, bastante próximo do valor da testemunha, que foi de 74%. Apesar do comportamento normal das amostras, recomenda-se um estudo mais aprofundado para se poder descrever, com precisão, o comportamento das sementes.

Roberts (1961) armazenou arroz a uma série de temperaturas e teores de umidade, hermeticamente selada em ar, nitrogênio, oxigênio e dióxido de carbono, medindo perda de viabilidade em função do tempo. Foi encontrado que baixos níveis de oxigênio foram em geral benéficos, ao passo que o efeito do dióxido de carbono foi duvidoso. Mais recentemente, Bason; Grass; Banks (1987) armazenou duas cultivares de arroz australiano submetido a uma série de temperaturas, uma atividade de água (0,6) e uma série graduada de oxigênio e níveis de dióxido de carbono que foram ajustados constantemente pelo período da armazenagem. Foi encontrado que baixos teores de oxigênio aumentam suavemente o período de retenção no tempo de vida médio, ao passo que atmosferas contendo dióxido de carbono foram sensivelmente deletérias ao tempo de vida em comparação àquela semente sem tratamento. A magnitude destes efeitos foram mínimos se comparados com o efeito da temperatura, e indesejável para ser de interesse tanto para garantir as dificuldades técnicas de manutenção de uma atmosfera de baixo oxigênio (menos de 1%) ou proibir o uso do dióxido de carbono em armazenamento de larga escala (Grass & Bason, 1989).

Quadro 1: Percentual de germinação e vigor das sementes de milho BR-451 tratadas com dióxido de carbono em diversas doses e diversos períodos de exposição.

Teor de CO <sub>2</sub> e período de exposição	Germinação (%)	Vigor (envelhecimento precoce) (%)
20% 5 dias	83	72
30% 5 dias	86	74
40% 5 dias	78	73
50% 5 dias	86	55
60% 5 dias	81	70
20% 10 dias	84	76
30% 10 dias	82	66
40% 10 dias	84	86
50% 10 dias	79	70
60% 10 dias	81	69
20% 15 dias	87	70
30% 15 dias	86	73
40% 15 dias	90	70
50% 15 dias	85	74
60% 15 dias	86	66
20% 20 dias	88	80
30% 20 dias	84	77
40% 20 dias	89	70
50% 20 dias	84	73
60% 20 dias	89	82
Testemunha	83	74

Num trabalho relacionando vários tipos de sementes, instalações e formas de empacotamento, Hamel (1989) constatou que os resultados obtidos para o milho não reduziram a viabilidade de sementes armazenadas. Os períodos de armazenamento utilizados pelo autor foram de 6 meses e 1 ano. As instalações e formas de empacotamento utilizadas foram: armazém (saco de papel, saco de juta e saco plástico), câmara com ar-condicionado (idem) e câmara com CO<sub>2</sub> (idem). Estes resultados sugerem que, apesar dos resultados obtidos no presente trabalho não irem ao encontro do trabalho do autor acima citado, nada foi encontrado que possa discordar das afirmações acima expostas.

Cuidados devem ser tomados com sementes para plantio, mudas para transplante ou malte. Existem evidências que se a semente destinada para tais usos estiverem em condições indevidas no início do tratamento, o dióxido de carbono pode aumentar a taxa de degradação (deterioração). A germinação não é afetada no milho. A capacidade de armazenamento de todas as sementes é afetada pela temperatura, teor de umidade, variedade e qualidade anterior da semente ao armazenamento. Estes fatores devem sempre serem levados em consideração antes de qualquer semente ser levada para armazenagem (AFHB/ACIAR, 1990).

A utilização do dióxido de carbono não provocou queda na qualidade das sementes. O baixo índice de germinação e vigor de sementes pode ter sido causada pelo armazenamento das sementes, antes do início do experimento, em teores de umidade que não são adequados à perfeita armazenagem. De acordo com Carvalho & Nakagawa (1980), teores de umidade entre 12 - 14% permitem uma respiração ativa das sementes, que causam perda do vigor e eventuais quedas de germinação. Isso se dá porque, pela respiração, a semente libera água de constituição química para o ambiente, aumentando a umidade relativa no interior da embalagem.

### 4.3 UTILIZAÇÃO DO DIÓXIDO DE CARBONO NO CONTROLE DO *Sitophilus zeamais*

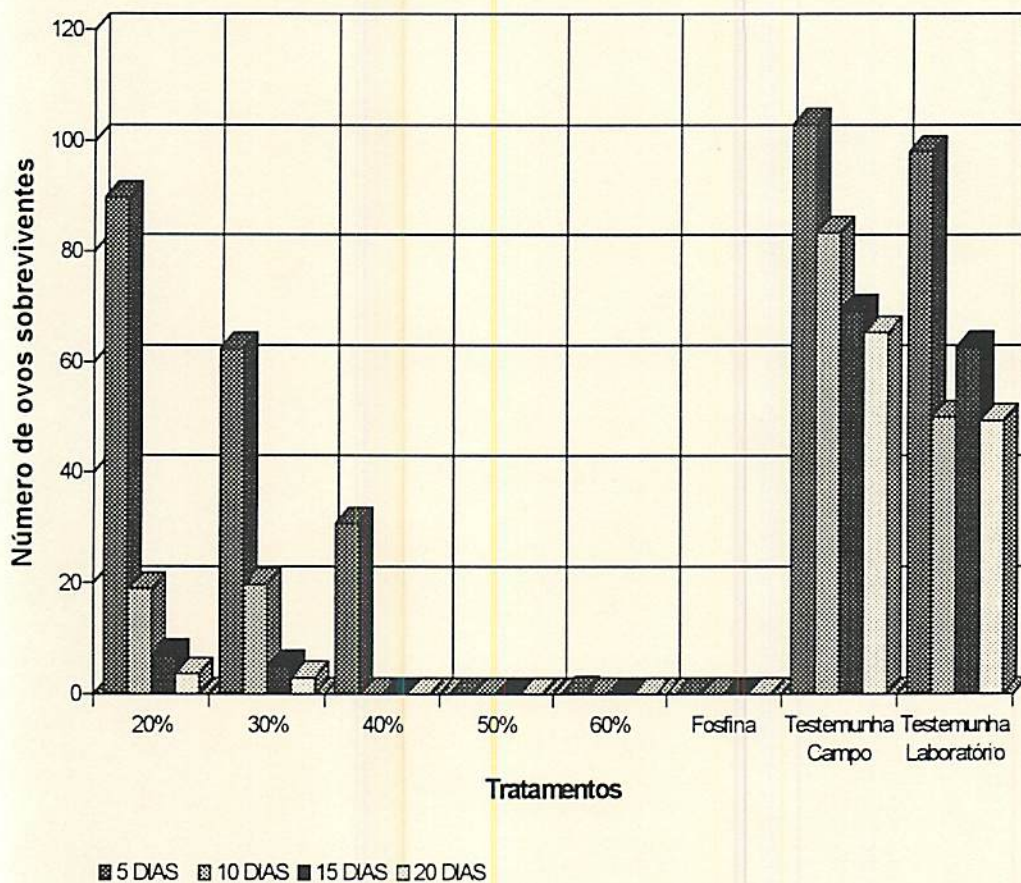
#### 4.3.1 FASE UM COM 0 a 6 DIAS DE IDADE (Ovo)

Os valores de sobrevivência dos insetos obtidos pelos 5 teores de dióxido de carbono, pela fosfina, utilizada neste trabalho como padrão e as testemunhas (campo e laboratório), estão apresentados no Gráfico 1. Os resultados do controle dos insetos estão na Tabela 5.

A característica que limita a eficiência de um fumigante é a taxa de respiração do inseto-alvo. Quanto maior a taxa respiratória, mais letal torna-se o gás. Uma propriedade do dióxido de carbono é a capacidade de aumentar a taxa respiratória do ser vivo que se encontra fechado em ambientes com baixos teores de oxigênio e altos teores de CO<sub>2</sub>. O aumento da taxa respiratória também aumenta a concentração do próprio CO<sub>2</sub>. A quantidade de dióxido de carbono liberado pelo ser vivo encerrado num ambiente hermético varia de acordo com o massa corporal e taxa respiratória.

A quantidade de CO<sub>2</sub> expelida por um ovo da espécie *S. zeamais*, dentro de um ambiente de armazenamento, é infinitamente pequena e não se deve imaginar que possa proporcionar algum tipo de elevação do teor do gás dentro do ambiente. Portanto é a dose de dióxido de carbono injetada no ambiente hermético que irá atuar sobre o ser vivo, provocando uma morte por asfixia.

Gráfico 1: Número de *Sitophilus zeamais* com idade de 0 a 6 dias de idade (predominantemente ovos) sobreviventes à exposição a diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e ao controle (1,0 g p.a./m<sup>3</sup> - fosfina).



No período de 5 DIAS de exposição, o teor de 20% de CO<sub>2</sub> apresentou um nível de controle de 10,78%, em relação à média das testemunhas. O teor de 30% de CO<sub>2</sub> também apresentou alta incidência de insetos vivos após expurgo, com nível de controle de 37,98%. O teor de dióxido de carbono de 40% foi mais eficiente no controle dos ovos do inseto, porém ainda não satisfatório. O nível de controle observado foi de 69,48%. O teor de 50% foi estatisticamente igual ao teor de 60% e também ao controle (fosfina), todos apresentando 100% de eficiência no controle dos insetos.

Tabela 5: Separação de médias<sup>1</sup> e nível de controle obtido (%) pelos teores de CO<sub>2</sub> e 1,0 g p.a. de fosfina/m<sup>3</sup>, em relação ao número de insetos sobreviventes na média das testemunhas na fase 1 (ovo).

Tratamento	Período de exposição (dias) <sup>2</sup>			
	5	10	15	20
20% CO <sub>2</sub>	10,78 a	71,5 b	89,4 b	93,6 b
30% CO <sub>2</sub>	37,98 b	70,49 b	92,42 b	94,77 b
40% CO <sub>2</sub>	69,48 c	100,0 c	100,0 c	100,0 c
50% CO <sub>2</sub>	100,0 d	100,0 c	100,0 c	100,0 c
60% CO <sub>2</sub>	100,0 d	100,0 c	100,0 c	100,0 c
Fosfina (1,0 g p.a./m <sup>3</sup> ) <sup>3</sup>	100,0 d	100,0 c	100,0 c	100,0 c
Testemunha - 0% CO <sub>2</sub> <sup>4</sup>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra são estatisticamente iguais segundo o teste de Duncan ao nível de 1% de probabilidade.

<sup>2</sup>Média de três repetições

<sup>3</sup>Período de exposição de 5 dias, independente dos períodos utilizados pelo dióxido de carbono.

<sup>4</sup>Média das testemunhas de campo e laboratório. Valores relativos ao número de insetos controlados pelo dióxido de carbono.

No período de exposição de 10 DIAS, o teor de CO<sub>2</sub> apresentou um nível de controle de 71,5%, em relação à média das testemunhas. O teor de 30% de dióxido de carbono apresentou um nível de controle de 70,49%. Os teores de 40%, 50% e 60% de CO<sub>2</sub>, além da fosfina (controle com 5 dias de exposição), obtiveram 100% de controle dos insetos.

No período de exposição para 15 DIAS, o percentual de insetos que foram controlados no teor de 20% de CO<sub>2</sub> foi de 89,4%. Para o teor de CO<sub>2</sub> de 30%, o nível de controle foi de 92,42%. Para os teores de dióxido de carbono de 40%, 50% e 60%, tal como a fosfina, a eficiência observada foi de 100%.

No período de exposição de 20 DIAS, os teores de 20% e 30% de CO<sub>2</sub> tornaram-se mais eficientes na mortalidade dos ovos do *S. zeamais*. O teor de 20% apresentou um nível de controle de 93,6% de insetos sobreviventes. O teor de 30% apresentou um nível de controle de 94,77%. Completo



controle foi obtido pelos teores de 40%, 50% e 60% de CO<sub>2</sub>, que se apresentaram como os mais eficientes para se controlar os ovos do *S. zeamais*, confirmando os resultados obtidos com 15 dias e concordando com os dados da AFHB/ACIAR (1990). O mesmo resultado obteve a fosfina.

#### 4.3.2 FASE 2 COM 7 a 12 DIAS DE IDADE (Larva 1º Instar)

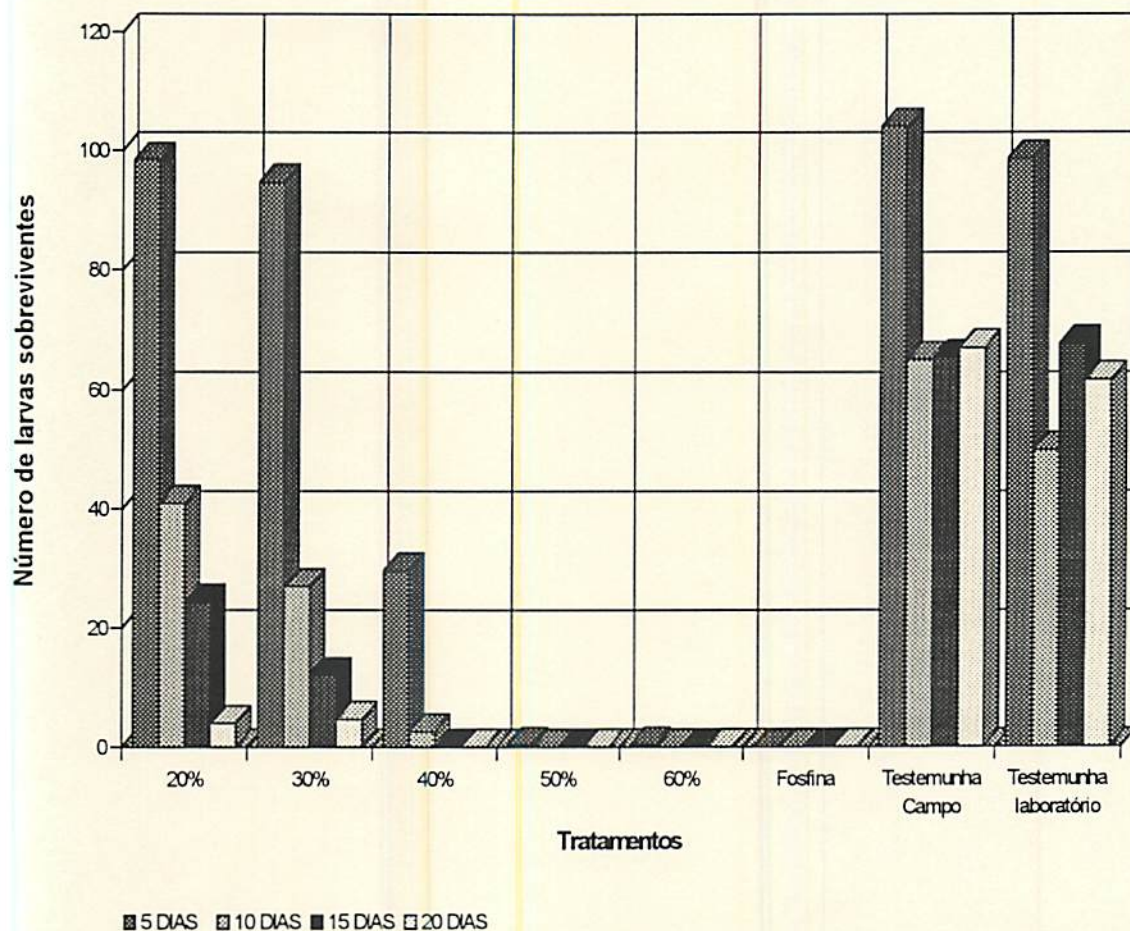
Os resultados obtidos em relação à fase 2 estão apresentados no Gráfico 2 e na Tabela 6:

A larva do 1º instar, predominante nesta faixa de idade, possui grande voracidade e alta atividade respiratória. Porém, sendo uma fase do inseto que se desenvolve no interior do grão, é difícil de ser controlada através de fumigação devido a dificuldade de penetração do gás dentro do grãos. Pelos resultados obtidos, constatou-se a importância da combinação do teor de dióxido de carbono com o período de exposição.

**No período de exposição de 5 DIAS**, a mortalidade de larvas observadas com os teores de 20% e 30% de CO<sub>2</sub> não apresentou diferença das testemunhas. O teor de 20% apresentou, pela média das duas testemunhas, um nível de controle de 2,97%. O teor de 30% apresentou um nível de controle de 6,58%. O teor de 40% de CO<sub>2</sub> apresentou, na média das testemunhas, o nível de controle de 70,72%. Os teores mais altos, 50% e 60% apresentaram um nível de controle de 99,67%. A fosfina foi o único tratamento que apresentou 100% de controle das larvas do *S. zeamais* na idade de 7 a 12 dias.

**No período de exposição de 10 DIAS**, o teor de 20% de dióxido de carbono apresentou o percentual de controle de 28,7%, em relação a média das testemunhas. O teor de 30% de CO<sub>2</sub> apresentou um nível de controle de 53,04%, que é ainda um valor baixo; já o teor de 40% de CO<sub>2</sub> apresentou um percentual de controle de 95,36%, que embora alto, este nível de controle só poderia ser utilizado com restrições, pois atualmente a indústria exige grãos completamente isentos de insetos. Os teores de 50% de CO<sub>2</sub> e 60% de CO<sub>2</sub> e a fosfina conseguiram controlar completamente o estágio larvar de 7-12 dias de idade do *S. zeamais*. Deve-se ressaltar que resultados semelhantes foram obtidos com estes teores para o período de exposição de 5 dias.

Gráfico 2: Número de *Sitophilus zeamais* com idade de 7 a 12 dias de idade (predominantemente larva do 1º instar) sobreviventes à exposição a diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e ao controle (1,0 g p.a./m<sup>3</sup> - fosfina).



No período de exposição de 15 DIAS, o teor de 20% de CO<sub>2</sub> apresentou um nível de controle de 63,41%. O teor de 30% de CO<sub>2</sub>, por sua vez, apresentou um percentual de extermínio de 81,96%. Os teores de 40%, 50% e 60% de CO<sub>2</sub> apresentaram comportamento semelhante à dosagem de 1,0 g p.c./m<sup>3</sup> de fosfina, com 100% de controle dos insetos, em relação à média das testemunhas.

No período de exposição de 20 DIAS, os resultados apresentados mostraram que os teores de 40%, 50% e 60% de CO<sub>2</sub>, além do controle (fosfina), alcançaram um nível de controle de 100%. Os teores de 20% e 30% de dióxido de carbono controlaram satisfatoriamente, com valores de 93,78% e 92,74%, respectivamente em relação à média das testemunhas.

Tabela 6: Separação de médias<sup>1</sup> e nível de controle obtido (%) pelos teores de CO<sub>2</sub> e 1,0 g p.a. de fosfina/m<sup>3</sup>, em relação ao número de insetos sobreviventes na média das testemunhas na fase 2 (larva1º instar).

Tratamento	Período de exposição (dias) <sup>2</sup>			
	5	10	15	20
20% CO <sub>2</sub>	2,97 a	28,7 b	63,41 b	93,78 b
30% CO <sub>2</sub>	6,58 a	53,04 c	81,96 c	92,74 b
40% CO <sub>2</sub>	70,72 b	95,36 d	100,0 d	100,0 c
50% CO <sub>2</sub>	99,67 c	100,0 e	100,0 d	100,0 c
60% CO <sub>2</sub>	99,67 c	100,0 e	100,0 d	100,0 c
Fosfina (1,0 g p.a./m <sup>3</sup> ) <sup>3</sup>	100,0 c	100,0 e	100,0 d	100,0 c
Testemunha - 0% CO <sub>2</sub> <sup>4</sup>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra são estatisticamente iguais segundo o teste de Duncan ao nível de 1% de probabilidade.

<sup>2</sup>Média de três repetições

<sup>3</sup>Período de exposição de 5 dias, independente dos períodos utilizados pelo dióxido de carbono.

<sup>4</sup>Média das testemunhas de campo e laboratório. Valores relativos ao número de insetos controlados pelo dióxido de carbono.

Nesta fase, apenas os teores de 50% e 60% podem ser passíveis de aplicação no período de 10 dias. Os resultados apresentados no período de 15 dias confirmam os estudos da AFHB/ACIAR (1990), que estabelece teores acima de 35% neste período de exposição para serem eficientes no controle do *S. zeamais*. Os resultados que foram obtidos no período de exposição de 20 dias apenas confirmaram os resultados do período de exposição de 15 dias. O período de exposição de 5 dias não apresentou resultados satisfatórios em nenhum dos cinco teores de dióxido de carbono utilizados, sendo somente a fosfina adequada para utilização neste período.

#### 4.3.3 FASE 3 COM 13 a 18 DIAS DE IDADE (Larva 2º Instar)

A fase de larva de 2º instar corresponde a uma fase onde se detecta uma atividade respiratória mais intensa, em comparação com as fases de ovo e pupa, que são fases latentes do inseto. Os resultados obtidos pela fase 3 estão apresentados no Gráfico 3 e na Tabela 7:

Gráfico 3: Número de *Sitophilus zeamais* com idade de 13 a 18 dias de idade (predominantemente larva do 2º instar) sobreviventes à exposição a diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e ao controle (1,0 g p.a./m<sup>3</sup> - fosfina).

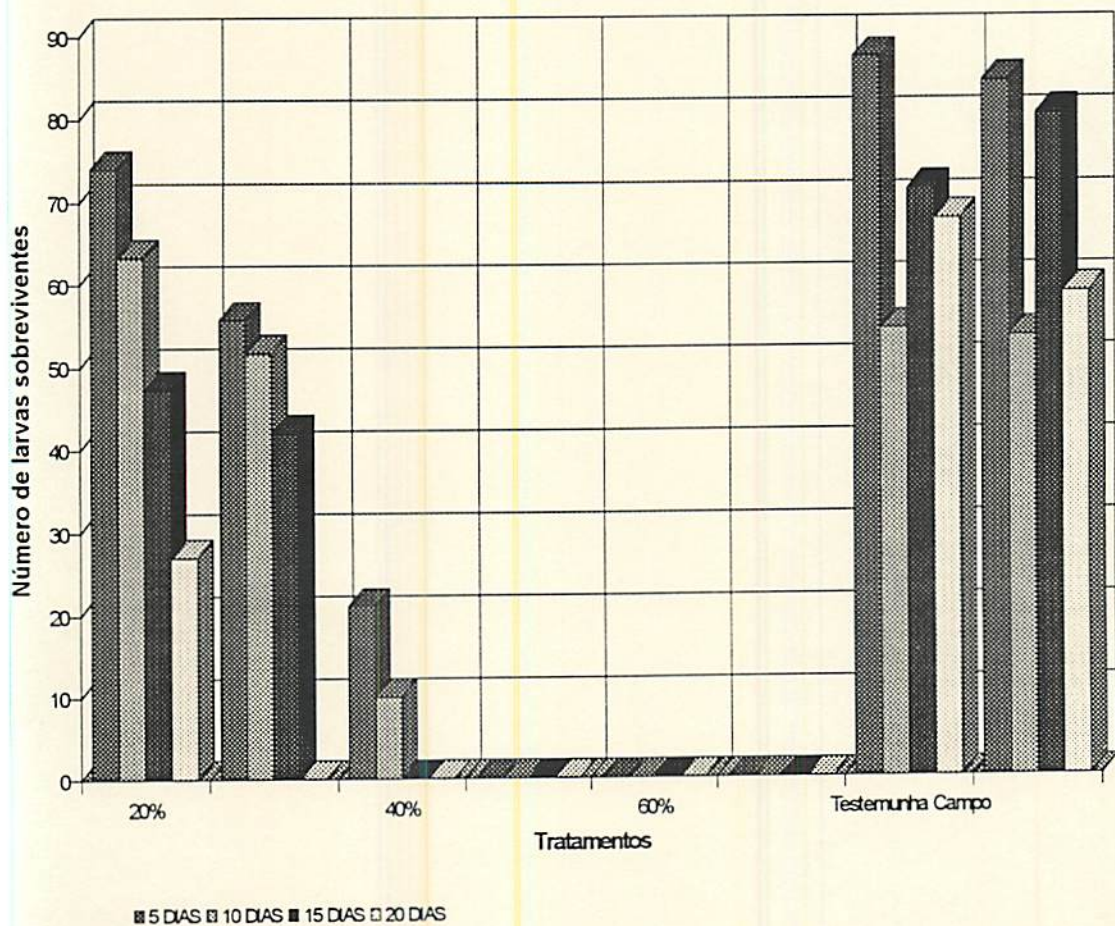


Tabela 7: Separação de médias<sup>1</sup> e nível de controle obtido (%) pelos teores de CO<sub>2</sub> e 1,0 g p.a. de fosfina/m<sup>3</sup> (%), em relação ao número de insetos sobreviventes na média das testemunhas na fase 3 (larva 2º instar).

Tratamento	Período de exposição (dias) <sup>2</sup>			
	5	10	15	20
20% CO <sub>2</sub>	13,78 b	9,35 b	37,58 b	57,26 b
30% CO <sub>2</sub>	35,14 c	12,17 b	44,61 b	70,45 c
40% CO <sub>2</sub>	75,53 d	83,0 c	100,0 c	100,0 d
50% CO <sub>2</sub>	100,0 e	100,0 d	100,0 c	100,0 d
60% CO <sub>2</sub>	100,0 e	100,0 d	100,0 c	100,0 d
Fosfina (1,0 g p.a./m <sup>3</sup> ) <sup>3</sup>	100,0 e	100,0 d	100,0 c	100,0 d
Testemunha - 0% de CO <sub>2</sub> <sup>4</sup>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra são estatisticamente iguais segundo o teste de Duncan ao nível de 1% de probabilidades.

<sup>2</sup>Média de três repetições

<sup>3</sup>Período de exposição de 5 dias, independente dos períodos utilizados pelo dióxido de carbono.

<sup>4</sup>Média das testemunhas de campo e laboratório. Valores relativos ao número de insetos controlados pelo dióxido de carbono.

Para o período de exposição de 5 DIAS, os teores de dióxido de carbono de 50% e 60% obtiveram um nível de controle de 100%, resultado também obtido pela fosfina (controle). O teor de 40% de CO<sub>2</sub> obteve um percentual de controle 75,53%, na média das testemunhas que, a nível de utilização prática, não é satisfatório, pois atualmente exige-se grãos completamente livres de insetos, além da possibilidade dos insetos sobreviventes adquirirem resistência e transmiti-la aos seus descendentes, conforme estudos de Bateman (1985), Champ (1986), Dyte (1990) e Tipping *et al.* (1989). Os teores de 20% e 30% de CO<sub>2</sub> também não se mostraram eficazes no controle do *S. zeamais* nesta fase que corresponde principalmente ao 2º instar larval. O teor de 30% apresentou um percentual para controle de 35,14%, ao passo que o teor de 20% controlou apenas 13,78% das larvas que infestavam as amostras de milho.

No período de exposição de 10 DIAS, o teor de 20% de CO<sub>2</sub> diferiu das testemunhas, porém apresentou um nível de controle de apenas 9,35%, em relação às testemunhas. O teor de 30% obteve um nível de controle de 12,17%. O teor de 40% de dióxido de carbono obteve um nível de controle de 83%, que ainda não o habilita para recomendação. Já os teores de 50%, 60% e a fosfina apresentaram percentual de controle de 100%, sendo passíveis de utilização.

No período de exposição de 15 DIAS, os teores de dióxido de carbono de 20% e o teor de 30% não se diferenciaram, apresentando níveis de controle de 37,58% e 44,61%. Os teores de 40%, 50%, 60% e a dose de fosfina aplicada (1,0 g p.a./m<sup>3</sup>) foram plenamente eficazes e erradicaram as larvas presentes nas amostras.

O período de exposição de 20 DIAS foi o que, de modo geral, apresentou menor número de insetos sobreviventes nos diferentes teores de CO<sub>2</sub>. Isto comprova a importância da período de exposição para efeito de controle das larvas. Os valores dos níveis de controle foram, em relação às testemunhas, os seguintes: 20% de CO<sub>2</sub> = 57,26%; 30% de CO<sub>2</sub> = 70,45%; 40%, 50%, 60% de CO<sub>2</sub> e fosfina = 100%.

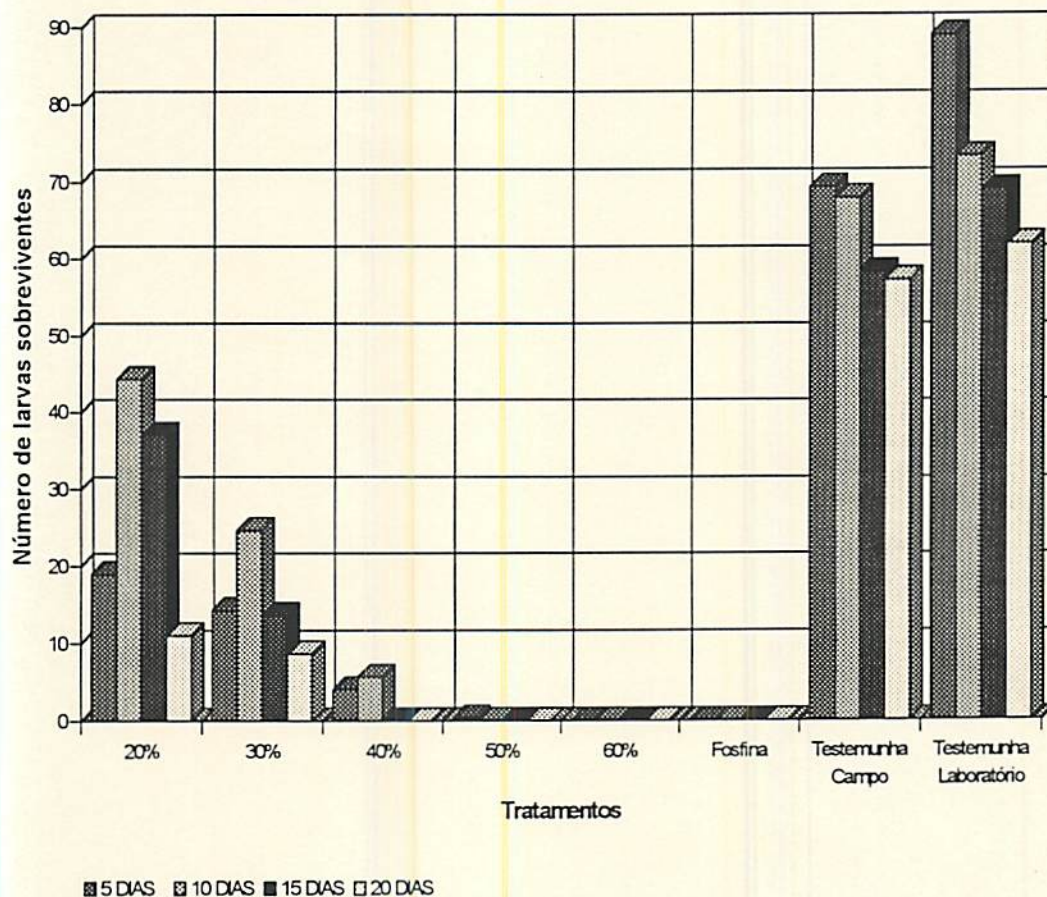
#### 4.3.4 - FASE QUATRO COM 19 a 24 DIAS DE IDADE (Larva 3º Instar)

Nesta faixa de idade as larvas estão predominantemente no 3º instar de desenvolvimento. Os resultados obtidos pelos tratamentos, controle e testemunhas estão apresentados no Gráfico 4 e na Tabela 8.

No período de exposição de 5 DIAS, ao contrário do que foi observado nas outras fases, o teor de dióxido de carbono de 50% não foi tão eficiente quanto o teor de 60% e a fosfina, que apresentaram 100% de controle. Neste período de exposição, o percentual de eficiência no controle do *S. zeamais* do teor de 50% foi de 99,58%, em relação às testemunhas. O teor de 40% de CO<sub>2</sub> apresentou um rendimento de 94,95%, que pode ser considerado, a nível de possibilidade de estabelecimento de resistência, apenas razoável. Os teores de 30% de CO<sub>2</sub> e o teor de 20% de CO<sub>2</sub> apresentaram

comportamento estatístico semelhante, apesar do teor de 30% (81,9%) ter sido ligeiramente mais eficiente do que o teor de 20% (76,0%).

Gráfico 4: Número de *Sitophilus zeamais* com idade de 19 a 24 dias de idade (predominantemente larva do 3º instar) sobreviventes à exposição a diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e ao controle (1,0 g p.a./m<sup>3</sup> - fosfina).



No período de exposição de 10 DIAS, a eficiência do teor de 50% de CO<sub>2</sub> foi igual a do teor de 60% e o controle (fosfina), que controlaram totalmente os insetos. Com o aumento do período de exposição, os teores de 40% de CO<sub>2</sub>, 30% de CO<sub>2</sub> e 20% de CO<sub>2</sub> apresentaram comportamentos diferenciados mostrando que, a medida que se diminui a concentração do dióxido de carbono, tende-se a obter um controle menos eficiente dos insetos. O percentual de eliminação dos insetos obtido

pelo teor de CO<sub>2</sub> de 40% foi de 91,98%; o percentual obtido de teor de 30% foi de 65,10%; e pelo teor de 20% o percentual de controle foi de 37,27%.

Tabela 8: Separação de médias<sup>1</sup> e nível de controle obtido (%) pelos teores CO<sub>2</sub> e 1,0 g p.a. de fosfina/m<sup>3</sup>, em relação ao número de insetos sobreviventes na média das testemunhas na fase 4 (larva 3º instar).

Tratamento	Período de exposição (dias) <sup>2</sup>			
	5	10	15	20
20% CO <sub>2</sub>	76,0 b	37,27 b	41,88 b	81,56 b
30% CO <sub>2</sub>	81,9 b	65,1 c	78,53 c	85,47 b
40% CO <sub>2</sub>	94,95 c	91,98 d	100,0 d	100,0 c
50% CO <sub>2</sub>	99,58 d	100,0 e	100,0 d	100,0 c
60% CO <sub>2</sub>	100,0 d	100,0 e	100,0 d	100,0 c
Fosfina (1,0 g p.a./m <sup>3</sup> ) <sup>3</sup>	100,0 d	100,0 e	100,0 d	100,0 c
Testemunha - 0% CO <sub>2</sub> <sup>4</sup>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra são estatisticamente iguais segundo o teste de Duncan ao nível de 1% de probabilidade.

<sup>2</sup>Média de três repetições

<sup>3</sup>Período de exposição de 5 dias, independente dos períodos utilizados pelo dióxido de carbono.

<sup>4</sup>Média das testemunhas de campo e laboratório. Valores relativos ao número de insetos controlados pelo dióxido de carbono.

**Aumentando-se o período de exposição para 15 DIAS**, o teor de dióxido de carbono de 40% alcançou um nível de controle de 100% e conseguiu igualar sua eficiência aos teores maiores e também ao controle. Neste período de exposição, os teores de 40%, 50% e 60%, além da fosfina (controle), foram totalmente eficientes. O teor de 30% obteve um nível de controle de 78,53% e o teor de 20% obteve um nível de controle de 41,88%, em relação à média das testemunhas.

**Os resultados obtidos no período de exposição de 20 DIAS** apresentaram que os teores de 20% e 30% foram estatisticamente semelhantes, apesar do teor de 30% ter apresentado um comportamento ligeiramente superior (85,47%, na média das testemunhas, contra 81,56%, valor obtido



pelo teor de 20% de dióxido de carbono). Os teores maiores, 40%, 50% e 60% de CO<sub>2</sub>, além do controle (fosfina), apresentaram percentual de controle de 100%.

#### 4.3.5 FASE CINCO (25-30 DIAS DE IDADE) -Larva 4º Instar

A fase larva de 4º instar caracteriza-se por ser uma fase onde o inseto inicia uma redução na sua atividade respiratória por entrar num estágio de "pré-pupa". Os resultados obtidos pelos métodos de controle utilizados estão apresentados no Gráfico 5 e na Tabela 9.

Para combater insetos na fase de desenvolvimento equivalente ao 4º instar com expurgo, **no período de exposição de 5 DIAS**, o único tratamento de controle que conseguiu uma eficiência de 100% foi com 1,0 g.p.c. de fosfina. O teor de 60% de CO<sub>2</sub>, apesar de apresentar um controle de 99,64%, em relação à média das testemunhas, não foi completamente eficaz. O teor de 50% apresentou um rendimento de 97,11% e, de forma semelhante ao do teor de 60%, poderia ser utilizado com restrições. O teor de 40% apresentou um percentual médio de 93,5% de controle. O teor de 30%, por sua vez, apresentou um rendimento de 83,4% e se mostrou de eficiência apenas razoável neste período de exposição. O teor de 20% apresentou um nível de controle de 66,07%, considerado muito baixo para utilização.

**Os resultados apresentados no período de exposição de 10 DIAS** mostraram que o teor de 20% de CO<sub>2</sub> obteve um rendimento muito abaixo do esperado, talvez pela idade das larvas, que poderiam estar entrando num período de pré-pupa e diminuindo sua atividade respiratória. O teor de 30% também apresentou um baixo índice de controle dos insetos. Neste período de exposição, o início do experimento sofreu um atraso de dois dias antes de ser iniciado e este pode ter sido o motivo para os altos níveis de sobrevivência constatado nos teores que não são plenamente eficientes no controle do *S. zeamais*. Ainda assim, manteve-se a tendência do teor de 30% ser mais eficiente do que o teor de 20%, com valores médios de 36,87% contra 13,27%. O teor de 40% apresentou uma eficiência de 91,15%, ao passo que o teor de 50% apresentou um índice de controle de 98,81%. O teor de 60% e o tratamento com fosfina atingiram 100% de eficiência.

**Para o período de exposição de 15 DIAS**, o teor de 20% foi, entre todos os tratamentos utilizados para o controle, o que apresentou menor controle, com valor médio de 55,43%. O teor de 30% apresentou uma redução drástica no número de insetos sobreviventes em relação ao teor anterior, com nível médio de controle de 87,1%. Os teores de 40%, 50% e 60% de dióxido de carbono equipararam-se ao controle (fosfina) e obtiveram, todos, 100% de nível de eliminação dos insetos.

Gráfico 5: Número de *Sitophilus zeamais* com idade de 25 a 30 dias de idade (predominantemente larva do 4º instar) sobreviventes à exposição a diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e ao controle (1,0 g p.a./m<sup>3</sup> - fosfina).

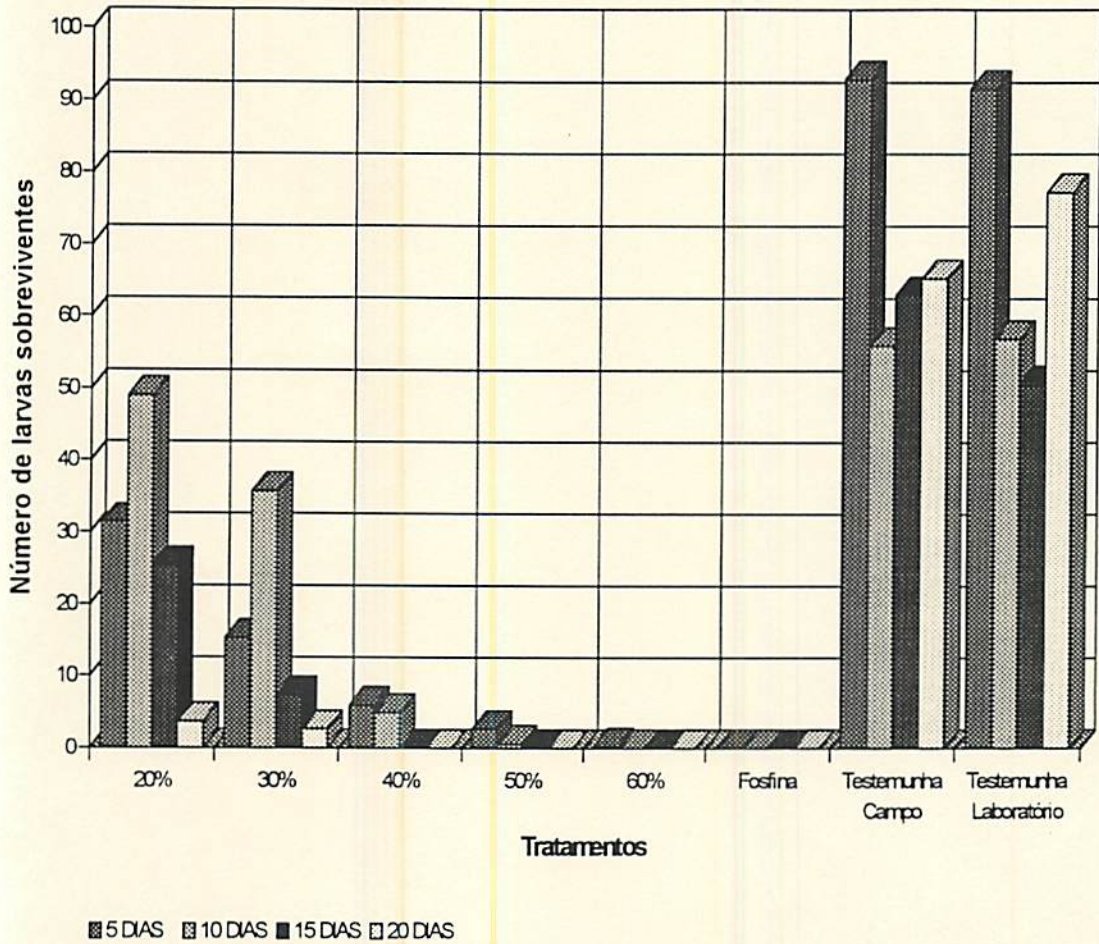


Tabela 9: Separação de médias<sup>1</sup> e nível de controle obtido (%) pelos teores de CO<sub>2</sub> e 1,0 g p.a. de fosfina/m<sup>3</sup> (%), em relação ao número de insetos sobreviventes<sup>1</sup> na média das testemunhas na fase 5 (larva 4º instar).

Método de controle	Período de exposição (dias) <sup>2</sup>			
	5	10	15	20
20% CO <sub>2</sub>	66,07 b	13,27 a	55,43 b	94,86 b
30% CO <sub>2</sub>	83,4 c	36,87 b	87,1 c	96,26 b
40% CO <sub>2</sub>	93,5 d	91,15 c	100,0 d	100,0 c
50% CO <sub>2</sub>	97,11 d	98,81 d	100,0 d	100,0 c
60% CO <sub>2</sub>	99,64 e	100,0 d	100,0 d	100,0 c
Fosfina (1,0 g p.a./m <sup>3</sup> ) <sup>3</sup>	100,0 e	100,0 d	100,0 d	100,0 c
Testemunha - 0 % CO <sub>2</sub> <sup>4</sup>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra são estatisticamente iguais segundo o teste de Duncan ao nível de 1% de probabilidade.

<sup>2</sup>Média de três repetições

<sup>3</sup>Período de exposição de 5 dias, independente dos períodos utilizados pelo dióxido de carbono.

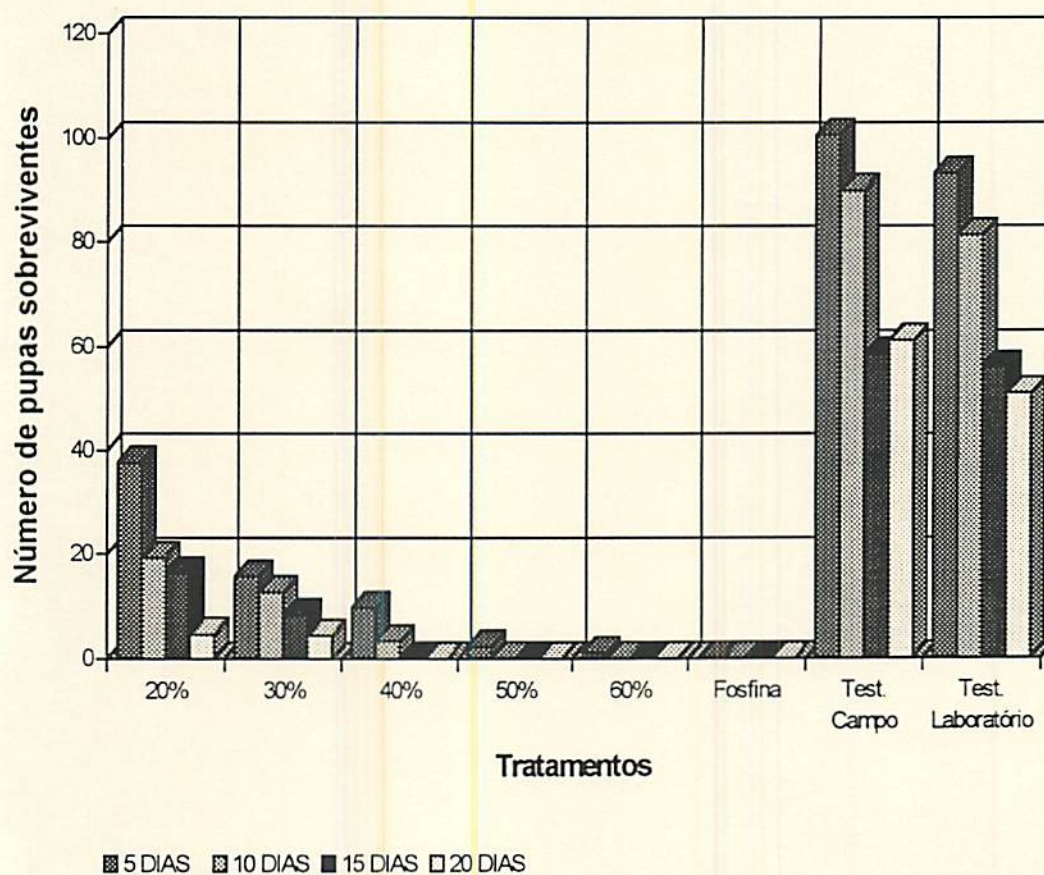
<sup>4</sup>Média das testemunhas de campo e laboratório: Valores relativos ao número de insetos controlados pelo dióxido de carbono.

Após a abertura das câmaras e posterior avaliação, em laboratório, visando a observação e avaliação dos insetos sobreviventes, o período de exposição de 20 DIAS mostrou que, à medida que se aumenta o período de exposição, os insetos tornam-se menos tolerantes ao dióxido de carbono. O número de larvas que foram controladas no teor de 20% de CO<sub>2</sub> foi de 94,86%. Quando expostos a teor de 30%, o nível de controle foi de 96,26%. Comprovando os resultados obtidos no período de exposição de 15 dias, os teores de dióxido de carbono de 40%, 50% e 60% de CO<sub>2</sub>, neste período, conseguiram erradicar todas as larvas que infestavam as amostras de milho que foram inicialmente infestadas e depositadas nas câmaras com o objetivo de serem tratadas com o gás. As amostras que foram tratadas com a fosfina também apresentaram nível zero de sobrevivência dos insetos.

#### 4.3.6 FASE 6 COM 31 a 36 DIAS DE IDADE (Pupa)

Os resultados obtidos pelos tratamentos estão apresentados no Gráfico 6 e na Tabela 10.

Gráfico 6: Número de *Sitophilus zeamais* com idade de 31 a 36 dias de idade (predominantemente pupa) sobreviventes à exposição a diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e ao controle (1,0 g p.a./m<sup>3</sup> - fosfina).



A Fase 6 é composta predominantemente por pupas do inseto *S. zeamais*. Nesta fase, o inseto realiza sua transformação de larva para adulto, iniciando um processo de “hibernação” onde todas as

suas funções são reduzidas, inclusive respiração. Diante desta situação, este estágio apresenta-se, juntamente com a fase ovo, fases de importância fundamental para o sucesso ou fracasso da fumigação.

Tabela 10: Separação de médias<sup>1</sup> e nível de controle obtido (%) pelos teores de CO<sub>2</sub> e 1,0 g p.a. de fosfina/m<sup>3</sup>, em relação ao número de insetos sobreviventes na média das testemunhas na fase seis (pupa).

Tratamento	Período de exposição (dias) <sup>2</sup>							
	5		10		15		20	
20% CO <sub>2</sub>	61,17	b	77,44	b	71,52	b	91,7	b
30% CO <sub>2</sub>	83,85	c	85,21	c	85,47	c	92,3	b
40% CO <sub>2</sub>	90,03	d	96,11	d	100,0	d	100,0	c
50% CO <sub>2</sub>	97,6	e	100,0	e	100,0	d	100,0	c
60% CO <sub>2</sub>	98,97	ef	100,0	e	100,0	d	100,0	c
Fosfina (1,0 g p.a./m <sup>3</sup> ) <sup>3</sup>	100,0	f	100,0	e	100,0	d	100,0	c
Testemunha - 0 % CO <sub>2</sub> <sup>4</sup>	0,0	a	0,0	a	0,0	a	0,0	a

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra são estatisticamente segundo o teste de Duncan ao nível de 1% de probabilidade.

<sup>2</sup>Média de três repetições

<sup>3</sup>Períodos de exposição de 5 dias, independente dos períodos utilizados pelo dióxido de carbono.

<sup>4</sup>Médias das testemunhas de campo e laboratório. Valores relativos ao número de insetos controlados pelo dióxido de carbono.

No período de exposição de 5 DIAS, os teores de 20%, 30%, 40%, 50% e 60% de CO<sub>2</sub> apresentaram, respectivamente, 61,17%, 83,85%, 90,03%, 97,6% e 98,97% de nível de controle. O único tratamento eficiente, nesta fase, foi o controle (fosfina), com 100% de mortalidade dos insetos.

Os resultados apresentados pelo período de 10 DIAS mostraram que o teor de 20% apresentou uma tendência de diminuição do índice de sobrevivência, com nível de controle de 77,44%. O teor de 30%, por sua vez, apresentou um nível de controle de 85,21%. Mostrando ainda mais que o período de exposição ao gás é fator determinante de sucesso ou fracasso do controle dos insetos, o teor de 40% de CO<sub>2</sub> apresentou uma eficiência ainda maior que os teores anteriores, com um nível de

controle deste teor foi de 96,11%, considerado muito bom, porém ainda ineficiente quando relacionado ao surgimento de resistência do inseto. Os teores de 50% e 60% foram totalmente eficientes e são recomendados para utilização.

**Quando foram expostos ao período de 15 DIAS**, o percentual de controle no teor de 20% foi de 71,52%, em relação a média das testemunhas. O teor de 30% de dióxido de carbono apresentou uma tendência de queda na sobrevivência dos insetos ainda maior, com um nível de controle de 85,47% da população que infestava as amostras. Os teores de 40%, 50% e 60% de CO<sub>2</sub> foram totalmente eficientes no controle dos insetos. A fosfina também obteve 100% de mortalidade dos insetos.

**O período de exposição de 20 DIAS** confirmou a hipótese de que tanto o teor de dióxido de carbono quanto o período de exposição ao qual os insetos forem submetidos influenciam decisivamente na possibilidade ou não de se estabelecer um controle adequado. O teor de 20% de CO<sub>2</sub> confirmou a tendência apresentando 91,7% dos insetos, o maior encontrado nesta fase do inseto. O teor de 30% de CO<sub>2</sub> apresentou um nível de controle de 92,3%. O nível de 40% de dióxido de carbono, confirmando o resultado atingido no período de exposição de 15 dias, obteve resultado idêntico aos teores de 50% e 60%, com 100% de controle das pupas do *S. zeamais*. A fosfina, na dosagem utilizada (1,0 g.p.a./m<sup>3</sup>), no período de 5 dias (recomendação do fabricante), foi plenamente eficiente, juntamente com os teores de 40%, 50% e 60% de CO<sub>2</sub>.

#### **4.3.7 FASE 7 COM MAIS DE 37 DIAS DE IDADE (Insetos adultos)**

O número de insetos sobreviventes aos tratamentos estão apresentados no Gráfico 7 na Tabela 11. Considerando o controle do *S. zeamais* através do dióxido de carbono e da fosfina, que são produtos que atuam na forma de gases, a fase 7, que se constitui da forma adulta, é considerada a mais susceptível devido à sua intensa atividade respiratória, que leva o inseto a inalar uma grande quantidade do gás presente na atmosfera. Para a fase adulta considerou-se um número fixo de insetos, ao contrário das outras fases, na qual os insetos estavam no interior dos grãos e não havia a possibilidade de se precisar o seu número. Para a fase adulta, utilizou-se o valor de 50 insetos para avaliação da sobrevivência.

O período de exposição de 5 DIAS apresentou, para o teor de 20% de CO<sub>2</sub>, um nível de controle de 30,77% em relação a média das testemunhas. O teor de 30% apresentou um nível de controle de 71,15%. Os teores de 40%, 50% e de 60% foram, juntamente com o controle (fosfina) plenamente eficientes no extermínio dos insetos.

Gráfico 7: Número de *Sitophilus zeamais* com idade de mais de 37 dias de idade (insetos adultos) sobreviventes à exposição a diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> e ao controle (1,0 g p.a./m<sup>3</sup> - fosfina).

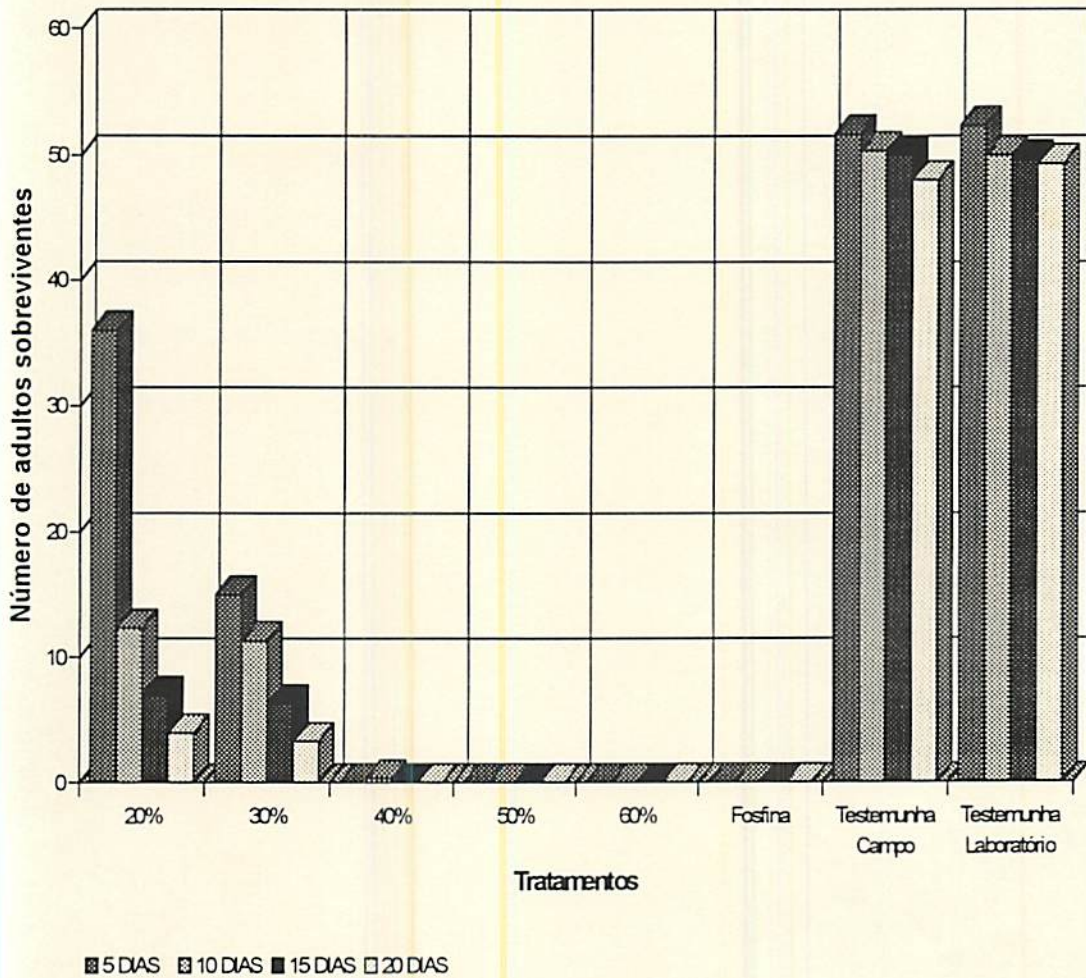




Tabela 11: Separação de médias<sup>1</sup> e nível de controle obtido (%) pelos teores de CO<sub>2</sub> e 1,0 g p.a. de fosfina/m<sup>3</sup>, em relação ao número de insetos sobreviventes<sup>1</sup> na média das testemunhas de campo e de laboratório no controle na fase sete (adulto).

Tratamento	Período de exposição (dias) <sup>2</sup>			
	5	10	15	20
20% CO <sub>2</sub>	30,77 b	75,42 b	85,95 b	91,78 b
30% CO <sub>2</sub>	71,15 c	77,41 b	87,3 b	93,16 b
40% CO <sub>2</sub>	100,0 d	99,34 c	100,0 c	100,0 c
50% CO <sub>2</sub>	100,0 d	100,0 c	100,0 c	100,0 c
60% CO <sub>2</sub>	100,0 d	100,0 c	100,0 c	100,0 c
Fosfina (1,0 g p.a./m <sup>3</sup> ) <sup>3</sup>	100,0 d	100,0 c	100,0 c	100,0 c
Testemunha - 0% CO <sub>2</sub> <sup>4</sup>	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra são estatisticamente iguais segundo o teste de Duncan ao nível de 1% de probabilidade.

<sup>2</sup>Média de três repetições

<sup>3</sup>Períodos de exposição de 5 dias, independente dos períodos utilizados pelo dióxido de carbono.

<sup>4</sup>Médias das testemunhas de campo e laboratório. Valores relativos ao número de insetos controlados pelo dióxido de carbono.

No período de 10 DIAS, o teor de 20% de CO<sub>2</sub> apresentou notável aumento no nível de controle, passando a controlar 75,42% dos insetos. O teor de 30% também obteve um incremento no nível de controle, passando para 77,41%. Motivado, talvez, por uma contaminação ocorrida no laboratório, o teor de 40% apresentou 01 (um) inseto sobrevivente em todas as três amostras, apresentando uma média de 0,33. Com isto, o nível de controle do teor foi de 99,34%, muito próximo do ideal, que foi atingido pelos teores de 50% e 60% de dióxido de carbono, assim como também obteve pleno sucesso o controle (fosfina).

Com o aumento do período de exposição para 15 DIAS, o teor de 20% mostrou-se ainda mais eficiente do que o mesmo teor nos períodos de exposição menores, com um nível de controle de 85,95%. O teor de 30% apresentou um nível de controle de 87,3%. Os teores de 40%, 50% e 60% de

dióxido de carbono foram plenamente eficientes e conseguiram erradicar a infestação das amostras, assim como a fosfina.

**No período de exposição de 20 DIAS** a avaliação das amostras que foram levadas às câmaras mostraram que o teor de 20% de CO<sub>2</sub> não é suficiente para promover completa erradicação dos insetos, apresentando nível de controle de 91,78%. O teor de 30% obteve valor muito próximo do valor de 20% e também não se apresentou como sendo eficiente no controle das infestações. O nível de controle do dióxido de carbono no teor de 30% foi de 93,16%. Os teores de 40%, 50% e 60% apresentaram 100% de eficácia para controlar os insetos e são indicados para utilização. Com 100% de nível de controle, a fosfina mostra que, na dosagem de 1,0g.p.a./m<sup>3</sup>, ainda pode ser utilizada por muito tempo no período de 5 dias de exposição, se observada as condições de dosagem e hermeticidade.

## CONCLUSÕES

O dióxido de carbono é uma alternativa viável para aplicação no controle de pragas em grãos armazenados. A decisão de se trabalhar com o milho e uma das mais importantes pragas que atacam os grãos armazenados, o *Sitophilus zeamais*, criou uma perspectiva interessante para aplicação deste processo de controle desta praga no Brasil.

Para se implantar comercialmente a aplicação do CO<sub>2</sub>, é necessário a utilização de estruturas que possuam capacidade de se tornar ambientes herméticos e a realização de um monitoramento constante para que, depois de aplicado, o teor do gás seja mantido dentro do padrão estipulado.

O teor de 20% não atendeu ao objetivo do experimento. Mesmo no período de exposição de 20 dias não houve completo controle de todas as formas de vida do *Sitophilus zeamais*. Com isso a sua utilização em mistura com ar sintético não é recomendada.

O teor de 30% também falhou no controle dos insetos em todos os períodos de exposição utilizados. Os valores apresentados no período de exposição de 20 dias indicam a possibilidade de sua utilização em períodos maiores, com controle rigoroso na concentração do gás. A viabilidade econômica, em relação a cilindros com concentrações maiores e a disponibilidade de tempo antes da comercialização do grão a ser tratado, serão os fatores que poderão influir decisivamente na aplicabilidade ou não deste teor de gás.

O teor de 40% de dióxido de carbono apresentou-se como eficiente neste experimento. Os bons resultados apresentados no período de exposição de 10 dias e o completo controle dos insetos no

período de exposição de 15 dias, tornam-o recomendável para aplicação neste último período de exposição.

O teor de 50% de CO<sub>2</sub> também foi bastante eficaz no período de exposição de 10 dias. Caso haja um nível de vedação excelente na instalação e um bom nível de controle da concentração do gás, possa-se utilizar este teor sem riscos de sobrevivência na população-alvo de controle. Nos períodos de exposição acima, o controle é ainda mais garantido.

O teor de 60% de dióxido de carbono apresentou-se como o de maior eficiência. Obteve um nível de controle de praticamente 100% no período de exposição de 5 dias da fosfina, porém necessita de um controle de vedação da estrutura perfeito e também deve possuir a concentração do gás sempre perto do ideal. Um expurgo no período de exposição de 10 dias proporciona total eficácia e isenção de resíduos e insetos resistentes.

Na análise das sementes do milho BR-451, as sementes não apresentaram indícios de que o dióxido de carbono possa prejudicar a qualidade fisiológica das sementes. Recomenda-se estudos mais específicos para obtenção de conclusões mais definitivas. Sugere-se o controle da qualidade das sementes antes do início do experimento, testes preliminares de germinação e envelhecimento precoce e a utilização de três ou quatro lotes de amostras por câmara expurgada.

De maneira geral a utilização do dióxido de carbono não afetou as qualidades químicas dos grãos de BR-451 tratados. Por se tratar de um gás inerte, o dióxido de carbono não aumentou ou reduziu significativamente os constituintes do grão. Portanto, recomenda-se a sua utilização visando o controle dos insetos e a manutenção das qualidades químicas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFHB/ACIAR. **Suggested recommendations for the fumigation of grain in ASEAN Region.**

**Part 1. Principles and general practice.** Kuala Lumpur: ASEAN Food Handling Bureau, 1989. 139 p.

AFHB/ACIAR. **Suggested recommendations for the fumigation of grain in ASEAN Region.**

**Part 2. Carbon dioxide fumigation of bag-stacks sealed in plastic enclosures: an operations manual.** Kuala Lumpur: ASEAN Food Handling Bureau, 1990. 58 p.

ANNIS, P.C. Requirements for fumigation and controlled atmospheres as options for pests and quality control in stored grain. In: CHAMP, B.R.; HIGHLEY, E.; BANKS, H.J. (eds.).

**Fumigation and controlled atmosphere storage of grain: proceedings of an international conference,** Singapore, 1989. ACIAR Proceedings, 25: 20-8, 1990.

ANNIS, P.C. **Sealed Storage of Bag-stacks: Status of the Technology.** Singapore: ACIAR,

1986. p.313-321. (Proceedings, 14).

ANNIS, P.C. Towards rational controlled atmosphere dosage schedules: a review of current

knowledge. In: INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED-PRODUCT PROTECTION, 4, Tel-Aviv, 1987. **Proceedings...** Tel-Aviv, 1987. p. 128-148.

- ANNIS, P.C.; GRAVER, J. van S. Sealed stacks as a component of an integrated commodity management system: a potential strategy for continued bag-stack storage in ASEAN Region. In: EVANS, D.E.; WELLISH, P.K. (eds.). **Grain storage in ASEAN: some research and development options**. Canberra: CSIRO Division of Entomology, 1987. (Report, 42). p.630-633.
- AVILA JUNIOR, A. Expurgo de grãos armazenados. **Boletim de Campo**. Rio de Janeiro, v. 36, n. 253, p.17-18, 1973.
- BADMIN, J.S. IRAC survey of resistance of stored grain pests: Results and progress. In: 5<sup>TH</sup> INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED-PRODUCT PROTECTION, 2, Bordeaux, 1990. **Proceedings...** Bordeaux, 1990. p. 695-708.
- BANKS, H.J. Current methods and potential systems for production of controlled atmospheres for grain storage. In: RIPP, B.E.; BANKS, H.J.; BOND, E.J.; CALVERLEY, D.J.; JAY, E.G.; NAVARRO, S. (eds). **Controlled Atmosphere and Fumigation in Grain Storages: Proceedings of an International Symposium**, Perth, Western Australia, 1983. p.523-542.
- BANKS, H.J. Currents and potential systems for production of controlled atmospheres for grain storage. IN: RIPP, B.E. *et al.*, (eds). **Controlled atmosphere and grain fumigation in grain storages**. Amsterdam, Elsevier, 1984. p.523-542.
- BANKS, H.J; ANNIS, P.C.; RIGBY, G.R. Controlled atmosphere storage techniques for grain : the know and the future. In : INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED-PRODUCT PROTECTION, 5, Bordeaux, 1990. **Proceedings...** Bordeaux, 1990. p. 695-708.

- BANKS, H.J.; GRAS, P.W. Effect of modified storage atmosphere on wheat germination and quality: tests at 60°C storage temperature. ANNUAL CONFERENCE RACI, 32, Camberra, 1982. **Proceedings...** Camberra: Cereal Chemistry Division, 1982. p.65-68.
- BASON, M.L.; GRASS, P.W.; BANKS, H.J. Predicting quality changes for rice and maize stored in sealed enclousures. AUSTRALIAN CEREAL CHEMISTRY CONFERENCE, 36, Adelaide, 1986. **Proceedings...** Adelaide: RACI Cereal Chemistry Division, 1987. p.181-86.
- BATEMAN, P.L.G. Pest control of the future. **Food Manufacture**, London, v. 60, n. 11, p. 25-26, 1985.
- BOND, E.J.; MILLER, D.M. A new technique for measuring the combustibility of gases at reduced pressures and its application to the fumigant phosphine. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 24, p. 225-228, 1988.
- BRAGA, G.C.; GUEDES, R.N.C.; SILVA, F.A.P. da; CASTRO, L.H. de. Avaliação da eficiência de inseticidas, isolados e em misturas, no controle de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) em milho armazenado. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 38, n. 220, p.522-528, 1991.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Perdas na agropecuária brasileira**: Relatório preliminar da comissão técnica para redução das perdas na agropecuária, Brasília, 1993. p.15.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regra para Análise de Sementes**, Brasília: AGIPLAN, 1976. 188p.

- CARVALHO, N.M. de; NAKAGAWA, J. Armazenamento. In: CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **SEMENTES: Ciência, Tecnologia e Produção**. Campinas: Fundação Cargill, 1980. p.303-326.
- CHAMP, B.R. Occurrence of resistance to pesticide in grain storage pests. In: CHAMP, B.R.; HIGHLEY, E. (eds.) **Pesticides and Humid Tropical Grain Storage Systems: proceedings of an International Seminar**. Manila: ACIAR, 1986. p.229-255. (Proceedings, 14).
- COTTON, R.T. **Pest of Stored Grain and Grain Products**. Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1963. 318 p.
- DYTE, C.E. Living with resistance strains of stored pests. In: INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED-PRODUCT PROTECTION, Bordeaux, 1990. **Proceedings...** Bordeaux, 1990. p.947-960.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE MILHO E SORGO. **Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1992-1993**. Sete Lagoas, 1994. 342p.
- FLEURAT-LESSARD, F.; Le TORC'H, J.M. Practical approach to purging grain with low oxygen atmosphere for desinfestation of large wheat bins against the granary weevil *Sitophilus granarius*. In: INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED-PRODUCT PROTECTION. Tel-Aviv, 1986. **Proceedings...** Tel-Aviv, 1986. p. 208-217.



- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, GDC. de B.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B. **Manual de Entomologia Agrícola**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1978. 531 p.
- GASSEN, D.N. Aspectos sobre o manejo de pragas em grãos armazenados. In: SIMPÓSIO DE PROTEÇÃO DE GRÃOS ARMAZENADOS, Passo Fundo, 1993. **Anais...** Passo Fundo: EMBRAPA, 1993. p.96-106.
- GRASS, P.W.; BASON, M.L. Biochemical Effects of Storage Atmospheres on Grain and Grain Quality. IN: CHAMP, B.R.; HIGHLEY, E.; BANKS, H.J. **Fumigation and Controlled Atmosphere Storage of Grain : proceedings of an international conference**, Singapore: ACIAR, 1989. p.83-91. (Proceedings, 25).
- GRAVER, J.E. van S. Fumigation and controlled atmospheres as components of integrated commodity management in the tropics. In: CHAMP, B.R.; HIGHLEY, E.; BANKS, H.J. **Fumigation and controlled atmosphere storage of grain: proceedings of an international conference**, Singapore: ACIAR, 1990. p.38-52. (Proceedings, 25).
- GUIFFRÉ, V.; SEGAL, A.I. The flammability limit of pure phosphine-air mixture at atmospheric pressure. In: RIPP, B.E. *et al.* (eds.) **Controlled Atmosphere and Fumigation in Grain Storages**. Amsterdam: Elsevier, 1984. p.343-58.
- GUIMARÃES, P.E. de O.; PARENTONI, S.N.; MAGNAVACA, R.; PACHECO, C.A.P.; VASCONCELOS, M.J.V.; GAMA, E.E.G. e; LOPES, M.A.; SANTOS, M.X. dos; SILVA, A.E. da. Seleção entre e dentro de Famílias de Meios-Irmãos da População de Milho BR-451. EMBRAPA/CNPMS. **Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1988-1991**. Sete Lagoas, 1992. p.168.

- HALL, D.W. **Manipulación y almacenamiento de granos alimenticios en las zonas tropicales y subtropicales.** Roma: FAO, 1971. 400 p.
- HAMEL, D. Seed Viability under Different Storage Conditions. In: CHAMP, B.R.; HIGHLEY, E.; BANKS, H.J. **Fumigation and Controlled Atmosphere Storage of Grain : proceedings of an international conference,** Singapore: ACIAR, 1989. p.265-267. (Proceedings, 25).
- HAYWARD, L.A.W. The importance of *Trogoderma granarium* everts in sahelian countries: systems to reduce food losses and recomendations for the future. In: **Control of infestation by *Trogoderma granarium* and *Prostephanus truncatus* to stored products: proceedings of an International Seminar,** Lome: GTZ, 1984. p.3-65.
- JAY, E.G. Factors affecting the use of carbon dioxide for treating raw and processed agricultural products. IN: **GASGA Seminar on fumigation technology in developing countries,** Slough: Tropical Development and Research Institute, Slough, 1986. p. 173-89.
- JAY, E.G.; d'ORAZIO, R. Progress in the use of controlled atmosphere in actual field situations in the United States. In: RIPP, B.E. *et al.* (eds.) **Controlled Atmosphere and Fumigation in Grain Storages,** Amsterdam: Elsevier, 1984. p.3-13.
- JAY, E.G.; PEARMAN, G.C. Methods of applying carbon dioxide for insect control in stored grain. USDA-SEA, **Advances in Agricultural Technology,** Southern Series, S-13, 1980. 7p.
- JAY, E.G. & PEARMAN, G.C. Susceptibility of two species de *Tribolium* (Coleoptera: Tenebrionidae) to alterations of atmospheric gas concentrations. **Journal of. Stored Products. Research,** Oxford, v. 7, p.181-186, 1971.

- KENT-JONES, D.W.; AMOS, A.J. **Modern cereal chemistry**. 6 ed. London: Taylor Garnett Evans, 1967.
- KRISHNAMURTY, K. Control of insects in food-grains in India. **Tropical Stored Products Information**, London, n. 25, p. 25, 1973.
- LIMA, E de A. Industrialização do milho. In: **Milho, Produção, Pré-processamento e Transformação Agroindustrial**. Piracicaba, 1982. p. 77-112.
- LORINI, I. Pragas de grãos de trigo e milho armazenados. In: CONSERVAÇÃO DE GRÃOS DE TRIGO E MILHO EM SILOS E ARMAZÉNS, Passo Fundo, 1992. **Anais... Passo Fundo: EMBRAPA/CNPT**, 1993. p. 1-10.
- MACIEL, M.R.; EL-DASH, A. Avaliação da farinha de 23 cultivares de milho de alta qualidade protéica em mistura com a farinha de trigo para panificação .In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos. **Relatório Técnico CTAA-EMBRAPA, 1988**.
- MAGNAVACA, R.; PAIVA, E.; WINKLER, E.I.; CARVALHO, E.W.L. de; SILVA FILHO, M. de C.; PEIXOTO, M.J.V.V.D. Avaliação de Populações de Milho de Alta Qualidade Protéica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 11, p.1263-1268. 1988.
- MAZZARI, M.R.; COELHO, D.T., PAPE, G.; KIBUUKA, G.K. **Fubá de milho branco e pré-gelatinizado por extrusão, em mistura com farinha de trigo, para a produção de pães, I Efeito na composição química, características visco-amilógraficas e reologia**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 1982. 27p. (Boletim de Pesquisa, 3).

NAVARRO, S. The effects of low oxygen tensions on the three stored-products insects pests.

**Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 6, p. 51-58, 1978.

PAES, M.C.D. Perspectivas Nutricionais do Milho de Alta Qualidade Protéica. In: **International**

**Symposium on Quality Protein Maize: Improvement and Use**. Sete Lagoas:

EMBRAPA/CNPMS, 1994. 16p.

PARENTONI, S.N.; MAGNAVACA, R.; PACHECO, C.A.P.; PEIXOTO, M.J.V.V.D.; GAMA,

E.E.G.; GUIMARÃES, P.E. de O. Avaliação em Topcross de Linhagens Amarelas de Alta

Qualidade Protéica (QPM). In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA.

Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo. **Relatório Técnico Anual do Centro**

**Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, 1992. 247p.

PEIXOTO, M.J.V.V.D.; PAIVA, E.; FELDMANN, R.O. Caracterização protéica de cultivares de

milho do banco ativo de germoplasma do CNPMS. In: EMPRESA BRASILEIRA DE

PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo. **Relatório**

**Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, 1991.

170p.

PEIXOTO, M.J.V.V.D.; PARENTONI, S.N.; GAMA, E.E.G.; MAGNAVACA, R.; PAIVA, E.; REGO,

M.M. do. Perspectiva de utilização de milhos de alta qualidade protéica no Brasil. **Informe**

**Agropecuário**, Belo Horizonte, v.14, n.165, p 23-34. 1990.

PEREIRA, P.R.V. da S. Principais insetos que atacam grãos armazenados. IN: **SIMPÓSIO DE**

**PROTEÇÃO DE GRÃOS ARMAZENADOS**, Passo Fundo, 1992. **Anais...**, Passo Fundo:

EMBRAPA/CNPQ, 1993. p. 104-116.

- PETERSON, A.; SCHLEGEL, V.; HUMMEL, B.; GUEDET, L.S.; GEDDES; W.F.; CHRISTENSEN, C.M. Grain storages studies XII. Influence of carbon dioxide on mould growth and grain deterioration. **Cereal chemistry**, St. Paul, v. 33, p.53-56, 1956.
- PONTON, B.A.; BRIGGS, M.A. Controlling malting losses with anoxia, carbon dioxide ,and sulfur dioxide. **Journal of the Institute of Brewers**, London, v. 75, p.383-391, 1969.
- PROZELL, S.; REICHMUTH, C. Response of granary weevil *Sitophilus granarius* (L.) to controlled atmospheres under high pressure In: INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED-PRODUCT PROTECTION, 5, Bordeaux, 1990. **Proceedings...** Bordreaux, 1990. p.911-921.
- PUZZI, D. **Abastecimento e armazenagem de grãos**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1986. 604 p.
- PUZZI, D. **Manual de Armazenamento de grãos: Armazéns e Silos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1977. 405 p.
- REICHMUT, C. Response of the granary weevil *Sitophylus granarius* (L.) to gradually increasing and decreasing phosphine concentrations. **Anzeiger fuer Schaedlingskunde, Pflanzenschutz und Umweltschutz**, v. 58, p.101-106, 1985.
- RIPP, B.E.; BANKS, H.J.; BOND,E.J.; CALVERLEY, D.J.; JAY, E.G.; NAVARRO, S. **Controlled Atmosphere and Fumigation in Grain Storages: Proceedings of an International Symposium**, Perth: 1984. 798p.

- ROBERTS, E.H. The viability of rice seed in relation to temperature, moisture content, and gaseous environment. **Annals of Botany**, v. 25, p.381-390, 1961.
- ROSSETO, C.J. **Resistência de milho a pragas da espiga, *Helicoverpa zea* (Boddie), *Sitophilus zeamais* Motschulsky e *Sitotroga cerealella***. Piracicaba:ESALQ, 1972. 144p. (Tese - Doutorado em Entomologia).
- SANTOS, J.P. dos. **Controle de insetos durante o armazenamento de grãos por métodos químicos e físicos**. Sete Lagoas: EMBRAPA, 1994. 25 p. (Não publicado).
- SANTOS, J.P. dos. Perdas causadas por insetos em grãos armazenados. In : SIMPÓSIO DE PROTEÇÃO DE GRÃOS ARMAZENADOS, Passo Fundo, 1993a. **Anais...** Passo Fundo: EMBRAPA/CNPT, 1993a. p.9-22.
- SANTOS, J.P. dos. **Recomendações para o controle de pragas de grãos e sementes armazenadas**. IN : BÜLL, L.T.; CANTARELLA, H. **Cultura do milho : fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: POTAFOS, 1993b. p.197-233.
- SANTOS, J.P dos; FONTES, R.A.; MANTOVANI, B.H.M.; *et al.* **Perdas de grãos na cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA, 1994. 10P. (Mimiografado).
- SANTOS, J.P. dos; MAIA, J.D.G.; CRUZ, I. Efeito da infestação pelo gorgulho (*Sitophilus zeamais*) e a traça (*Sitotroga cerealella*) sobre a germinação de sementes de milho. **Pesquisa Agropecuária**. Sete Lagoas: EMBRAPA, v. 25, n. 12, p.1687-92. 1990.

- SINHA, R.N.; WARETER, D.; MUIR, W.E. Carbon dioxide concentrations associated with infestation of stored grain. 3: Infestations in bagged wheat. **Science Aliments**, London, v. 6, p.107- 118. 1986.
- STOREY, C.L. Effect and control of insects affecting corn quality. In:\_\_\_\_. **Corn: Chemistry and Technology**, Kansas: Agricultural Research Service, 1987. p.185-99.
- TIPPING, P.W.; CORNELIUS, P.L.; LEGG, D.E.; PONELEIT, C.G.; RODRIGUEZ, J.G. Inheritance of resistance in whole kernel maize to ovoposition by the maize weevil (Coleoptera: curculionidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 82, n. 5, p.1466- 9, 1989.
- TRAVAGLINI, D.A.; SILVEIRA, E.T.F.; TRAVAGLINI, M.M.E.; *et al.* Processamento de Farinha Composta de Resíduo do Extrato de Soja e Milho. **Boletim do ITAL**, Campinas, v. 17, n. 3, p.275-290. 1980.
- WHITE, N.D.G.; JAYAS, D.S. Control of insects and mites with carbon dioxide in wheat stored at cool temperatures in nonairtight bins. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 84, n. 6, p.1933-42. 1991.
- WHITE, N.D.G.; JAYAS, D.S.; SINHA, R.N. Carbon dioxide as a control agent for the rusty grain Beetle (Coleoptera: Curculionidae) in stored wheat. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 83, n. 1, p.277-88. 1990.
- WILSON, A.D.; BUCHANAN, S.A.; SHARP, A.G. The use in and recirculation of carbon dioxide in welded steel bins in Victoria. In: RIPP, B.E.; BANKS, H.J.; BOND, E.J.; CALVERLEY, D.J.; JAY, E.G.; NAVARRO, S., (eds.). **Controlled atmosphere and fumigation in grain storages : proceedings of an International Symposium**, Perth,p.283-68. 1984.