

ARMAZENAMENTO E PROCESSAMENTO DE PRODUTOS AGRÍCOLAS

EFICÁCIA DA MISTURA DIÓXIDO DE CARBONO-FOSFINA NO CONTROLE DE *Sitophilus zeamais* EM FUNÇÃO DO PERÍODO DE EXPOSIÇÃO¹

Enilce Maria Coelho², Lêda Rita D'Antonino Faroni³, Pedro Amorim Berbert² & José Helvecio Martins³

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da atmosfera modificada (100% CO₂) associada a doses de fosfina no controle de *Sitophilus zeamais* (Motschulsky). Concluiu-se que: o aumento do período de exposição resultou no aumento da eficácia dos tratamentos; as pupas de *S. zeamais* foram mais tolerantes aos tratamentos, enquanto os ovos e as larvas de primeiro ínstar foram mais sensíveis e que a concentração de 0,75 g m⁻³ de fosfina, associada à atmosfera contendo 100% de CO₂, no período de 120 h de exposição, é a mínima necessária para o controle efetivo de todas as fases de desenvolvimento do *S. zeamais*.

Palavras-chave: armazenamento de grãos, atmosfera modificada, dióxido de carbono, fosfina, *Sitophilus zeamais*

EFFECTIVENESS OF THE MIXTURE CARBON DIOXIDE-PHOSPHINE IN THE CONTROL OF *Sitophilus zeamais* AS A FUNCTION OF THE EXPOSURE PERIOD

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of a modified atmosphere (100% of CO₂) associated with three phosphine concentrations (0.25, 0.50, and 0.75 g m⁻³), on the control of different stages of development of the insect *Sitophilus zeamais* (Motschulsky). It was concluded that, in general, (1) an increase in the exposure period caused an increase in the effectiveness of both the treatments with atmosphere containing 100% of CO₂ and atmosphere with ambient air, associated to the phosphine, for all development stages of *Sitophilus zeamais*; (2) the pupae of *Sitophilus zeamais* were the ones with the highest tolerance to the treatments used for control, while the eggs and larvae from the first instar were the ones with lesser tolerance; (4) the concentration of 0.75 g m⁻³ of phosphine associated to the atmosphere containing 100% of CO₂, for the exposure period of 120 h, was the minimum necessary to effectively control all development stages of *Sitophilus zeamais*.

Key words: grains storage, modified atmosphere, carbon dioxide, phosphine, *Sitophilus zeamais*

Recebido em 10/02/2000, Protocolo 016/00

¹ Parte da tese apresentada pelo primeiro autor para obtenção do grau de Doutor em Engenharia Agrícola, pela Universidade Federal de Viçosa

² Professores da Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF/CCTA. CEP 28015 - 620, Campos dos Goytacazes, RJ. E-mail: enilce@uenf.br e pberbert@uenf.br

³ Professores do Departamento de Engenharia Agrícola - DEA/UFV. CEP 36571 - 000, Viçosa, MG. E-mail: lfaroni@mail.ufv.br

INTRODUÇÃO

O Brasil colhe, anualmente, cerca de 80 milhões de toneladas de grãos (Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB, 1997) e grande parte é perdida por falta ou por más condições de armazenagem. Em países em desenvolvimento, essas perdas chegam a atingir até 30% em alguns casos, 10% causados diretamente pelo ataque de pragas durante o armazenamento (Sinha, 1995).

Para se combater os insetos de grãos armazenados, tem-se utilizado o controle químico, por ser efetivo, de baixo custo e de fácil manejo. O expurgo com fosfina ou brometo de metila são as técnicas mais empregadas no seu combate, porém o uso indiscriminado de fosfina tem levado ao desenvolvimento de resistência das pragas, devido à alta frequência de aplicações de dosagens incorretas em períodos de exposição inadequados e em ambientes não-herméticos. Esta resistência leva ao uso de dosagens cada vez mais elevadas, ao aumento do tempo de exposição, aos níveis inaceitáveis de resíduos, à possibilidade de intoxicação dos operadores e, conseqüentemente, ao aumento dos custos sociais, ambientais e de produção (Annis, 1990; White & Leesch, 1996). Ainda de acordo com esses autores, uma alternativa para o controle de insetos de grãos armazenados é a adoção de métodos físicos, dentre os quais se destaca a modificação do ar atmosférico existente na massa de grãos.

As crescentes exigências de qualidade do mercado brasileiro têm levado à opção por um controle efetivo dos insetos em grãos armazenados, ou seja, nível zero de insetos vivos por quilograma de amostra. O valor comercial do grão, tanto para processamento quanto para consumo, está diretamente relacionado ao nível de contaminação por insetos.

Pertencente à família Curculionidae, o *Sitophilus zeamais* Motschulsky, também vulgarmente conhecido como gorgulho-do-milho é, provavelmente, uma das pragas mais comuns em todo o mundo. O *S. zeamais* é considerado praga primária com grande capacidade destrutiva; o inseto adulto ataca os grãos saudios e intactos e suas larvas se alimentam do interior do grão (Rees, 1996).

Em altas concentrações, o CO₂ é tóxico para os insetos, particularmente para as pragas de grãos armazenados (Annis & Morton, 1997) pois estimula a respiração nos insetos, causando a abertura de seus espiráculos ou mantendo-os abertos, aumentando a perda de água e levando-os à morte (Price, 1984).

Lindgren & Vincent (1970) obtiveram, para *S. oryzae* e *S. granarius*, maior toxicidade em mistura de 80% de dióxido de carbono e 20% de oxigênio que em atmosfera contendo 100% de dióxido de carbono, porém a lentidão de ação se torna um empecilho. Para Annis & Morton (1997) além da lentidão de ação do CO₂, a necessidade de se ter alto nível de hermeticidade e o custo, são também impedimentos para a utilização de CO₂ como fumigante. Sabe-se que em temperaturas acima de 27°C a morte dos insetos ocorre de maneira mais rápida, fato demonstrado por Calderon & Navarro (1980) em *Tribolium castaneum*, *Rhyzopherta dominica* e *Sitophilus oryzae*.

Têm-se desenvolvido inúmeros experimentos utilizando dióxido de carbono e fosfina em estruturas herméticas, especialmente na Austrália, por serem considerados gases com boa capacidade de penetração. Novos métodos de aplicação e de distribuição do fumigante fosfina têm sido descritos; por

exemplo, a distribuição de fosfina na massa de grãos pode ser melhorada se a formulação for aplicada com pequena quantidade de CO₂. O uso desta técnica permitirá rápida penetração da fosfina em grande massa de grãos, sem se precisar instalar equipamentos de recirculação dentro do armazém (White & Leesch, 1996).

Uma combinação do método de fumigação utilizando-se baixos níveis de fosfina, temperatura elevada e altos níveis de dióxido de carbono em estruturas herméticas, pode vir a substituir aplicações com brometo de metila em moinhos e estruturas similares. Mueller (1994), estudando a combinação de baixos níveis de fosfina (91 a 140 mg m⁻³), calor (32 a 37°C) e CO₂ (4 – 6%) por 24 h sobre os insetos *T. castaneum*, *S. cerealella*, *Trogoderma variabile* e *S. oryzae*, verificou que esta associação provoca grande estresse nos insetos necessitando, assim, de menor período de exposição para eliminação dos focos de infestação. Neste trabalho, foram obtidos 100% de mortalidade em todas as fases de desenvolvimento dos insetos em 24 h de exposição.

Este efeito também foi comprovado por Bond & Buckland (1979) *apud* Bailey & Banks (1980) que utilizaram baixas concentrações de fosfina em atmosferas contendo altas concentrações de dióxido de carbono, reduzindo o período de exposição durante a fumigação e a concentração de dióxido de carbono normalmente requerida.

Casella (1998) e Martinazzo (1998) estudaram a eficácia de atmosferas modificadas no controle de *S. zeamais* e *R. dominica*, respectivamente, utilizando uma atmosfera artificial contendo 21% de CO₂ e 79% de N₂ associada a 0,25, 0,50 e 0,75 g m⁻³ de fosfina, e atmosfera ambiente associada a 1,00 g m⁻³ de fosfina, a 29°C e 65% de umidade relativa, em períodos de exposição de 24, 72 e 120 h. O controle efetivo desses insetos foi obtido em 120 h de exposição, na atmosfera artificial associada a 0,50 g m⁻³ de fosfina.

Estudos acerca da toxicidade da mistura de fosfina e dióxido de carbono em adultos de *Cryptolestes turciceus* (Gruvelle) mostraram que o dióxido de carbono acentua a toxicidade da fosfina (Ren et al., 1994). Esses estudos mostraram, ainda, que a respiração dos insetos testados é acelerada, aumentando-se o consumo de fosfina quando a concentração de CO₂ é incrementada. Este experimento também indicou que a ação da fosfina é estimulada pelo CO₂ produzido na respiração; entretanto, em concentrações de CO₂ acima de 35%, a toxicidade da fosfina decresce gradualmente, por causa do efeito da narcose.

Levando-se em consideração a grande carência de informações na literatura sobre a utilização de atmosferas modificadas em condições tropicais, este trabalho teve por objetivo avaliar a atmosfera modificada (100% de CO₂), associada a três dosagens de fosfina (0,25, 0,50 e 0,75 g m⁻³) sobre diferentes fases de desenvolvimento de *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) em cinco períodos de exposição do gás (48, 72, 96, 120 e 144 h).

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Setor de Pré-processamento de Produtos Agrícolas do Departamento de Engenharia Agrícola, na Universidade Federal de Viçosa, utilizando-se grãos de milho

(*Zea mays* L.) infestados com *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) em todas as fases de desenvolvimento do inseto, avaliando-se o efeito de atmosferas modificadas associadas a níveis crescentes de fosfina e tempo de exposição no controle dessas pragas de grãos armazenados.

Criação dos insetos

Para a obtenção dos insetos, em todos os estágios de desenvolvimento e em número suficiente, realizou-se uma criação contínua em câmaras climáticas do tipo BOD, sob temperatura de $28 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $65 \pm 5\%$.

A criação foi feita em frascos de vidro com capacidade de 250 mL, nos quais foram colocados 150 g de grão de milho íntegro, previamente limpos, com teor de umidade médio de 13% b.u., juntamente com 500 exemplares adultos; a cada seis dias, os adultos foram separados manualmente, utilizando-se o funil de Berlese e, posteriormente, transferidos para outros frascos previamente preparados com milho. A coleta dos ovos de *S. zeamais* foi realizada por sua visualização, com o auxílio do corante fucsina ácida ($\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{Na}_2\text{O}_9\text{S}_3$) obedecendo-se aos procedimentos descritos por Smith (1966). Fez-se, então, a separação em placas de Petri, em número de 50 grãos com ovos por placa. Conhecendo-se o ciclo biológico da espécie em estudo e as condições ótimas para o seu desenvolvimento, as larvas de todos os instares e pupas foram obtidas a partir de ovos individualizados.

Atmosfera modificada

Utilizou-se um gás contendo 100% de CO_2 com grau de pureza mínimo igual a 99,8%, produzido pela White Martins Gases Industriais S.A. (Juiz de Fora, MG) que forneceu, também, todo o suporte técnico (pessoal especializado e equipamentos) para injeção e monitoramento da concentração do componente do gás.

Foram utilizadas, ainda, três dosagens de fosfina (0,25, 0,50 e $0,75 \text{ g m}^{-3}$) associadas a essa atmosfera controlada, contendo 100% de CO_2 . Para comparação dos resultados, os insetos foram submetidos a dois tratamentos com ar atmosférico, utilizando-se dosagens de zero e $1,0 \text{ g m}^{-3}$ de fosfina. Este produto, em todos os tratamentos, foi obtido a partir de fosfeto de alumínio, na forma de pastilhas de 3,0 g fornecido pela empresa Casa Bernardo Ltda. Foram testados cinco períodos de exposição (48, 72, 96, 120 e 144 h) a uma temperatura média de 28°C e 65% de umidade relativa, com três repetições para cada período de exposição.

Recipientes para contenção das amostras de milho infestadas com insetos

Para contenção dos grãos de trigo que serviram de suporte para as armadilhas contendo as diversas fases do inseto, foram construídos três cilindros de 0,15 m de diâmetro e 0,20 m de altura, em chapa de aço galvanizado; o fundo do cilindro foi construído com tela metálica, para permitir melhor difusão dos gases, com sua parte superior aberta.

Inicialmente, foi posto 1,5 kg de trigo não-infestado em cada um dos cilindros e, a seguir, colocaram-se as armadilhas, contendo todas as fases dos insetos. Para acondicionamento das amostras de milho infestadas com *S. zeamais*, foram confeccionados saquinhos em tecido de malha fina, de forma a

evitar a saída dos insetos adultos, além de sete armadilhas em cada cilindro, cada uma contendo uma fase de desenvolvimento diferente do inseto.

Câmara para expurgo

Foi construída uma câmara com as dimensões de 1,3 x 1,0 x 1,0 m, utilizando-se chapa de aço galvanizado, e nesta colocado um dispositivo para controle da temperatura (28°C), constituído de uma resistência elétrica de 100W de potência, conectada a um termostato com faixa de trabalho entre 10 e 60°C e precisão de $\pm 1^\circ\text{C}$; além deste sistema para controle da temperatura, instalou-se também, no interior da câmara, um conjunto de termopares de cobre-constantan (tipo T) para medição das temperaturas de bulbo seco e bulbo molhado.

Para a criação e a manutenção da atmosfera modificada foi acoplado, à câmara, um sistema para injeção e exaustão do gás utilizado, constituído por um cilindro contendo gás, válvulas, conexões, tubulações e dispositivo para umidificação do gás. O cilindro tinha capacidade para 39,9 L de gás e, quando cheio, operava sob pressão de 70 kgf cm^{-2} . A injeção do gás foi realizada na parte lateral inferior da câmara, e a exaustão na lateral superior.

Usou-se lã de vidro envolta em sacos de polietileno para isolamento térmico da câmara, e apenas o fundo, que foi apoiado em um estrado de madeira, ficou sem esta cobertura.

Os tratamentos foram dispostos em um esquema fatorial 4×5 , ou seja, quatro dosagens de fosfina (0,25, 0,50, 0,75 e $1,00 \text{ g m}^{-3}$) e cinco períodos de exposição (48, 72, 96, 120 e 144 h) em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. As doses de 0,25, 0,5 e $0,75 \text{ g m}^{-3}$ de fosfina foram associadas à atmosfera com 100 % de CO_2 , e a de $1,00 \text{ g m}^{-3}$, à atmosfera ambiente.

Procedimento experimental

O procedimento inicial consistiu no acionamento do dispositivo para o controle da temperatura da câmara; assim que a temperatura se estabilizava em torno de 28°C , os cilindros, contendo as amostras infestadas com *S. zeamais* e *T. castaneum*, foram colocados sobre o fundo falso da câmara; a seguir, em balança com precisão de 0,001 g, pesou-se o fosfeto de alumínio, em quantidade suficiente para liberar a fosfina necessária àquele tratamento, colocando-o no interior da câmara, junto aos cilindros contendo as amostras. A abertura lateral de acesso foi fechada, utilizando-se uma tampa com juntas de borracha e parafusos, e a vedação era feita com um vedante à base de silicone.

Com as válvulas de admissão e exaustão abertas, iniciou-se o processo de injeção do gás CO_2 . Abriu-se primeiro a válvula de segurança do cilindro e, logo em seguida, a válvula de controle da vazão, a partir da qual, a tubulação se bifurcava, de maneira a permitir se injetar tanto gás seco quanto gás umidificado, de forma que se obtinha uma atmosfera no interior da câmara com cerca de 65% de umidade relativa. O gás umidificado penetrava na câmara e ia gradualmente expulsando o ar ambiente, enquanto a concentração de O_2 foi continuamente monitorada e, quando se verificou que o percentual desse gás havia atingido 0%, a válvula de exaustão foi imediatamente fechada; fechou-se, em seguida, as válvulas de segurança do cilindro, de controle da vazão e a de admissão à câmara. O procedimento para obtenção

da atmosfera desejada demorou, em média, 1,5 h para ser completado, enquanto para o monitoramento da concentração de O₂ utilizou-se um medidor de O₂ (oxímetro), modelo NEOTOX-XL, fabricado pela NEOTRONICS (UK).

As temperaturas de bulbo seco e bulbo molhado no interior da câmara, além da temperatura ambiente, foram medidas e registradas automaticamente a cada intervalo de cinco minutos, utilizando-se um sistema de aquisição de dados modelo Hydra 2625A, fabricado pela Fluke Corporation.

Avaliação dos ensaios experimentais

Para se avaliar a eficácia dos gases na desinfestação dos grãos, depois de cada período de exposição (48, 72, 96, 120 e 144 h) as amostras contendo os insetos foram retiradas dos cilindros e mantidas em uma câmara tipo BOD; depois de 48 h, contou-se o número de adultos sobreviventes. Para os demais estágios, as avaliações foram feitas de seis em seis dias, até que ovos, larvas e pupas, atingissem a fase adulta. A mortalidade encontrada foi corrigida por meio da fórmula de Abbot:

$$Ef = \frac{Mtr - Mte}{100 - Mte}$$

em que:

Ef - eficácia do tratamento, %

Mtr - mortalidade no tratamento, %

Mte - mortalidade da testemunha, ou seja, sem tratamento, %

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apresentam-se, na Tabela 1, os valores médios da eficácia dos tratamentos com atmosferas modificada e ambiente, associadas à fosfina em cada período de exposição, em todas as fases de desenvolvimento de *S. zeamais*.

Avaliação da fase de ovo (0 a 6 dias de idade)

Constatou-se diferença significativa (Newman-Keuls, a 5%) entre os valores médios da eficácia dos tratamentos, em cada período de exposição, na fase de ovo de *S. zeamais* apresentando, todos os tratamentos, elevadas eficácias de controle (Tabela 1). Maior eficácia média do tratamento foi obtida quando se utilizou 0,75 g m⁻³ de PH₃ associado ao CO₂; verificou-se menor eficácia média quando se utilizou 1,00 g m⁻³ de PH₃ em atmosfera ambiente e, no período de exposição de 48 h, observa-se que o controle com 100% de eficácia não foi obtido em nenhum dos tratamentos, mas a partir de 72 h de exposição, este controle foi obtido no tratamento em que se utilizou CO₂ associado a 0,75 g m⁻³ de fosfina; já em 144 h de exposição, observa-se que os tratamentos contendo CO₂ associado a 0,50 e 0,75 g m⁻³ de fosfina controlaram eficazmente, com 100% de mortalidade, os ovos de *S. zeamais*. Annis & Morton (1997) obtiveram um tempo letal para atingir 99% de mortalidade (TL₉₉) dos ovos de *S. oryzae* em 159 h, quando utilizaram uma atmosfera contendo concentração de 100% de CO₂. É importante ressaltar que o controle efetivo desses

Tabela 1. Valores médios* da eficácia dos tratamentos com atmosfera modificada e ambiente, associadas à fosfina, em cada período de exposição, em todas as fases de desenvolvimento de *S. zeamais*

Fases do inseto	Tratamentos	Períodos de exposição (h)					
		48	72	96	120	144	Média
Ovo 0 a 6 dias	0,25 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	91,78	95,91	99,31	95,58	99,32	96,38c
	0,50 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	91,09	97,27	98,63	97,05	100,00	96,81b
	0,75 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	94,52	100,00	100,00	100,00	100,00	98,90a
	1,00 g m ⁻³ PH ₃	90,41	91,83	94,52	97,05	97,97	94,36d
Larva 7 a 12 dias	0,25 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	95,20	96,47	99,28	99,28	100,00	
	0,50 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	93,83	97,18	100,00	100,00	100,00	
	0,75 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	95,89	100,00	100,00	100,00	100,00	
	1,00 g m ⁻³ PH ₃	95,20	94,36	96,42	99,28	100,00	
Larva 13 a 18 dias	0,25 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	89,28	93,00	100,00	100,00	100,00	96,45b
	0,50 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	87,14	95,80	99,31	100,00	100,00	96,45b
	0,75 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	95,71	99,30	100,00	100,00	100,00	99,00a
	1,00 g m ⁻³ PH ₃	92,14	93,70	96,55	97,18	100,00	95,91c
Larva 19 a 24 dias	0,25 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	86,30	89,58	95,13	100,00	100,00	
	0,50 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	86,30	93,75	100,00	100,00	100,00	
	0,75 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	90,41	96,88	97,92	100,00	100,00	
	1,00 g m ⁻³ PH ₃	85,61	86,80	98,96	98,97	100,00	
Larva 25 a 30 dias	0,25 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	88,10	89,11	99,07	100,00	100,00	
	0,50 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	88,07	88,43	98,38	100,00	100,00	
	0,75 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	90,82	96,59	99,77	100,00	100,00	
	1,00 g m ⁻³ PH ₃	89,45	89,79	95,11	99,08	100,00	
Pupa 31 a 36 dias	0,25 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	70,54b	71,42b	95,20	99,31	100,00	
	0,50 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	74,65b	78,91b	96,57	100,00	100,00	
	0,75 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	68,49b	88,43a	99,31	100,00	100,00	
	1,00 g m ⁻³ PH ₃	89,04a	93,19a	96,57	98,63	100,00	
Adulto + de 37 dias	0,25 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	98,00	98,62	100,00	100,00	100,00	
	0,50 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	98,00	99,31	100,00	100,00	100,00	
	0,75 g m ⁻³ PH ₃ + CO ₂	98,00	98,65	100,00	100,00	100,00	
	1,00 g m ⁻³ PH ₃	97,33	97,93	100,00	100,00	100,00	

* As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas, não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste de Newman-Keuls

ovos não foi encontrado quando se utilizou $1,00 \text{ g m}^{-3}$ de PH_3 em ar ambiente em nenhum dos períodos de exposição; em contrapartida, Casella (1998) utilizando atmosfera artificial (21% de CO_2) associada a $0,75 \text{ g m}^{-3}$ de fosfina, obteve o controle efetivo de *S. zeamais* no período de 24 h de exposição e, a partir de 72 h de exposição, todos os tratamentos com atmosferas modificada e ambiente, associadas à fosfina, controlaram eficazmente os ovos de *S. zeamais*.

Avaliação da fase de primeiro ínstar larval (7 a 12 dias de idade)

Os valores médios da eficácia dos tratamentos com atmosferas modificada e ambiente, associadas à fosfina, em cada período de exposição, na fase de larvas de primeiro ínstar de *S. zeamais*, são apresentados na Tabela 1.

Não se obteve o controle efetivo dessas larvas no período de 48h de exposição em nenhum dos tratamentos envolvendo atmosferas modificada e ambiente, associados às diferentes concentrações de PH_3 ; o controle efetivo foi obtido com 72 h de exposição para atmosfera contendo $0,75 \text{ g m}^{-3}$ de fosfina associada a CO_2 e, para o período de exposição de 144 h, um controle de 100% de mortalidade foi observado em todos os tratamentos; vale ressaltar, porém, que o tratamento contendo $1,00 \text{ g m}^{-3}$ de PH_3 , em atmosfera ambiente, não controlou eficazmente as larvas de 1º ínstar de *S. zeamais* em períodos de exposição menores que 144 h. Casella (1998) obteve 100% de eficácia sobre larvas de 1º ínstar de *S. zeamais*, a partir de 72 h de exposição em todos os tratamentos. Annis & Morton (1997)

encontraram, para larvas jovens de *S. oryzae*, um TL_{99} de 5,38 dias, quando utilizaram uma atmosfera modificada, com 100% de CO_2 .

Conforme se observa na Figura 1A, verificou-se um pequeno aumento da eficácia do tratamento, a medida em que se aumentou o período de exposição, de 48 até 120 h, tendendo a se manter constante em períodos superiores. Quando avaliou a eficácia dos tratamentos utilizando atmosfera artificial (21% de CO_2) e ambiente, associadas à fosfina, em 24, 72 e 120 h de exposição, no controle de larvas de primeiro ínstar de *S. zeamais*, Casella (1998) verificou comportamento linear crescente para a média dos valores de eficácia obtidos em função do período de exposição.

Avaliação da fase de segundo ínstar larval (13 a 18 dias de idade)

Houve diferença significativa na eficácia média dos tratamentos (Tabela 1), em cada período de exposição, na fase de larva de 2º ínstar, sendo a maior eficácia conseguida quando se utilizou $0,75 \text{ g m}^{-3}$ de fosfina associada a CO_2 . Verificou-se menor eficácia média quando se utilizou $1,00 \text{ g m}^{-3}$ de PH_3 em atmosfera ambiente. Para os períodos de 48 e 72 h de exposição, não se obteve o controle efetivo das larvas de segundo ínstar de *S. zeamais* em nenhum dos tratamentos. Embora o tratamento com $0,50 \text{ g m}^{-3}$ de fosfina, associado a 100% de CO_2 , não tenha causado 100% de mortalidade das larvas de segundo ínstar de *S. zeamais* no período de exposição de 96 h, pode-se considerar

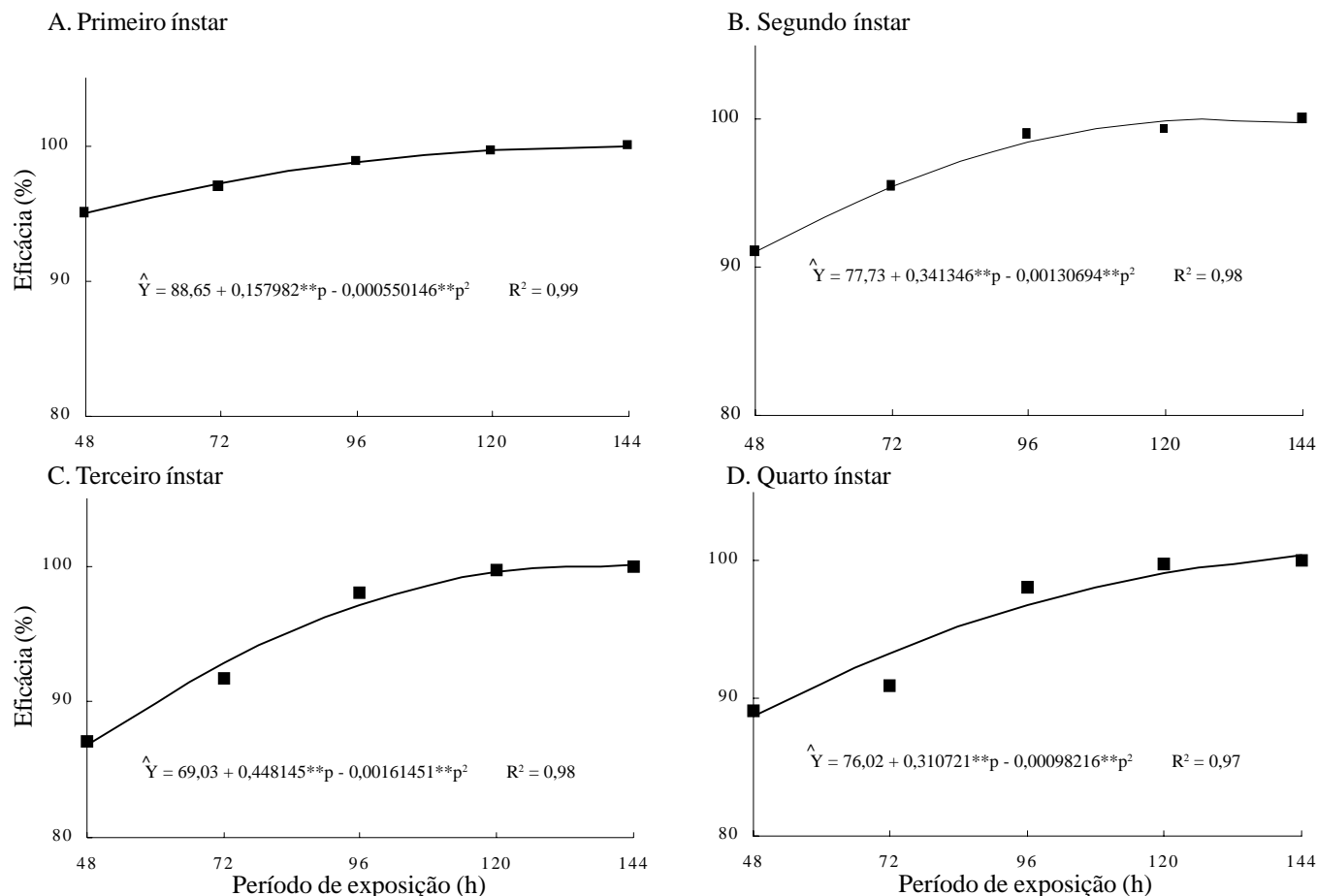


Figura 1. Estimativa da eficácia média das atmosferas modificada e ambiente, associadas à fosfina, no controle da fase de A. primeiro, B. segundo, C. terceiro e D. quarto ínstar larval de *S. zeamais*, em função dos períodos de exposição

que, a partir deste período de exposição, os tratamentos com atmosfera modificada, associados à fosfina, controlaram as larvas de segundo ínstar de *S. zeamais*, já para o tratamento com atmosfera ambiente e 1,00 g m⁻³ de PH₃, o controle de 100% de mortalidade apenas foi obtido no período de exposição de 144 h que, e comparado com os resultados obtidos por Casella (1998) verifica-se melhoria no desempenho, já que o controle efetivo de larvas de segundo ínstar de *S. zeamais*, utilizando-se 21% de CO₂, associado à fosfina, foi alcançado apenas em 120 h de exposição. A regressão que relaciona a eficácia média no controle da fase de segundo ínstar larval de *S. zeamais* ao período de exposição no modelo quadrático obteve o melhor ajuste (Figura 1B).

Para as larvas de segundo ínstar, obteve-se aumento na eficácia, a medida em que se aumentou o período de exposição para as atmosferas contendo CO₂ associado à fosfina, tendendo a permanecer constante a partir de 120 h de exposição.

Avaliação da fase de terceiro ínstar larval (19 a 24 dias de idade)

Conforme se observa na Tabela 1, no período de 48 e 72 h de exposição, não se obteve controle eficaz do inseto nesta fase de desenvolvimento, mas em 120 e 144 h de exposição, obteve-se o controle efetivo das larvas de terceiro ínstar de *S. zeamais*, com qualquer uma das atmosferas que associam CO₂ e fosfina, porém no tratamento em que se utilizou apenas fosfina em ar ambiente, foram obtidos 100% de mortalidade apenas em 144 h de exposição; comparando-se às pesquisas realizadas por Casella (1998) verifica-se redução no período de exposição, pois foi alcançado um controle efetivo com 96 h de exposição para o tratamento com 0,50 g m⁻³ de PH₃, associado a 100% de CO₂, enquanto este autor obteve 85,4% de eficácia no mesmo período de exposição, porém em atmosfera contendo 21% de CO₂, associada à fosfina.

A equação de regressão que relaciona a eficácia média no controle da fase de larva de terceiro ínstar de *S. zeamais* ao período de exposição, está representada na Figura 1C. O modelo quadrático se adequou melhor aos tratamentos com atmosferas modificadas e ambiente associadas à fosfina.

Observa-se que a eficácia média dos tratamentos aumentou à medida que se aumentou o período de exposição até 120 h, mantendo-se aproximadamente constante a seguir, o que mostra que o período de exposição é mais crítico que a dosagem do fumigante, conforme relatam Price & Mills (1988). Casella (1998) quando avaliou a eficácia dos tratamentos utilizando atmosferas artificial (21% de CO₂) e ambiente, associadas à fosfina, em 24, 72 e 120 h de exposição, no controle de larvas de terceiro ínstar de *S. zeamais*, verificou comportamento linear crescente para a média dos valores de eficácia obtidos em função do período de exposição.

Avaliação da fase de quarto ínstar larval (25 a 30 dias de idade)

Os valores médios da eficácia dos tratamentos, na fase de larvas de 4º instar, apresentados na Tabela 1, referente a atmosferas modificada e ambiente, associadas às diferentes dosagens de PH₃, não apresentaram diferenças estatísticas, em todos os períodos de exposição analisados. O controle efetivo desta fase de *S. zeamais*, não foi obtido nos períodos de 48, 72 e 96 h de exposição. Uma mortalidade de 100% foi verificada

quando se utilizou um período de exposição de 120 e 144 h em qualquer um dos tratamentos que continham fosfina associada a CO₂; no tratamento com 1,00 g m⁻³ de fosfina em ar ambiente, o controle efetivo foi conseguido em apenas 144 h de exposição, fase em que se apresentou mais resistente que as larvas de primeiro, segundo e terceiro ínstares, e isto certamente se deve ao fato de ela ser a última fase do estágio larval, antes de empupar, quando ocorre redução na atividade respiratória do inseto (Martinazzo, 1998). Esses resultados assemelham-se aos encontrados por Annis & Morton (1997) ou seja, para larvas mais velhas de *S. oryzae* foram necessários 7,6 dias para se obter o TL₉₉, em atmosfera contendo 100% de CO₂. O controle efetivo de larvas de quarto ínstar de *S. zeamais*, no trabalho de Casella (1998) foi obtido em 24 h de exposição à atmosfera artificial (21% de CO₂) associada a 0,25 g m⁻³ de fosfina.

A equação de regressão ajustada e o respectivo coeficiente de determinação que relacionam a eficácia média no controle da fase de quarto ínstar larval de *S. zeamais* ao período de exposição são apresentados na Figura 1D, enquanto o modelo quadrático foi o melhor, obtendo-se alto grau de ajuste e coeficiente com boa significância estatística.

A eficácia média dos tratamentos aumentou à medida que se aumentou o período de exposição em até 120 h. Santos (1995) não obteve controle efetivo para larvas de *S. zeamais* com 20 dias de exposição à atmosfera, contendo 20% de CO₂. Esses resultados diferiram dos encontrados por Casella (1998) que obteve estimativa da eficácia de 94,3, 93,46 e 84,78% para os tratamentos com atmosfera sintética (21% de CO₂) associada a 0,25, 0,50 e 0,75 g m⁻³ de fosfina, respectivamente, em função do período de exposição (24 a 120) sobre larvas de 4º instar de *S. zeamais*.

Avaliação da fase pupa (31 a 36 dias de idade)

Como se verifica na Tabela 1, no período de exposição de 48 h, a menor eficácia, na fase de pupa, foi obtida quando se associaram 100% de CO₂ às dosagens de 0,25, 0,50 e 0,75 g m⁻³ de PH₃; já para o período de 72 h de exposição, a atmosfera modificada associada a 0,75 g m⁻³ de fosfina foi a mais eficaz, equivalendo à que utilizou 1,00 g m⁻³ de fosfina em ar ambiente. Para o período de 96 h de exposição, os tratamentos com atmosferas modificada e ambiente, associadas à fosfina, não diferiram; além disso, não se verificou o controle efetivo do inseto, nesta fase, nem para o período de 96 h de exposição, em nenhum dos tratamentos utilizados. Nota-se que as pupas foram mais resistentes, necessitando de uma concentração a partir de 0,50 g m⁻³ de fosfina associada a CO₂ em 120 h de exposição, para se obter 100% de mortalidade. Para o período de 144 h de exposição, todos os tratamentos controlaram eficazmente as pupas de *S. zeamais*. Vale ressaltar que o tratamento com 1,00 g m⁻³ de PH₃ em ar ambiente controlou eficazmente as pupas de *S. zeamais* apenas em 144 h de exposição. Resultados contrários foram obtidos por Casella (1998) que, para 24 h de exposição a 21% de CO₂ e 0,75 g m⁻³ de fosfina, obteve o controle efetivo das pupas de *S. zeamais*, mostrando ser este um tratamento mais eficiente nesta fase, mas, de acordo com Price & Mills (1988) ovos e pupas são mais resistentes que os adultos, tanto em populações susceptíveis como naquelas resistentes à fosfina. Annis & Morton (1997) trabalhando com atmosfera contendo 100% de CO₂, levaram 22,80 dias para obterem um TL₉₉ em pupas de *S. oryzae*.

As equações de regressão ajustadas e os respectivos coeficientes de determinação que relacionam a eficácia no controle da fase de pupa de *S. zeamais* ao período de exposição nas diferentes atmosferas modificadas, estão apresentados na Figura 2.

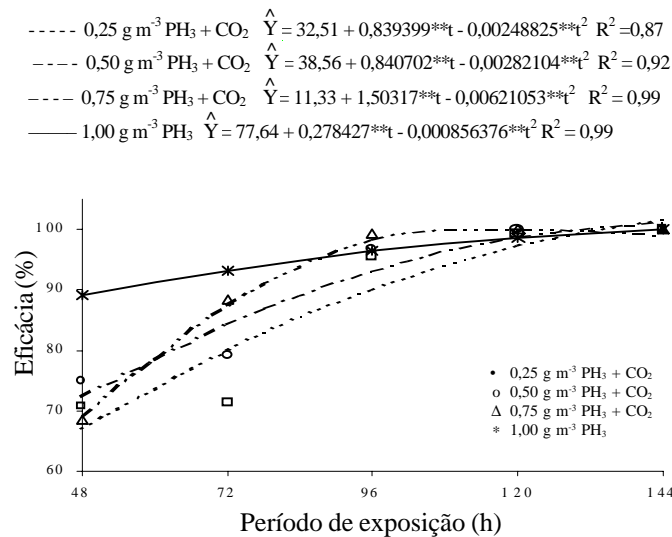


Figura 2. Estimativa da eficácia das atmosferas modificada e ambiente, associadas à fosfina, no controle da fase de pupas de *S. zeamais*, em função dos períodos de exposição

Pode-se observar que a eficácia nos tratamentos com atmosfera contendo 0,25, 0,50 e 0,75 g m⁻³ de fosfina associada a 100% de CO₂, apresentou o mesmo comportamento, ou seja, à medida que se aumentou o período de exposição, aumentou-se também a eficácia do tratamento e para a atmosfera que continha 1,00 g m⁻³ de fosfina em ar ambiente, a taxa de aumento da eficácia em função do período de exposição foi menor que a dos outros tratamentos, e o período de exposição teve pouca influência na eficácia desse tratamento.

Esses resultados diferiram dos obtidos por Casella (1998) que obteve uma estimativa da eficácia de 89,1 e 93,3% para os tratamentos com atmosfera sintética (21% de CO₂) associada a 0,50 e 0,75 g m⁻³ de fosfina, respectivamente, em função do período de exposição (24 a 120 h) sobre pupas de *S. zeamais*.

Avaliação da fase adulta (acima de 37 dias de idade)

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, não houve diferença significativa entre os valores médios da eficácia das atmosferas, modificada e ambiente, empregadas em cada período de exposição, na fase de adulto de *S. zeamais*, porém o controle não foi efetivo nos períodos de exposição de 48 e 72 h em nenhum dos tratamentos utilizados e, nos períodos de 96, 120 e 144 h de exposição, foram obtidos 100% de mortalidade dos adultos, quando expostos a atmosferas contendo 100% de CO₂ associadas à fosfina. Em atmosfera ambiente, este controle foi observado apenas quando se utilizou 1,00 g m⁻³ de PH₃ em 120 e 144 h de exposição. Vale ressaltar que, no período de exposição de 96 h, a menor dosagem de fosfina (0,25 g m⁻³) associada à atmosfera contendo 100% de CO₂, promoveu 100% de mortalidade dos adultos de *S. zeamais*, resultado que coincide com o obtido por Casella (1998) em que os adultos se apresentaram mais susceptíveis

em relação às fases imaturas de *S. zeamais*, quando expostos em atmosferas modificadas contendo 21% de CO₂ e 79% de N₂, associadas à fosfina. Embora Annis & Morton (1997) tenham encontrado 12,84 dias para obterem um TL₉₉, para adultos jovens de *S. oryzae*, esse tempo só foi menor quando comparado ao de pupa, quando encontraram 22,80 dias para um TL₉₉, mas quando avaliaram adultos com 21 dias após a emergência, 4,22 dias foram suficientes para obterem um TL₉₉, em atmosfera contendo 100% de CO₂. Guedes et al. (1996) estudando diferentes concentrações de CO₂ e O₂, balanceados com nitrogênio, constataram que o tempo mínimo para controlar 100% dos adultos de *S. zeamais* foi de cinco dias de exposição, com a concentração dos tratamentos de 20% de CO₂ e 16% de O₂ e 15% de CO₂ e 5% de O₂.

Na Figura 3 apresentam-se a equação de regressão ajustada e o respectivo coeficiente de determinação que relacionam a eficácia média no controle da fase adulta de *S. zeamais* ao período de exposição e o melhor ajuste foi obtido com modelo quadrático.

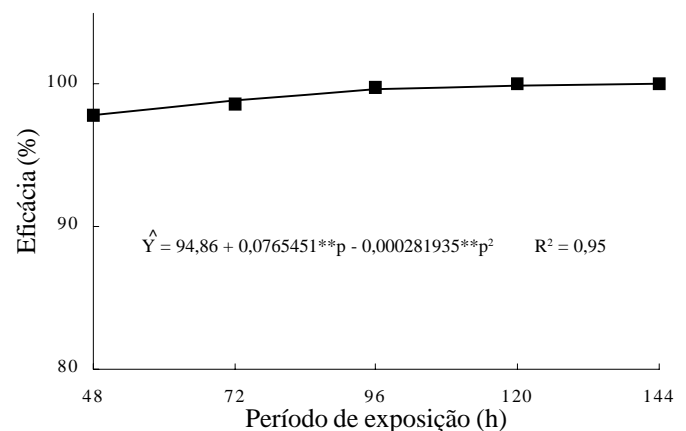


Figura 3. Estimativa da eficácia média das atmosferas modificada e ambiente, associadas à fosfina, no controle da fase de adultos de *S. zeamais*, em função dos períodos de exposição

Observa-se que a estimativa da eficácia média dos tratamentos com diferentes atmosferas modificadas sobre a fase adulta de *S. zeamais*, em função dos períodos de exposição, manteve-se quase que constante. Este resultado diferiu do obtido por Casella (1998) que obteve modelos lineares crescentes, com maior taxa de aumento da eficácia dos tratamentos com atmosfera sintética (21% de CO₂) associada à fosfina, em função dos períodos de exposição (24 a 120 h) no controle de adultos de *S. zeamais*.

CONCLUSÕES

Concluiu-se que: o aumento do período de exposição resultou no aumento da eficácia dos tratamentos; as pupas de *S. zeamais* foram mais tolerantes aos tratamentos, enquanto os ovos e as larvas de primeiro ínstar foram mais sensíveis; a concentração de 0,75 g m⁻³ de fosfina associada à atmosfera contendo 100% de CO₂, no período de 120 h de exposição, é a mínima necessária para o controle efetivo de todas as fases de desenvolvimento do *S. zeamais*.

AGRADECIMENTOS

A White Martins Gases Industriais S.A., pelo apoio técnico e pelo fornecimento dos equipamentos utilizados neste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANNIS, P.C. Requeriments for fumigations and controlled atmospheres as options for pest and quality control in stored grain. In: CHAMP, B.R.; HIGHLEY, E.; BANKS, H.J. (eds). Fumigation and controlled atmosphere storage of grain. Singapore, ACIAR, 1990. p.20-28. Proceedings, 25
- ANNIS, P.C.; MORTON, R. The acute mortality effects of carbon dioxide on various life stages of *Sitophilus oryzae*. Journal of Stored Products Research, Kidlington, v.33, p.115-124, 1997.
- BAILEY, S.W.; BANKS, H.J. A review of recent studies of the effects of controlled atmospheres on stored product pests. Canberra: CSIRO Division of Entomology, 1980. p.101-118.
- CALDERON, M.; NAVARRO, S. Synergistic effect of CO₂ and O₂ mixtures on two stored grain insect pests. In: SHEJBAL, J. (ed.). Controlled atmosphere storage of grains. Amsterdam: Elsevier, 1980. p.101-118.
- CASELLA, T.L.C. Dióxido de carbono associado à fosfina, no controle de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) em grãos armazenados. Viçosa, MG: UFV, 1998. 82p. Dissertação Mestrado
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Indicadores da agropecuária, Brasília. v.21, n.4, jun. 1997.
- GUEDES, J.V.C.; BORTOLUZZI, G.; BRACKMANN, A.; COSTA, E.C. Controle de *Sitophilus zeamais* Motsch. através de diferentes concentrações de CO₂ e O₂. Ciência Rural: Santa Maria, RS, v. 26, n.2, p.177-180, 1996.
- LINDGREN, D.L.; VINCENT, L.E. Effect of atmospheric gases alone or in combination on the mortality of granary and rice weevils. Journal of Economic Entomology, Lanham, v.63, p.1926-29, 1970.
- MARTINAZZO, A.P. Utilização da fosfina em combinação com dióxido de carbono no controle do *Rhyzopertha dominica* (F.). Viçosa, MG: UFV, 1998. 88p. Dissertação Mestrado
- MUELLER, D.K. A new method of using low levels of phosphine in combination with heat and carbon dioxide. In: INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED PRODUCT PROTECTION, 6, 1994, Canberra, Australia, Proceedings... Canberra, Australia. [s.n.], 1994.
- PRICE, L.A.; MILLS, K.A. The toxicity of phosphine to the immature stages of resistant and susceptible strains of some common stored product beetles and implications for their control. Journal Stored Products Research, Kidlington, v.24, p.51-59, 1988.
- PRICE, N.R. Active exclusion of phosphine as a mechanism of resistance in *Rhyzopertha dominica* (F.). Journal Stored Product Research, Kidlington, v.20, p.163-167, 1984.
- REES, D.P. Coleoptera. In: SUBRAMANYAN, B.; HAGSTRUM, D.W. Integrated management of insects in stored products. New York: Marcel Dekker, 1996. p.1-39.
- REN, Y.L.; O'BRIEN, I.G.; WHITTLE, C.P. Studies on the effect of carbon dioxide in insect treatment with phosphine. In: INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED PRODUCT PROTECTION, 6, 1994, Canberra, Australia. Proceedings... Canberra, Australia. [s.n.], 1994.
- SANTOS, D. S. Viabilização da atmosfera modificada pelo CO₂ na manutenção das qualidades do milho (*Zea mays* L.) durante o armazenamento. Lavras: UFLA, 1995. 96p. Dissertação Mestrado
- SINHA, R.N. The stored-grain ecosystem. In: Stored-grain Ecosystems. JAYAS, D.; WHITE, N.D.G., MUIR, W.E. (eds.) New York: Marcel Dekker, 1995. p.1-33.
- SMITH, C.N. Insect colonization and mass production. [s.l.: s.n.], 1966. n.p.
- WHITE, N.D.G.; LEESCH, J.G. Chemical control. In: SUBRAMANYAM, B.; HAGSTRUM, D. Integrated management of insects in stored products. New York: Marcel Dekkers, 1996. p.287-330.