

ADALBERTO HIPÓLITO DE SOUSA

**OZÔNIO COMO ALTERNATIVA DE MANEJO DE
RESISTÊNCIA À FOSFINA**

**Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Entomologia, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*.**

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2007**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

S729o
2007

Sousa, Adalberto Hipólito de, 1980-
Ozônio como alternativa de manejo de resistência à
fosfina / Adalberto Hipólito de Sousa. – Viçosa, MG,
2007.
xi, 60f. : il. col. ; 29cm.

Inclui anexo.

Orientador: Lêda Rita D'Antonino Faroni.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 50-59.

1. Insetos - Resistência aos inseticidas. 2. Ozônio -
Toxicologia. 3. Inseto - Populações. 4. Metabolismo.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 595.7

ADALBERTO HIPÓLITO DE SOUSA

**OZÔNIO COMO ALTERNATIVA DE MANEJO DE
RESISTÊNCIA À FOSFINA**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Entomologia, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 28 de fevereiro de 2007.

**Prof. Marcos Rogério Tótola
(Co-orientador)**

Prof. Marcelo Coutinho Picanço

Pesq. Jamilton Pereira dos Santos

Pesq. Wilfredo Irrazabal Urruchi

**Prof^ª. Lêda Rita D'Antonino Faroni
(Orientadora)**

Aos meus pais, Cleonice e Adalberto

"Origem, exemplo e ternura"

Dedico

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por me trazer saúde, perseverança e sabedoria;

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de desenvolver este trabalho, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos;

À Professora Lêda D'Antonino Faroni pela orientação, oportunidades e incentivo;

Aos Professores Raul Narciso C. Guedes e Marcos Rogério Tótola pela orientação, sugestões e atenção;

Ao Dr. Wilfredo Irrazabal Urruchi, pelas sugestões, disponibilidade e calibragem dos equipamentos;

Aos meus pais Adalberto Sousa de Oliveira e Cleonice Hipólito de Sousa, aos meus irmãos Alessandra, Alessandro, Alenilda e Alessiane e Patrícia e à minha sobrinha Ingrid, por me proporcionarem momentos maravilhosos e me incentivarem nesta conquista;

À LÍlian F. Moreira, pelo amor, companhia, “vigília”, importantes dicas na análise dos dados e redação da tese;

Ao amigo, Alexandre Melo, pela amizade, confiança e ensinamentos sobre os equipamentos utilizados;

Aos amigos Marco Aurélio e Adriano Rozado, pelas dicas no decorrer dos experimentos;

Às estagiárias Luana Souza e Fernanda Rezende, pela amizade, confiança e dedicação;

Aos funcionários do Setor de Entomologia e do Departamento de Engenharia Agrícola da UFV, em especial a Mirian, D. Paula, José Eustáquio, Inhame, Caititu e Hamilton;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Viçosa, pelos ensinamentos;

Aos amigos e colegas do Programa de Pós-Graduação em Entomologia da Universidade Federal de Viçosa, pela amizade e apoio durante as disciplinas;

Aos amigos Carlos Romero, José Roberto, Joseane, Silma, Rodrigo e Felipe, pelo apoio e convivência em partes destes dois anos;

A amiga Jaqueline pelo carinho, boas risadas, “contação causos” e apoio;

Aos componentes da banca de dissertação, pela cordialidade ao convite e forma como participaram da mesma;

Ao Prof. Patrício Maracajá (UFERSA), pela amizade sincera, simplicidade, orientação durante a iniciação científica e ótimas oportunidades que me foram dadas;

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para realização deste trabalho e para minha formação acadêmica, Muito Obrigado!!!

BIOGRAFIA

ADALBERTO HIPÓLITO de SOUSA, filho de Adalberto Sousa de Oliveira e Cleonice Hipólito de Sousa, nasceu em Picos, PI em 28 de abril de 1980.

Em fevereiro de 2000 iniciou o curso de Agronomia na Escola Superior de Agricultura de Mossoró, hoje Universidade Federal Rural do Semi-Árido, onde foi estudante voluntário de iniciação científica do Setor de Fitossanidade de junho de 2001 a dezembro de 2004 e monitor da disciplina de Microbiologia Agrícola de fevereiro de 2003 a dezembro de 2004, graduando-se Engenheiro Agrônomo em janeiro de 2005.

Em março de 2005 iniciou o curso de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Entomologia na Universidade Federal de Viçosa, sob a orientação da Prof^a. Lêda Rita D'Antonino Faroni, submetendo-se a defesa de tese em 28 de fevereiro de 2007, já estando aprovado para o Doutorado no mesmo programa.

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	01
2. MATERIAL E MÉTODOS	08
2.1. Populações de insetos	08
2.2. Bioensaios de toxicidade do ozônio	09
<i>Câmaras de exposição dos insetos ao ozônio</i>	11
<i>Obtenção do ozônio e funcionamento do sistema</i>	11
<i>Curvas de tempo-mortalidade</i>	13
<i>Análises estatísticas</i>	16
2.3. Ensaios respirométricos	16

2.4. Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) e taxa de crescimento em função do período de armazenamento	17
2.5. Taxas de crescimento populacional	18
3. RESULTADOS	20
3.1. Toxicidade do ozônio (O_3)	20
3.2. Produção de CO_2	21
3.3. Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i)	22
3.4. Desenvolvimento populacional	22
<i>Emergência acumulada</i>	22
<i>Emergência diária</i>	24
3.5. Crescimento populacional	25
4. DISCUSSÃO	43
5. CONCLUSÕES	48
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
ANEXO 1	60

RESUMO

SOUSA, Adalberto Hipólito de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2007. **Ozônio como alternativa de manejo de resistência à fosfina.** Orientadora: Lêda Rita D'Antonino Faroni. Co-orientadores: Raul Narciso Carvalho Guedes e Marcos Rogério Tótola.

Este trabalho teve por objetivos avaliar a toxicidade do ozônio a populações de *Tribolium castaneum*, *Rhyzopertha dominica* e *Oryzaephilus surinamensis*; determinar se existe resistência cruzada entre o ozônio e a fosfina; averiguar se há relação entre a toxicidade do ozônio e o metabolismo respiratório dos insetos; determinar os padrões reprodutivos das populações na ausência de pressão seletiva e prover evidências de custos adaptativos associados à resistência à fosfina. Foram utilizadas 16 populações brasileiras de *T. castaneum*, 11 de *R. dominica* e nove de *O. surinamensis* coletadas nos estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná e São Paulo. Nos bioensaios de toxicidade, fixou-se a concentração do ozônio em 150 ppm, em fluxo contínuo de 2 L min⁻¹. Os tempos letais para causar 50 e 95% de mortalidade (TL₅₀ e TL₉₅) de cada população foram estimados por meio de bioensaios de tempo-resposta e usados para calcular as respectivas razões de resistência (RRs). Os padrões da taxa respiratória e do

crescimento instantâneo (r_i) de cada população das três espécies foram avaliados. Adicionalmente, foram avaliadas as taxas de desenvolvimento e de crescimento populacional de duas populações resistentes à fosfina e duas susceptíveis de cada espécie. Nenhuma das populações estudadas mostrou resistência ao ozônio. A razão de resistência para os TL_{50} das populações de *T. castaneum*, *R. dominica* e *O. surinamensis* variou, respectivamente, de 1,00 a 1,76; 1,03 a 1,32; e 1,0 a 1,58 vezes da população de maior para a de menor susceptibilidade. Por outro lado, algumas destas populações apresentam elevada resistência à fosfina, indicando que não há resistência cruzada entre o ozônio e a fosfina. Foram observados diferentes padrões respiratórios entre as populações de cada espécie, indicando que a toxicidade do ozônio não teve relação com o metabolismo respiratório dos insetos. Diferentes padrões reprodutivos foram verificados nas taxas de desenvolvimento e de crescimento populacional, onde algumas populações resistentes à fosfina apresentaram custo adaptativo na ausência do inseticida. Como essas populações não mostraram resistência ao ozônio, independentemente de serem resistentes ou susceptíveis à fosfina, é possível que o ozônio venha a se tornar uma alternativa ao uso da fosfina nos programas de manejo de resistência a esse fumigante.

ABSTRACT

SOUSA, Adalberto Hipólito de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February of 2007. **Ozone as alternative for phosphine resistance management.** Adviser: Lêda Rita D'Antonino Faroni. Co-Advisers: Raul Narciso Carvalho Guedes and Marcos Rogério Tótola.

The objectives of the present study were to evaluate the ozone toxicity to populations of *Tribolium castaneum*, *Rhyzopertha dominica* and *Oryzaephilus surinamensis*, to determine if there is cross resistance between ozone and phosphine; to verify if there is relationship between the ozone toxicity and respiratory metabolism of the insects; to determine the reproductive standards of the populations in the absence of selective pressure and provide evidence of adaptive costs associated with phosphine resistance. Sixteen Brazilian populations of *T. castaneum*, 11 of *R. dominica* and nine of *O. surinamensis* were collected from the states of Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná and São Paulo. In the toxicity bioassays, the concentration of the ozone was fixed in 150 ppm (2 L min⁻¹ flow). The lethal exposure time for 50 or 95% of mortality (TL₅₀ and TL₉₅) of each insect population was estimated through time-response bioassays and used to calculate respective resistance ratios (RRs). The respiratory and instantaneous growth rates (r_i)

of each population of three species were evaluated. In addition, the development and population growth rate of two phosphine resistant and two susceptible populations of each specie were evaluated. None of the tested populations showed ozone resistance. The resistance ratios at TL₅₀ of the populations of *T. castaneum*, *R. dominica* and *O. surinamensis* ranged, respectively, from 1.00 to 1.76, 1.03 to 1.32, and 1.0 to 1.58-fold. In contrast, some of these populations showed high resistance to phosphine, indicating that there was no cross resistance between ozone and phosphine. Different respiratory standards were observed among the populations of each species, suggesting that ozone toxicity was not influenced by the respiratory metabolism of insects. Different reproductive standards were found in the development and populational growth rates, where some phosphine resistant populations showed adaptative costs in the absence of the insecticide. Since these populations did not show ozone resistance, independent of the resistance or susceptibility to phosphine, ozone can be one of the major eco-friendly alternative to phosphine for use in managing resistant pest populations.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se no cenário mundial por ser um dos maiores produtores de grãos, com uma safra prevista em 131,44 milhões de toneladas para o ciclo 2006/2007 (CONAB, 2007). O aumento contínuo na produção de grãos é determinado por aspectos sociais, econômicos, técnicos e de segurança alimentar, tendo implicações no desenvolvimento econômico, na estabilidade social e na soberania do país. Todavia, a massa de grãos, quando armazenada, comporta-se como um ecossistema em que a deterioração é o resultado da interação entre fatores bióticos e abióticos (Pomeranz, 1992). Dentre as diversas formas de vida que se adaptaram ao habitat de armazenamento após o estabelecimento de depósitos de grãos e subprodutos, encontram-se os insetos. As espécies *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), *Rhyzopertha dominica* (Fabr.) (Coleoptera: Bostrichidae) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) destacam-se entre as de maior importância econômica no Brasil, presentes em quase todas as unidades armazenadoras de grãos no país (Faroni & Sousa, 2006).

Tribolium castaneum, vulgarmente conhecido como besouro das farinhas, é uma praga de hábito alimentar secundário de reconhecida importância econômica. Alimenta-se de farinhas, ração animal e de grãos de cereais. Tem sido encontrado com maior frequência nos trópicos, em regiões de temperatura moderada. Os adultos apresentam coloração castanho-avermelhada e medem de 3,0 a 4,0 mm de comprimento. Esta espécie pode ser diferenciada de *T. confusum* (J. du Val) pela distância entre os olhos, que é estreita em *T. castaneum* (0,3 a 0,4 mm) e larga em *T. confusum* (0,4 a 0,5 mm), quando observados ventralmente (Pacheco & Paula, 1995; Faroni & Sousa, 2006). Em condições ótimas, por volta de 35 °C e 75% UR, pode completar o ciclo de ovo a adulto em até 21 dias (Rees, 1996).

O besourinho dos cereais, *Rhyzopertha dominica*, é considerado uma das pragas primárias mais destrutivas dos grãos armazenados (Gonçalves *et al.*, 2000; Faroni *et al.*, 2004). Ataca principalmente grãos de trigo, arroz em casca ou beneficiado, ocorrendo também em sorgo, milho, cevada etc (Pacheco & Paula, 1995). O adulto tem coloração castanha a marrom-escuro; mede cerca de 2,5 a 3,0 mm; são alongados, mais ou menos cilíndricos, com a cabeça dobrada para baixo e pouco visível superiormente; pronoto arredondado anteriormente, com aparência rugosa; élitros fortemente esclerotizados, com declividade suavemente convexa sem qualquer ornamentação (Rees, 1996; Faroni & Sousa, 2006). Apresenta semelhança com as espécies *Dinoderus diminitus* (F.) e *Prostephanus truncatus* (Horn), podendo ser diferenciado da primeira pelo fato de esta apresentar um par de pequenas depressões na linha mediana próxima às margens superiores; com relação à segunda, os élitros são mais achatados e abruptamente mais inclinados posteriormente do que em *R. dominica* (Rees, 1996; Faroni & Sousa, 2006). A condição ótima para o seu desenvolvimento se situa entre 32 e 35 °C e 70% UR (Rees, 1996).

O *Oryzaephilus surinamensis* tem hábito alimentar secundário e importância econômica reconhecida. Ataca, freqüentemente, cereais e seus subprodutos (Faroni & Sousa, 2006). Os adultos apresentam o corpo alongado, achatado e de coloração vermelho-escura, com comprimento variável de 1,7 a 3,3 mm. Possui três carenas longitudinais no pronoto e seis dentes laterais (Booth *et al.*, 1990; Lorini, 2002). Pode ser diferenciado de *O. mercator* (Fauv.) pelo tamanho dos olhos, que no *O. surinamensis* é menor, com a região posterior equivalente a 2/3 de seu comprimento e a cabeça apresentando formato quase triangular (Pacheco & Paula, 1995; Faroni & Sousa, 2006). Apresenta ciclo de vida com duração de 22 dias sob condições ideais de desenvolvimento, que se situam na faixa de 30 a 35 °C e 70 a 90% de UR (Rees, 1996). Essa espécie é capaz de resistir a condições climáticas adversas, como inverno, sem proteção ou refúgio, possibilitando sua distribuição em regiões temperadas e tropicais (Howe, 1956; Rees, 1996).

O controle dos insetos-praga de produtos armazenados tem sido feito com o emprego dos fumigantes fosfeto de alumínio (PH₃) e brometo de metila (CH₃Br), ou pela aplicação de inseticidas organofosforados (malatim, fenitritim, clorpirimifós-metílico e pirimifós-metílico) e piretróides (deltametrina, cipermetrina e permetrina). Contudo, a falta de estrutura adequada para a utilização do brometo de metila e os riscos oferecidos à saúde humana e ao meio ambiente levaram ao uso contínuo e indiscriminado de um único produto, a fosfina, que aliado a técnicas de aplicação inadequadas, promove o aumento da pressão de seleção de indivíduos resistentes (Navarro, 2006). No Brasil, a resistência a inseticidas em pragas de produtos armazenados tem assumido grande importância nos últimos anos, uma vez que já foram detectados elevados níveis de resistência à fosfina (Champ & Dyte, 1976; Pacheco *et al.*, 1990; Sartori *et al.*, 1991; Pimentel *et al.*, 2007) e aos principais

protetores organofosforados e piretróides (Santos, 1988; Pacheco *et al.*, 1991; Guedes *et al.*, 1994; Guedes *et al.*, 1995; Ribeiro *et al.*, 2003).

A resistência é uma mudança genética que possibilita aos indivíduos resistentes suportar doses de inseticida que seriam letais para a maioria dos indivíduos de uma população normal da mesma espécie (Guedes, 1990/1991; Subramanyam & Hagstrum, 1996). Os insetos de uma população podem apresentar resistência a mais de um inseticida, sendo classificada como resistência cruzada quando um único mecanismo confere resistência a dois ou mais inseticidas, ou resistência múltipla quando dois ou mais mecanismos diferentes conferem resistência a dois ou mais inseticidas distintos (Georghiou, 1972; Guedes, 1990/1991; Subramanyam & Hagstrum, 1996; Mckenzie, 1996).

A evolução da resistência a inseticidas está relacionada à existência de custos adaptativos associados à expressão deste fenômeno. O pleno conhecimento dos mecanismos que regulam estes custos contribui para o desenvolvimento de estratégias que podem vir a ser utilizadas no manejo integrado de pragas. Estes custos geralmente são observados na redução do desempenho reprodutivo dos indivíduos, influenciando o crescimento populacional, ocasionando adaptações comportamentais indesejáveis, ou debilitando processos fisiológicos importantes (Foster *et al.*, 2000; Coustau *et al.*, 2000; Fragoso *et al.*, 2005; Guedes *et al.*, 2006). Por outro lado, existem na literatura diversos estudos que demonstram a inexistência de custos fisiológicos associados à resistência a inseticidas em algumas linhagens resistentes (Baker *et al.*, 1998; Oppert *et al.*, 2000; Haubruge & Arnaud, 2001; Fragoso *et al.*, 2005).

Diante da preocupação em torno da evolução da resistência a inseticidas, tornam-se necessários o desenvolvimento e o aperfeiçoamento de novas técnicas de

manejo de pragas de grãos armazenados. Nesse sentido, tem sido sugerida a utilização de tratamentos como temperatura, manejo de umidade, exclusão física, controle biológico e atmosferas modificadas, dentre as quais se destaca a atmosfera modificada com o gás ozônio (Maier *et al.*, 2006).

O ozônio (O₃) é um gás resultante do rearranjo de átomos de oxigênio, podendo ser gerado por descargas elétricas ou pela incidência de radiação eletromagnética de alta energia (luz ultravioleta) no ar. À temperatura ambiente, o ozônio encontra-se no estado gasoso, apresentando coloração azul pálida e odor característico. O ozônio é uma molécula instável que decai rapidamente a oxigênio biatômico, liberando um átomo de oxigênio altamente reativo. No ar, sua meia-vida varia entre 20 e 50 minutos e em água destilada a 20 °C, o tempo de meia-vida do O₃ varia entre 20 e 30 min (Khadre *et al.*, 2001).

Em termos práticos, o ozônio apresenta numerosas aplicações, especialmente na indústria alimentícia e na medicina, sendo considerado um agente antimicrobiano de amplo espectro. Sua ação biocida se deve às suas propriedades oxidantes que lhe conferem um caráter altamente reativo (Khadre *et al.*, 2001). Basicamente, o ozônio atua promovendo danos às membranas celulares ou desencadeando a morte celular em diversos organismos vivos mediante estresse oxidativo (Hollingsworth & Armstrong, 2005), sendo eficiente no controle e eliminação de bactérias, fungos, vírus, protozoários e esporos de fungos e bactérias (An *et al.*, 2007; Khadre *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 1999). Sua ação oxidativa também possibilita sua utilização em ações terapêuticas que envolvam a eliminação de substâncias indesejadas ou prejudiciais.

Na agricultura, a utilização do ozônio ainda é restrita, embora venha sendo apontada como uma estratégia potencial para o combate a insetos-praga,

especialmente em grãos-armazenados. Erdman (1980) registrou o primeiro relato sobre a toxicidade do ozônio em insetos-praga de produtos armazenados, em que foi constatada a mortalidade de larvas, pupas e adultos de *T. castaneum* e *T. confusum* quando expostos a uma concentração de 45 ppm de ozônio. Kells *et al.* (2001) verificaram que o tratamento de grãos de milho com 50 ppm de ozônio por três dias resultou numa mortalidade de 92 a 100% dos insetos adultos de *T. castaneum*, *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae) e larvas de *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae). Zhanggui *et al.* (2003) verificaram 100% de mortalidade de adultos de *S. zeamais*, *R. dominica*, *T. castaneum* e *S. oryzae* (L.) quando grãos de milho, trigo e arroz foram fumigados com ozônio na concentração de 120 ppm durante dois dias.

Além de apresentar efeito tóxico potencial sobre insetos-praga de produtos armazenados, algumas investigações recentes têm mostrado que o ozônio não modifica a qualidade dos grãos. Pereira *et al.* (2007a); Rozado *et al.* (2007) verificaram que a ozonização de grãos de milho nas temperaturas da massa de grãos a 20, 25, 30, 35 e 40 °C, durante 168 horas consecutivas, não provocou efeito imediato ou latente após 180 dias de armazenamento, sobre a qualidade dos grãos. Adicionalmente, uma análise econômica demonstrou rentabilidade substancial da aplicação do ozônio quando grãos de milho foram armazenados durante 90, 135 e 180 dias após a ozonização realizada em condições tropicais (Pereira *et al.*, 2007b). Levando-se em conta a eficácia no controle de pragas, a ausência de resíduos nos grãos fumigados, aliadas à facilidade em ser gerado no próprio local da aplicação (Mendez *et al.*, 2003), o ozônio surge como estratégia promissora para o manejo de pragas de grãos armazenados.

Diante do exposto, os objetivos do presente trabalho são: (i) avaliar a toxicidade do ozônio em populações de *T. castaneum*, *R. dominica* e *O. surinamensis* de diferentes regiões do Brasil; (ii) determinar se existe resistência cruzada entre o ozônio e a fosfina; (iii) averiguar se há relação entre a toxicidade do ozônio e o metabolismo respiratório dos insetos; (iv) determinar os padrões reprodutivos das populações na ausência de pressão seletiva e prover evidência de custos adaptativos associados à resistência à fosfina.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Populações de insetos

Foram utilizadas 16 populações brasileiras de *T. castaneum*, 11 de *R. dominica* e nove populações de *O. surinamensis*, coletadas nos estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná e São Paulo (Figura 1 e Tabela 1), sendo algumas dessas populações resistentes à fosfina (Pimentel *et al.*, 2007). Os insetos foram criados em frascos de vidro de 1,5 L, em câmaras climáticas tipo B.O.D., sob condições constantes de temperatura (30 ± 2 °C), umidade relativa ($70\pm 5\%$) e escotofase de 24 horas. Como substrato alimentar, foram utilizados grãos de milho semi-triturados para *T. castaneum* e *O. surinamensis* ou grãos de trigo inteiros para *R. dominica*, ambos com teor de umidade de 13% base úmida (b.u.), previamente expurgados e mantidos sob refrigeração (-18 °C) para evitar reinfestação.

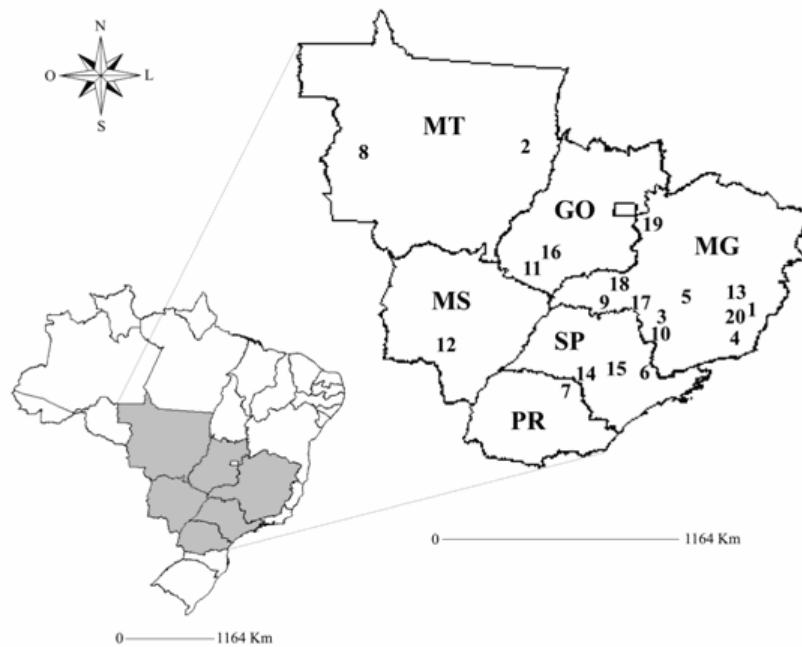


Figura 1. Locais de coleta de *Tribolium castaneum*, *Rhyzopertha dominica* e *Oryzaephilus surinamensis*, nos estados de Goiás, GO, Mato Grosso (MT), Mato Grosso do Sul (MS), Minas Gerais (MG), Paraná (PR) e São Paulo (SP). Os números apresentados no mapa correspondem aos locais indicados na Tabela 1.

2.2. Bioensaios de toxicidade do ozônio

A toxicidade do ozônio para as populações de *T. castaneum*, *R. dominica* e *O. surinamensis* foi avaliada por meio de estimativas dos tempos de exposição letais para 50 e 95% dos insetos adultos (TL₅₀ e TL₉₅). Para isso, foram estabelecidas curvas tempo-resposta mediante bioensaios com períodos crescentes de exposição ao ozônio. A concentração do gás foi fixada em 150 ppm ($\approx 0,32 \text{ g O}_3 \text{ m}^{-3}$, Anexo I), em fluxo contínuo de 2 L min^{-1} . Os bioensaios foram feitos em câmara climatizada com a temperatura do ar a $30 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e umidade relativa a $70 \pm 5\%$. Foram utilizados insetos adultos não-sexados, com idade variando de uma a quatro semanas.

Tabela 1. Códigos, origem, local e época de coleta das populações de *Tribolium castaneum*, *Rhyzopertha dominica* e *Oryzaephilus surinamensis*

Código	Cidade	Estado	Local de coleta	Produto	Mês/Ano	Espécies ¹
1	Abre Campo	MG	Silo Metálico	Milho	Dez/2005	T/O
2	Água Boa	MT	Armazém convencional	Milho/Painço	Agosto/2004	T/R
3	Alfenas	MG	Silo Metálico	Milho	Abril/2004	T
4	Astolfo Dutra	MG	Indústria de Alimentos	Cereais	Setembro/2005	O
5	Bom Despacho	MG	Silo Metálico/Fábrica de Ração	Milho/Impurezas	Mai/2005	T/R/O
6	Bragança Paulista	SP	Paiol/Fábrica de Ração	Milho/Ração Suína	Março/2005	T
7	Cambé	PR	Silo Metálico	Arroz	Dez/2005	R
8	Campos de Júlio	MT	Fundo de Silo Metálico	Milho/Soja/Impurezas	Junho/2004	T/R
9	Frutal	MG	Silo metálico	Sorgo	Dez/2005	T
10	Guaxupé	MG	Silo Metálico	Milho/Impurezas	Agosto/2005	O
11	Jataí	GO	Silo graneleiro	Milho/Impurezas	Março/2006	T
12	Maracaju	MS	Silo metálico	Milho/Soja/Sorgo/Impurezas	Setembro/2004	T
13	Nova Era	MG	Armazém convencional	Milho/Impurezas	Mai/2005	R
14	Palmital	SP	Silo Metálico	Milho	Março/2005	R
15	Piracicaba	SP	Laboratório	Milho/Trigo	Agosto/2004	T/R
16	Rio Verde	GO	Silo Metálico	Milho/Soja/Sorgo/Impurezas	Julho/2004	T/R
17a	Sacramento I	MG	Armazém graneleiro	Milho/Sorgo/Impurezas	Mai/2005	T/O
17b	Sacramento II	MG	Armazém graneleiro/Sacaria	Milho/Sorgo/Impurezas	Mai/2005	O
18	Uberlândia	MG	Fundo de Silo Metálico	Milho/Soja/Sorgo/Impurezas	Agosto/2004	T/R/O
19 ^a	Unai I	MG	Silo Metálico	Milho	Agosto/2004	T/R/O
19 ^b	Unai II	MG	Silo Metálico/Graneleiro	Milho/Impurezas	Julho/2004	O
20 ^a	Viçosa I	MG	Laboratório	Milho/Trigo	Março/2004	T/R/O
20 ^b	Viçosa II	MG	Fábrica de ração	Milho/Impurezas	Setembro/2004	T

¹T=*Tribolium castaneum*, R=*Rhyzopertha dominica*, O=*Oryzaephilus surinamensis*.

Câmaras de exposição dos insetos ao ozônio

A exposição dos insetos ao ozônio foi feita no interior de câmaras plásticas de 13 cm de largura e 20 cm de altura. A injeção e exaustão do gás foram feitas por intermédio de uma conexão instalada a 6 cm da base de cada câmara e outra na parte superior (tampa), respectivamente. O mesmo sistema foi utilizado para o controle (ar atmosférico: 78% de N₂, 0,03% de CO₂ e 21% de O₂). Os insetos de cada população foram postos em gaiolas plásticas de 4 cm de largura e 3,5 cm de altura, suspensas a 10 cm da base das câmaras. As gaiolas tiveram o fundo e a tampa confeccionados com tecido do tipo organza, permitindo a passagem livre do ozônio e do ar atmosférico.

Obtenção do ozônio e funcionamento do sistema

O ozônio foi obtido do gerador de ozônio MVM, desenvolvido pelo Departamento de Física do Instituto Tecnológico de Aeronáutica (ITA) (Figura 2a). No processo de geração do gás, foi utilizado como insumo ar ambiente seco (ponto de orvalho menor que -40 °C), obtido a partir de um compressor de ar instalado juntamente com um filtro de alumina (Figura 2b). No filtro, foi instalada uma conexão com duas saídas de ar com vazão de 6 L min⁻¹, uma passando pelo gerador de ozônio e a outra indo para o sistema que utilizou apenas ar ambiente (controle). O ozônio e o ar atmosférico foram distribuídos uniformemente para as câmaras onde se encontravam os insetos (Figura 3). Foram utilizadas três câmaras para o ozônio e três para o ar atmosférico, cada uma com uma vazão de 2 L min⁻¹.

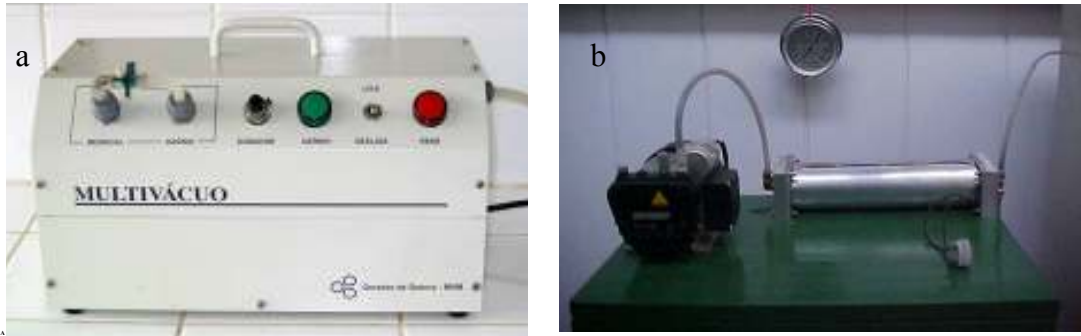


Figura 2. (a) Gerador de ozônio; (b) Compressor de ar e filtro de alumina.

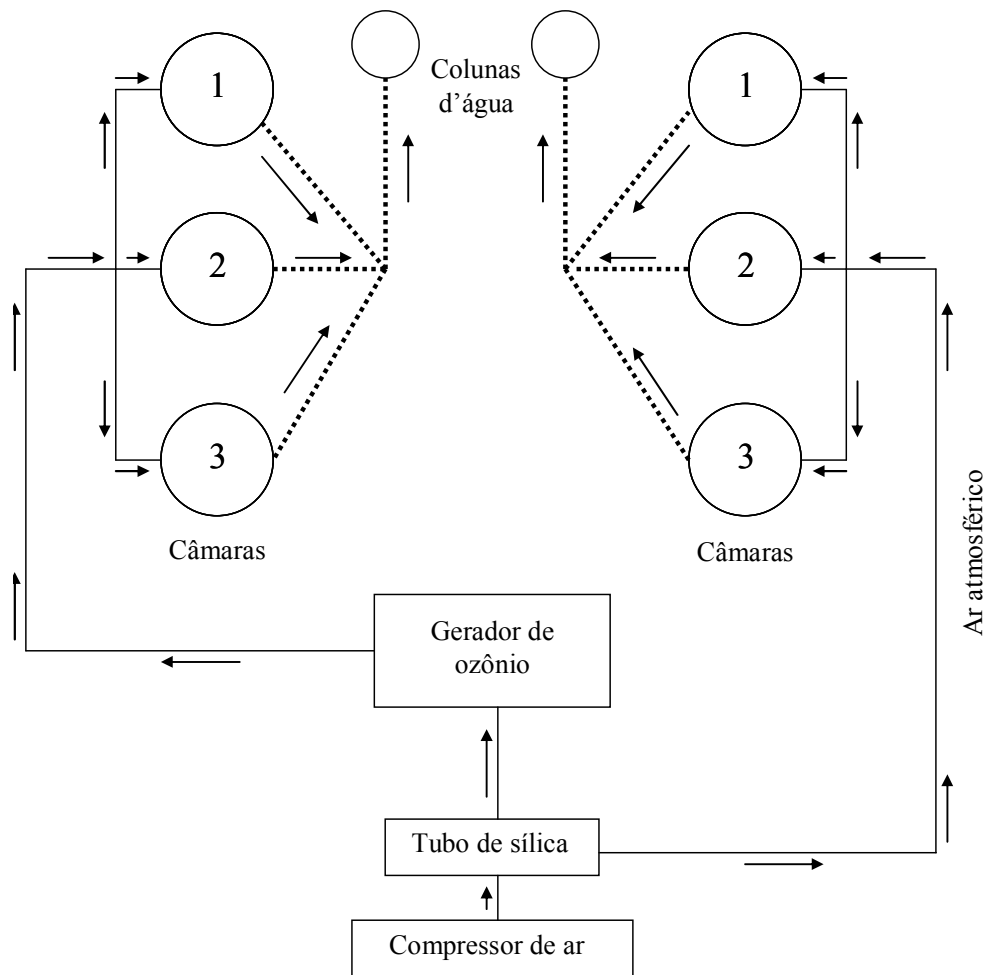


Figura 3. Esquema de aplicação do ozônio.

O ozônio residual e o ar atmosférico da exaustão foram conectados a um dispositivo confeccionado de PVC (4,5 cm de largura e 56 cm de altura), com coluna de 8,0 cm de água, antes de serem lançados na atmosfera, de modo a garantir a neutralidade do “efeito parede”.

Na geração do ozônio, o ar seco passa por um reator refrigerado, onde existe uma descarga por barreira dielétrica. Esse tipo de descarga é produzido ao aplicar uma alta voltagem entre dois eletrodos paralelos, tendo entre eles um dielétrico (vidro) e um espaço livre por onde flui o ar seco ou o oxigênio. Nesse espaço livre é produzida uma descarga em forma de filamentos, onde são gerados elétrons com energia suficiente para produzir a quebra das moléculas de oxigênio, formando o ozônio (O₃).

A produção do ozônio foi regulada em função da tensão aplicada, ajustada por meio de um variador de tensão do gerador (botão dosador) e do fluxo de ar seco, o qual foi monitorado com auxílio de um medidor de fluxo de ar (fluxômetro). A concentração do ozônio indicada pelo gerador foi confirmada utilizando-se um espectrofotômetro da marca Anseros, modelo OZOMAT GM - OEM, com precisão de 0,1 g m⁻³. Para aumentar a precisão das leituras da concentração de O₃, estabeleceu-se uma relação entre os valores lidos no espectrofotômetro (g m⁻³) e a corrente elétrica (mA), medida por um multímetro conectado na saída analógica do espectrofotômetro.

Curvas de tempo-mortalidade

Inicialmente, foram realizados testes preliminares para estimar os maiores tempos onde não ocorresse morte de insetos (extremo inferior) e o menor tempo em que ocorresse a maior mortalidade (extremo superior). Com base nos dados obtidos, foram estabelecidos, para cada população, cinco a seis intervalos de tempo de exposição para

os bioensaios definitivos (Tabelas 2, 3 e 4). Foram utilizadas três repetições de 20 insetos adultos (não-sexados) para cada combinação de período de exposição e população. A mortalidade dos insetos foi avaliada ao final de cada teste. Posteriormente, os insetos foram transferidos para placas de Petri de 60 mm de diâmetro e 10 mm de altura. Estas placas foram mantidas durante oito dias em câmaras tipo B.O.D. a 30 ± 2 °C. Após este período, a mortalidade dos insetos foi contabilizada novamente para confirmar os dados da avaliação feita no final de cada período de exposição.

Tabela 2. Tempos de exposição do ozônio (O₃) usados nos bioensaios de toxicidade das populações de *Tribolium castaneum*

População	Tempo de exposição (horas)				
Abre Campo, MG	9	15	21	27	33
Alfenas, MG	5	9	15	21	27
Água Boa, MT	9	13	17	21	25
Bragança Paulista, SP	9	15	21	27	33
Bom Despacho, MG	9	16	23	30	37
Campos de Júlio, MT	9	16	23	30	37
Frutal, MG	5	9	15	21	27
Jataí, GO	9	15	21	27	33
Maracajú, MS	9	15	21	27	33
Piracicaba, SP	9	15	21	27	33
Rio Verde, GO	9	15	21	27	33
Sacramento I, MG	9	13	17	21	25
Uberlândia, MG	9	16	23	30	37
Unaí I, MG	9	15	21	27	33
Viçosa I, MG	9	13	17	21	25
Viçosa II, MG	9	15	21	27	33

Tabela 3. Tempos de exposição do ozônio (O₃) usados nos bioensaios de toxicidade das populações de *Rhizopertha dominica*

População	Tempo de exposição (horas)					
Água Boa, MT	4	12	20	28	34	
Bom Despacho, MG	4	10	16	22	28	
Cambé, PR	4	10	16	22	28	
Campos de Júlio, MT	4	10	16	22	28	
Nova Era, MG	4	12	20	28	34	
Palmital, SP	4	10	16	22	28	
Piracicaba, SP	4	10	16	22	28	
Rio Verde, GO	4	10	16	22	28	
Uberlândia, MG	4	12	20	28	34	
Unai I, MG	4	12	20	28	34	
Viçosa I, MG	4	12	20	28	34	

Tabela 4. Tempos de exposição do ozônio (O₃) usados nos bioensaios de toxicidade das populações de *Oryzaephilus surinamensis*

População	Tempo de exposição (horas)					
Astolfo Dutra, MG	3	6	8	10	12	–
Uberlândia, MG	3	6	9	12	15	18
Guaxupé, MG	3	6	8	10	12	–
Sacramento I, MG	6	8	10	12	15	–
Sacramento II, MG	6	8	10	12	15	–
Bom Despacho, MG	6	8	10	12	15	–
Unai I, MG	6	8	10	12	15	–
Unai II, MG	6	8	10	12	15	–
Viçosa I, MG	3	6	9	12	15	18

Análises estatísticas

Os resultados de mortalidade das curvas de tempo-resposta foram submetidos à análise de probit utilizando-se o procedimento PROBIT do software SAS (SAS Institute, 1989), gerando assim as curvas de tempo-mortalidade. A razão de resistência (RR) e o intervalo de confiança ($p < 0,95$) destas populações foram calculados conforme Robertson & Preisler (1992). Adicionalmente, foram feitas análises de correlação entre as razões de resistência ao ozônio (TL₅₀) verificadas neste trabalho e as razões de resistência à fosfina (CL₅₀) observadas por Pimentel *et al.* (2007), utilizando-se o procedimento PROC CORR do software SAS (SAS Institute, 1989).

2.3. Ensaio respirométricos

Os ensaios de respirometria foram feitos em condições de laboratório utilizando-se um respirômetro do tipo CO₂ Analyser TR 2 (Sable System International, Las Vegas, EUA) e metodologia adaptada de Guedes *et al.* (2006); Pimentel *et al.* (2007).

Para mensuração da taxa respiratória média (produção de CO₂), foram utilizados três repetições de 20 insetos adultos (não-sexados) de cada população, acondicionados em câmaras respirométricas com capacidade volumétrica de 25 mL conectadas a um sistema completamente fechado. Os insetos foram colocados nas câmaras 15 horas antes da mensuração da quantidade de CO₂ produzida por eles. Para fazer a varredura de todo o CO₂ produzido no interior de cada câmara, procedeu-se à passagem de ar isento de CO₂ em fluxo de 600 ml min⁻¹ por um período de dois minutos. Essa corrente de ar faz com que todas as moléculas de CO₂ produzidas passem por um leitor de infravermelho acoplado ao sistema, que continuamente faz a mensuração do

CO₂ produzido pelos insetos e contido no interior de cada câmara. Como controle, utilizou-se uma câmara respirométrica sem insetos.

A produção de CO₂ de cada população foi dividida por sua massa corporal. Após, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de agrupamento de Scott-Knott (Scott & Knott, 1974), utilizando-se o software SAEG, versão 9.0 (SAEG, 2005). Adicionalmente, foram feitas análises de correlação entre as razões de resistência ao ozônio (TL₅₀) e a produção de CO₂, utilizando-se o procedimento PROC CORR do software SAS (SAS Institute, 1989).

2.4. Taxa de desenvolvimento populacional

Foram utilizados insetos adultos não-sexados de populações resistentes à fosfina (*T. castaneum*: de Campos de Júlio e Alfenas, *R. dominica*: de Bom Despacho e Palmital, e *O. surinamensis*: de Guaxupé e Astolfo Dutra) e susceptíveis (*T. castaneum*: de Água Boa e Bragança Paulista, *R. dominica*: de Piracicaba e Nova Era, e *O. surinamensis*: de Unaí I e Uberlândia), diagnosticadas por Pimentel *et al.* (2007).

Os experimentos foram realizados em placas de Petri de 140 mm de diâmetro e 10 mm de altura, contendo 35 g de grãos inteiros de trigo como substrato de alimentação para as populações de *R. dominica* e a mesma quantidade de grãos de milho semi-triturados para as populações de *T. castaneum* e *O. surinamensis*, com teor de umidade de 13% b.u. Os grãos foram infestados com 20 insetos adultos não-sexados, com idade variando de uma a três semanas. Posteriormente, as placas foram armazenadas em câmaras climáticas tipo B.O.D., sob condições constantes de temperatura (30±2 °C), umidade relativa (70±5%) e escotofase de 24 h. Após 13 dias, os insetos foram removidos das placas, conforme o método descrito por Trematerra *et al.* (1996). Seis

repetições foram utilizadas para cada população de *R. dominica* e quatro repetições para cada população de *T. castaneum* e *O. surinamensis*. A progênie adulta obtida no substrato de alimentação foi contabilizada e removida em dias alternados a partir da primeira emergência, que ocorreu 30, 33 e 28 dias após o início do período de oviposição para as populações de *T. castaneum*, *R. dominica* e *O. surinamensis*, respectivamente.

Os dados de emergência diária e acumulada foram submetidos a ajustes não-lineares disponíveis no software SigmaPlot, versão 7.0 (SPSS, 2001). A emergência acumulada foi analisada porque o modo de comparação é simples e os erros experimentais podem ser maiores com os dados das avaliações diárias (Trematerra *et al.*, 1996).

2.5. Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) e taxa de crescimento em função do período de armazenamento

Para os bioensaios da taxa instantânea de crescimento populacional (r_i), foram utilizadas as mesmas populações dos bioensaios de toxicidade ao ozônio, exceto as populações de Jataí de *T. castaneum* e Cambé de *R. dominica*. Para os bioensaios de crescimento populacional em função do período de armazenamento, foram utilizadas as mesmas populações dos bioensaios de taxa de desenvolvimento (item 2.4.). Utilizaram-se frascos plásticos de 95 mm de diâmetro e 100 mm de altura, contendo 200 g de grãos inteiros de trigo para as populações de *R. dominica* e 150 g de grãos de milho semi-triturados para as populações de *T. castaneum* e *O. surinamensis*, com teor de umidade de 13% b.u.. Os grãos foram infestados com 20 insetos adultos não-sexados, com idade variando de uma a três semanas. Após, os frascos foram armazenados em câmaras

climáticas tipo B.O.D., sob condições constantes de temperatura (30 ± 2 °C), umidade relativa ($70\pm 5\%$) e escotofase de 24 h. Nestes bioensaios, os insetos não foram removidos. Foram utilizadas seis repetições para cada população de *R. dominica* e de *T. castaneum* e quatro repetições para cada população de *O. surinamensis*. Nos bioensaios de r_i , a progênie adulta foi contabilizada após 110 dias de armazenamento; nos bioensaios de crescimento populacional em função do período de armazenamento, a progênie adulta foi contabilizada com 0, 35, 50, 65, 80, 95 e 110 dias do início dos bioensaios.

A taxa instantânea de crescimento (r_i) foi calculada por meio da equação proposta por Walthall & Stark (1997) (Equação 1), utilizado-se o total de insetos obtidos ao final do armazenamento (110 dias) e o número inicial de insetos de cada população. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de agrupamento de Scott-Knott (Scott & Knott, 1974), utilizando-se o software SAEG, versão 9.0 (SAEG, 2005). Foram feitas análises de correlação entre as taxas instantâneas de crescimento e as razões de resistência ao ozônio (TL_{50}) para cada espécie, utilizando-se o procedimento PROC CORR do SAS (SAS Institute, 1989). Os dados do crescimento populacional em função do período de armazenamento foram submetidos a análises de regressão, utilizando-se curvas do software SigmaPlot, versão 7.0 (SPSS, 2001).

$$r_i = \frac{\left[\ln \left(\frac{N_f}{N_0} \right) \right]}{\Delta T} \quad (\text{Eq. 1})$$

Em que N_f = Número final de insetos; N_0 = Número inicial de insetos; e ΔT = Variação de tempo (número de dias em que o ensaio foi executado).

3. RESULTADOS

3.1. Toxicidade do ozônio (O₃)

Os TL₅₀ das populações variaram de 11,39 a 20,10 horas para *T. castaneum*; de 9,22 a 12,19 horas para *R. dominica*; e de 6,10 a 9,66 horas para *O. surinamensis*. Com relação aos TL₉₅, a variação foi de 22,17 a 37,90 horas para *T. castaneum*; de 21,85 a 37,32 horas para *R. dominica*; e de 11,03 a 18,72 horas para *O. surinamensis* (Tabelas 5, 6 e 7).

Embora as populações de Frutal de *T. castaneum* (Tabela 5), Campos de Júlio de *R. dominica* (Tabela 6) e Guaxupé de *O. surinamensis* (Tabela 7) tenham apresentado os menores TL₅₀ quando comparadas às populações de Maracaju, Nova Era e Bom Despacho, respectivamente, verifica-se que a razão de resistência (RR) entre essas populações foi baixa, indicando uniformidade de resposta entre as populações de cada espécie. A razão de resistência para os TL₅₀ das populações de *T. castaneum*, *R.*

dominica e *O. surinamensis* variou, respectivamente, de 1,00 a 1,76; 1,03 a 1,32; e 1,0 a 1,58 vezes da população de maior para a de menor susceptibilidade (Tabelas 5, 6 e 7). Com relação aos TL₉₅, a variação foi de 1,05 a 1,62 vezes para *T. castaneum*; de 1,15 a 1,69 vezes para *R. dominica*; e de 1,07 a 1,54 vezes para *O. surinamensis* (Tabelas 5, 6 e 7). Ressalta-se que algumas dessas populações apresentam elevada resistência a fosfina (Tabelas 5, 6 e 7), por outro lado, não houve correlação significativa entre as razões resistência ao ozônio e à fosfina (*T. castaneum*: $r=0,22$; $p=0,52$), (*R. dominica*: $r=0,01$; $p=0,98$), (*O. surinamensis*: $r=-0,43$; $p=0,29$), indicando ausência de resistência cruzada entre os dois fumigantes.

3.2. Produção de CO₂

Houve variação da produção de CO₂ entre as populações das três espécies (*T. castaneum*: $F=2,74$; $g.l.erro=32$; $p<0,008$), (*R. dominica*: $F=2,42$; $g.l.erro=22$; $p<0,040$), (*O. surinamensis*: $F=3,36$, $g.l.erro=18$, $p<0,015$) (Tabela 8). Foram verificados dois padrões respiratórios entre as populações de cada espécie. A variação da produção de CO₂ entre as populações foi de 49,10% para *T. castaneum*, de 32,61% para *R. dominica* e de 45,68% para *O. surinamensis*. Não houve correlação significativa entre a razão de resistência ao ozônio (TL₅₀) e a produção de CO₂ (*T. castaneum*: $r=-0,16$; $p=0,55$), (*R. dominica*: $r=0,12$; $p=0,73$), (*O. surinamensis*: $r=-0,06$; $p=0,87$).

3.3. Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i)

O r_i variou significativamente entre as populações das três espécies (*T. castaneum*: $F=5,49$; $g.l_{\text{erro}}=75$; $p<0,0001$), (*R. dominica*: $F=5,72$; $g.l_{\text{erro}}=50$; $p<0,0001$), (*O. surinamensis*: $F=16,09$; $g.l_{\text{erro}}=27$; $p<0,0001$) (Tabela 9). Foram verificados três padrões de r_i para as populações de *T. castaneum* e *R. dominica*, e quatro padrões para as populações de *O. surinamensis*. Em *T. castaneum*, cinco populações foram agrupadas no menor padrão de r_i . A variação dos valores dessas populações, em relação à população com maior desempenho reprodutivo, foi de 26,92 a 38,46%. As populações de Palmital de *R. dominica* e Astolfo Dutra de *O. surinamensis* foram as únicas de cada espécie agrupadas no menor padrão de r_i , diagnosticadas como resistentes à fosfina por Pimentel *et al.* (2007) (Tabelas 6 e 7). A variação dos valores médios de r_i entre as populações de *R. dominica* e *O. surinamensis* foi de 25,71% e 26,31%, respectivamente (Tabela 9). Para as três espécies, não houve correlação significativa do r_i com a razão de resistência ao ozônio (TL_{50}) (*T. castaneum*: $r=0,01$; $p=0,97$), (*R. dominica*: $r=-0,32$; $p=0,37$), (*O. surinamensis*: $r=0,20$; $p=0,61$).

3.4. Desenvolvimento populacional

Emergência acumulada

O modelo sigmóide de três parâmetros ($y=a/1+\exp(-(x-b)/c)$) foi o que melhor se ajustou à emergência acumulada das populações de *T. castaneum* ($P<0,0001$; $R^2>0,99$; Figura 4 e Tabela 10) e *O. surinamensis* ($P<0,0001$; $R^2>0,99$; Figura 5 e Tabela 11), e o modelo gompertz de três parâmetros ($y=a\exp(-\exp(-(x-b)/c))$) foi o que melhor se ajustou às populações de *R. dominica* ($P<0,0001$; $R^2>0,99$; Figura 6 e Tabela 12), sendo,

portanto, os modelos usados. Em *T. castaneum*, houve sobreposição da emergência acumulada das populações de Alfenas e Campos de Júlio (Figura 4), resistentes à fosfina, as quais apresentaram maior tempo para se tornar adultas em relação às populações de Água Boa e Bragança Paulista, suscetíveis à fosfina. A emergência total foi menor nas populações de Alfenas ($62,58 \pm 2,19$ insetos/placa) e Campos de Júlio ($77,75 \pm 2,06$ insetos/placa), quando comparadas às populações de Água Boa ($113,58 \pm 3,51$ insetos/placa) e Bragança Paulista ($94,08 \pm 2,75$ insetos/placa).

Para *O. surinamensis*, houve sobreposição da emergência acumulada das populações de Uberlândia e Unai I, suscetíveis à fosfina, as quais apresentaram menor tempo para se tornar adultas em relação às populações de Astolfo Dutra e Guaxupé, resistentes à fosfina (Figura 5). A emergência total foi maior nas populações de Unai I ($178 \pm 6,68$ insetos/placa), Guaxupé ($149,92 \pm 12,24$ insetos/placa) e Uberlândia ($141,08 \pm 5,22$ insetos/placa), tendo sido menor na população de Astolfo Dutra ($93 \pm 6,57$ insetos/placa).

Com relação à *R. dominica*, verificou-se sobreposição da emergência acumulada das populações de Bom Despacho e Nova Era, as quais apresentaram maior tempo para se tornar adultas que as populações de Palmital e Piracicaba (Figura 6). A população de Palmital, resistente à fosfina, destacou-se entre as demais por apresentar emergência total ($123,63 \pm 17,70$ insetos/placa) substancialmente inferior às demais populações. Já a população de Bom Despacho, que também é resistente à fosfina, teve a maior emergência total ($230,60 \pm 61,60$ insetos/placa) e as populações de Piracicaba e Nova Era, suscetíveis à fosfina, apresentaram emergência total intermediária ($218,25 \pm 16,42$ insetos/placa e $194,22 \pm 35,25$ insetos/placa, respectivamente).

Emergência diária

O modelo gaussiano com três parâmetros ($y = a \exp(-0,5((x-b)/c)^2)$) foi o que melhor se ajustou à emergência diária dos adultos das populações de *T. castaneum* ($P < 0,0001$; $R^2 > 0,89$; Figura 7 e Tabela 10) e *O. surinemenisis* ($P < 0,0001$; $R^2 > 0,93$; Figura 8 e Tabela 11), e o modelo log normal com três parâmetros ($y = a \exp(-0,5(\ln(x/b)/c)^2)$) foi o que melhor se ajustou às populações de *R. dominica* ($P < 0,0001$; $R^2 > 0,91$; Figura 9 e Tabela 12), sendo, portanto, os modelos usados. Nos primeiros dias, a emergência diária das populações de *T. castaneum* (Figura 7) e de *O. surinemenisis* (Figura 8) foi maior que a emergência diária das populações de *R. dominica* (Figura 9). Por este motivo, os modelos utilizados para as populações de *T. castaneum* e *O. surinemenisis* não proporcionaram melhores ajustes para as populações de *R. dominica*, nem em relação à emergência diária nem à emergência acumulada.

Foram observadas diferenças substanciais na emergência diária dos adultos das populações das três espécies. Para *T. castaneum* (Figura 7), as curvas da emergência diária das populações de Água Boa e Bragança Paulista apresentaram semelhança. Essas populações necessitaram de 15 dias após o início da emergência para alcançar a máxima emergência diária. Já as populações de Alfenas e Campos de Júlio apresentaram menor emergência diária e necessitaram de maior tempo, 18 dias após o início da emergência, para alcançar a máxima emergência diária.

Para *O. surinamensis* (Figura 8), as emergências diárias das populações de Unai I, Guaxupé e Uberlândia foram semelhantes, diferenciando-se da população de Astolfo Dutra, que apresentou a menor emergência diária. As populações de Unai I e Uberlândia alcançaram a emergência máxima com 16 dias após o início da emergência, enquanto as

populações de Guaxupé e Astolfo Dutra necessitaram de 17 a 19 dias após o início da emergência.

Com relação a *R. dominica* (Figura 9), as emergências diárias das populações de Bom Despacho, Piracicaba e Nova Era também foram semelhantes, sendo que a máxima emergência diária foi registrada entre 18 e 20 dias após o início da emergência. Já a população de Palmital exibiu menor emergência e necessitou de menor tempo, 16 dias após o início da emergência, para alcançar a máxima emergência diária.

3.5. Crescimento populacional

O melhor ajuste para o crescimento populacional foi obtido por meio do modelo sigmoidal com três parâmetros ($y=a/(1+\exp(-(x-b)/c))$) para todas as populações de *T. castaneum* ($P\leq 0,0003$; $R^2>0,97$; Figura 10 e Tabela 10), *O. surinamensis* ($P\leq 0,0003$; $R^2>0,97$; Figura 11 e Tabela 11) e *R. dominica* ($P\leq 0,0003$; $R^2>0,97$; Figura 12 e Tabela 12). Da mesma forma que no desenvolvimento populacional, também foram observadas diferenças no crescimento populacional das populações das três espécies (Tabelas 10, 11 e 12). Em *T. castaneum*, as populações de Campos de Júlio e Alfenas apresentaram menor taxa de crescimento que as populações de Água Boa e Bragança Paulista. As populações de Astolfo Dutra de *O. surinamensis* e Palmital de *R. dominica* apresentaram menor crescimento populacional em relação às demais populações de cada espécie. Ressalta-se que algumas das populações que apresentaram maior desempenho reprodutivo tiveram seu crescimento prejudicado no final do período de armazenamento devido à alta densidade populacional que ocorreu em suas unidades experimentais.

Tabela 5. Toxicidade do ozônio (O₃) às populações de *Tribolium castaneum*

Populações	Inclinação ± E.P.M. ¹	TL ₅₀ (IF 95%) horas	RR (IC 95%) TL ₅₀	TL ₉₅ (IF 95%) horas	RR (IC 95%) TL ₉₅	χ ²	p
Frutal, MG ²	5,28±0,22	11,39 (10,95-11,84)	-	23,35 (22,03-24,95)	-	5,27	0,15
Viçosa I, MG ^{RF}	5,70±0,28	11,41 (10,97-11,82)	1,00 (0,95-1,06)	22,17 (21,05-23,57)	1,05 (0,97-1,15)	2,17	0,54
Alfenas, MG ^{RF}	4,35±0,18	11,74 (11,24-12,25)	1,03 (0,97-1,09)	28,07 (26,15-30,43)	1,20 (1,09-1,32)	1,43	0,70
Sacramento I, MG	5,24±0,27	11,81 (11,32-12,27)	1,04 (0,98-1,10)	24,33 (22,87-26,18)	1,04 (0,94-1,15)	2,73	0,43
Água Boa, MT ^{SF}	8,46±0,36	15,24 (14,88-15,59)	1,34 (1,27-1,40)	23,85 (22,98-24,88)	1,02 (0,94-1,10)	2,69	0,44
Abre Campo, MG	5,35±0,23	16,22 (15,64-16,78)	1,42 (1,36-1,48)	32,93 (31,13-35,13)	1,41 (1,31-1,52)	4,12	0,25
Piracicaba, SP ^{SF}	4,84±0,22	16,24 (15,63-16,85)	1,42 (1,35-1,50)	35,50 (33,33-38,2)	1,52 (1,38-1,67)	2,92	0,40
Rio Verde, GO ^{RF}	4,89±0,22	16,68 (15,99-17,27)	1,46 (1,38-1,54)	36,05 (33,78-38,87)	1,54 (1,40-1,70)	2,52	0,47
Viçosa II, MG	5,78±0,25	16,83 (16,27-17,38)	1,48 (1,40-1,55)	32,42 (30,77-34,43)	1,39 (1,27-1,52)	2,75	0,43
Unai I, MG ^{RF}	5,66±0,22	16,88 (16,29-17,48)	1,48 (1,41-1,56)	32,98 (31,08-35,32)	1,41 (1,29-1,54)	1,92	0,59
Jataí, GO	6,35±0,33	16,92 (16,30-17,48)	1,48 (1,41-1,56)	30,70 (29,2-32,57)	1,31 (1,21-1,43)	3,86	0,28
Bragança Paulista, SP ^{SF}	5,69±0,26	17,12 (16,52-17,72)	1,50 (1,43-1,58)	33,32 (31,4-35,68)	1,43 (1,31-1,55)	5,48	0,14
Bom Despacho, MG ^{RF}	5,00±0,22	17,77 (17,10-18,43)	1,56 (1,48-1,64)	37,90 (35,68-40,65)	1,62 (1,48-1,78)	5,12	0,16
Uberlândia, MG ^{RF}	5,53±0,24	17,82 (17,18-18,45)	1,56 (1,48-1,65)	35,32 (33,47-37,58)	1,51 (1,39-1,65)	0,74	0,86
Campos de Júlio, MT ^{RF}	5,77±0,25	19,23 (18,58-19,87)	1,69 (1,61-1,77)	37,07 (35,13-39,43)	1,59 (1,46-1,72)	4,42	0,22
Maracajú, MS	8,16±0,37	20,10 (19,60-20,62)	1,76 (1,69-1,84)	31,98 (30,72-33,50)	1,37 (1,27-1,47)	1,68	0,60

¹E.P.M.=Erro padrão da média; ²População padrão de susceptibilidade.

^{SF}=Susceptível à fosfina, ^{RF}=Resistente à fosfina (Pimentel *et al.*, 2007).

TL=Tempo letal; IF 95%=Intervalo fiducial a 95% de probabilidade; IC 95%=Intervalo de confiança a 95% de probabilidade; RR=Razão de resistência para TL₅₀ e TL₉₅; χ²=Qui-quadrado; p=Probabilidade.

Tabela 6. Toxicidade do ozônio (O₃) às populações de *Rhyzopertha dominica*

Populações	Inclinação	TL ₅₀ (IF 95%)	RR (IC 95%)	TL ₉₅ (IF 95%)	RR (IC 95%)	χ^2	<i>p</i>
	± E.P.M. ¹	horas	TL ₅₀	horas	TL ₉₅		
Campos de Júlio, MT ^{2 SF}	4,39±0,19	9,22 (8,75-9,70)	-	21,85 (20,38-23,65)	-	5,70	0,13
Bom Despacho, MG ^{RF}	3,87±0,16	9,46 (8,94-9,97)	1,03 (0,95-1,11)	25,18 (23,40-27,37)	1,15 (1,03-1,29)	5,58	0,13
Cambé, PR	3,99±0,17	9,67 (9,15-10,17)	1,05 (0,97-1,13)	24,95 (23,23-27,08)	1,14 (1,02-1,28)	0,73	0,87
Palmital, SP ^{RF}	2,99±0,14	10,37 (9,74-11,00)	1,12 (1,04-1,22)	36,87 (33,23-41,62)	1,69 (1,47-1,94)	5,77	0,12
Rio Verde, GO ^{RF}	3,56±0,16	10,60 (9,93-11,26)	1,15 (1,05-1,25)	30,72 (28,25-33,82)	1,40 (1,21-1,63)	2,12	0,55
Piracicaba, SP ^{SF}	3,72±0,19	10,77 (10,10-1,43)	1,17 (1,06-1,28)	29,78 (27,33-32,95)	1,36 (1,19-1,55)	2,44	0,49
Viçosa I, MG ^{SF}	3,14±0,14	11,17 (10,39-11,95)	1,16 (1,05-1,29)	37,32 (33,93-41,60)	1,14 (1,01-1,29)	1,13	0,78
Água Boa, MT ^{SF}	3,20±0,15	11,26 (10,53-11,10)	1,22 (1,10-1,36)	36,73 (33,32-41,13)	1,68 (1,48-1,92)	5,39	0,14
Unai I, MG ^{RF}	3,75±0,16	11,85 (11,17-12,53)	1,28 (1,18-1,40)	32,50 (30,13-35,43)	1,49 (1,30-1,70)	4,22	0,24
Uberlândia, MG ^{RF}	3,55±0,16	12,10 (11,38-12,83)	1,31 (1,21-1,43)	35,17 (32,33-38,70)	1,61 (1,42-1,82)	4,49	0,21
Nova Era, MG ^{SF}	3,68±0,18	12,19 (11,43-12,92)	1,32 (1,21-1,44)	34,13 (31,52-37,45)	1,56 (1,37-1,78)	5,25	0,15

¹E.P.M.=Erro padrão da média; ²População padrão de susceptibilidade.

^{SF}=Susceptível à fosfina, ^{RF}=Resistente à fosfina (Pimentel *et al.*, 2007).

TL=Tempo letal; IF 95%=Intervalo fiducial a 95% de probabilidade; IC 95%=Intervalo de confiança a 95% de probabilidade; RR=Razão de resistência para TL₅₀ e TL₉₅; χ^2 =Qui-quadrado; *p*=Probabilidade.

Tabela 7. Toxicidade do ozônio (O₃) às populações de *Oryzaephilus surinamensis*

Populações	Inclinação ± E.P.M. ¹	TL ₅₀ (IF 95%) horas	RR (IC 95%) TL ₅₀	TL ₉₅ (IF 95%) horas	RR (IC 95%) TL ₉₅	χ^2	<i>p</i>
Guaxupé, MG ^{2RF}	6,39±0,29	6,10 (5,88-6,30)	-	11,03 (10,51-11,65)	-	5,71	0,13
Astolfo Dutra, MG ^{RF}	5,76±0,26	6,13 (5,90-6,35)	1,00 (0,95-1,06)	11,83 (11,22-12,56)	1,07 (0,99-1,16)	5,73	0,12
Uberlândia, MG ^{SF}	5,31±0,21	7,14 (6,87-7,40)	1,17 (1,11-1,23)	14,57 (13,83-15,45)	1,32 (1,22-1,43)	7,57	0,11
Viçosa I, MG ^{RF}	4,82±0,21	8,53 (8,18-8,88)	1,40 (1,32-1,48)	18,72 (17,63-20,03)	1,7 (1,57-1,83)	5,89	0,21
Unai II, MG ^{RF}	8,19±0,36	8,55 (8,33-8,76)	1,40 (1,33-1,47)	13,57 (13,04-14,21)	1,23 (1,14-1,33)	2,35	0,50
Unai I, MG ^{SF}	8,31±0,40	8,82 (8,62-9,03)	1,45 (1,40-1,50)	13,92 (13,33-14,64)	1,26 (1,17-1,36)	5,47	0,14
Sacramento I, MG ^{RF}	7,02±0,32	9,33 (9,09-9,57)	1,53 (1,48-1,58)	16,00 (15,25-16,91)	1,45 (1,34-1,57)	4,62	0,20
Sacramento II, MG	10,11±0,45	9,42 (9,23-9,61)	1,54 (1,49-1,60)	13,70 (13,23-14,26)	1,24 (1,15-1,34)	3,97	0,26
Bom Despacho, MG ^{RF}	6,73±0,29	9,66 (9,38-9,93)	1,58 (1,53-1,64)	16,97 (16,21-17,87)	1,54 (1,42-1,66)	4,81	0,19

¹E.P.M.=Erro padrão da média; ²População padrão de susceptibilidade.

^{SF}=Susceptível à fosfina, ^{RF}=Resistente à fosfina (Pimentel *et al.*, 2007).

TL=Tempo letal; IF 95%=Intervalo fiducial a 95% de probabilidade; IC 95%=Intervalo de confiança a 95% de probabilidade; RR=Razão de resistência para TL₅₀ e TL₉₅; χ^2 =Qui-quadrado; *p*=Probabilidade.

Tabela 8. Taxa respiratória das populações de *Tribolium castaneum*, *Rhyzopertha dominica* e *Oryzaephilus surinamensis*

Populações	Taxa respiratória ($\mu\text{mol CO}_2/\text{mg/h}$) \pm E.P.M. ¹		
	<i>T. castaneum</i>	<i>R. dominica</i>	<i>O. surinamensis</i>
Jataí, GO	0,167 \pm 0,0304 ^a	-	-
Alfenas, MG	0,162 \pm 0,0046 ^a	-	-
Viçosa I, MG	0,153 \pm 0,0038 ^a	0,037 \pm 0,0002 ^b	0,058 \pm 0,0021 ^b
Bragança Paulista, SP	0,152 \pm 0,0143 ^a	-	-
Viçosa II, MG	0,143 \pm 0,0161 ^a	-	-
Maracaju, MS	0,141 \pm 0,0104 ^a	-	-
Sacramento I, MG	0,133 \pm 0,0123 ^a	-	0,074 \pm 0,0063 ^a
Bom Despacho, MG	0,130 \pm 0,0124 ^a	0,044 \pm 0,0016 ^a	0,081 \pm 0,0031 ^a
Frutal, MG	0,125 \pm 0,0194 ^b	-	-
Água Boa, MT	0,120 \pm 0,0160 ^b	0,046 \pm 0,0002 ^a	-
Piracicaba, SP	0,119 \pm 0,0058 ^b	0,037 \pm 0,0011 ^b	-
Uberlândia, MG	0,115 \pm 0,0164 ^b	0,042 \pm 0,0002 ^a	0,073 \pm 0,0054 ^a
Rio Verde, GO	0,108 \pm 0,0162 ^b	0,035 \pm 0,0059 ^b	-
Campos de Júlio, MT	0,098 \pm 0,0118 ^b	0,036 \pm 0,0024 ^b	-
Abre Campo, MG	0,094 \pm 0,0099 ^b	-	-
Unaí I, MG	0,085 \pm 0,0009 ^b	0,035 \pm 0,0044 ^b	0,074 \pm 0,0081 ^a
Palmital, SP	-	0,042 \pm 0,0009 ^a	-
Cambé, PR	-	0,041 \pm 0,0015 ^a	-
Nova Era, MG	-	0,031 \pm 0,0043 ^b	-
Sacramento II, MG	-	-	0,080 \pm 0,00363 ^a
Guaxupé, MG	-	-	0,074 \pm 0,0067 ^a
Astolfo Dutra, MG	-	-	0,073 \pm 0,0137 ^a
Unaí II, MG	-	-	0,044 \pm 0,0006 ^b

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância. ¹E.P.M.=Erro padrão da média.

Tabela 9. Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) das populações de *Tribolium castaneum*, *Rhyzopertha dominica* e *Oryzaephilus surinamensis*

Populações	Taxa Instantânea de Crescimento (r_i) \pm E.P.M. ¹		
	<i>T. castaneum</i>	<i>R. dominica</i>	<i>O. surinamensis</i>
Bom Despacho, MG	0,026 \pm 0,0005 ^a	0,035 \pm 0,0006 ^a	0,038 \pm 0,0004 ^a
Água Boa, MT	0,023 \pm 0,0010 ^a	0,033 \pm 0,0004 ^a	-
Bragança Paulista, SP	0,023 \pm 0,0004 ^a	-	-
Frutal, MG	0,021 \pm 0,0008 ^b	-	-
Rio Verde, GO	0,021 \pm 0,0017 ^b	0,030 \pm 0,0006 ^b	-
Uberlândia, MG	0,021 \pm 0,0014 ^b	0,031 \pm 0,0011 ^b	0,033 \pm 0,0004 ^c
Viçosa I, MG	0,021 \pm 0,0014 ^b	0,032 \pm 0,0011 ^a	0,034 \pm 0,0006 ^c
Campos de Júlio, MT	0,021 \pm 0,0002 ^b	0,034 \pm 0,0002 ^a	-
Piracicaba, SP	0,020 \pm 0,0015 ^b	0,033 \pm 0,0013 ^a	-
Viçosa II, MG	0,020 \pm 0,0020 ^b	-	-
Alfenas, MG	0,019 \pm 0,0006 ^c	-	-
Unai I, MG	0,017 \pm 0,0008 ^c	0,031 \pm 0,0008 ^b	0,037 \pm 0,0005 ^b
Abre Campo, MG	0,017 \pm 0,0002 ^c	-	-
Maracaju, MS	0,016 \pm 0,0015 ^c	-	-
Sacramento I, MG	0,016 \pm 0,0015 ^c	-	0,039 \pm 0,0004 ^a
Nova Era, MG	-	0,031 \pm 0,0010 ^b	-
Palmital, SP	-	0,026 \pm 0,0018 ^c	-
Sacramento II, MG	-	-	0,038 \pm 0,0003 ^a
Guaxupé, MG	-	-	0,036 \pm 0,0010 ^b
Unai II, MG	-	-	0,035 \pm 0,0018 ^b
Astolfo Dutra, MG	-	-	0,028 \pm 0,0009 ^d

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância. ¹E.P.M.=Erro padrão da média.

Tabela 10. Sumário das análises de regressão não-lineares das curvas de emergência acumulada, emergência diária e crescimento populacional de *Tribolium castaneum*

Variável	Modelo	População	Parâmetros estimados (\pm EPM)			g.l.erro	F	P	R ²
			a	b	c				
Emergência acumulada	$y=a/(1+\exp(-(x-b)/c))$	Água Boa	96,93 \pm 0,76	15,24 \pm 0,21	5,38 \pm 0,18	21	3393,97	<0,0001	0,99
		Brag. Paulista	98,90 \pm 0,59	14,52 \pm 0,17	5,01 \pm 0,14	21	5159,58	<0,0001	0,99
		Campos de Júlio	99,69 \pm 0,67	17,88 \pm 0,16	5,39 \pm 0,14	21	6202,17	<0,0001	0,99
		Alfenas	100,21 \pm 0,57	17,93 \pm 0,14	5,72 \pm 0,12	21	8851,86	<0,0001	0,99
Emergência diária	$y=a\exp(-0,5((x-b)/c)^2)$	Água Boa	9,68 \pm 0,48	15,01 \pm 0,55	9,41 \pm 0,60	21	96,93	<0,0001	0,90
		Brag. Paulista	8,70 \pm 0,28	14,57 \pm 14,57	8,90 \pm 8,90	21	282,21	<0,0001	0,96
		Campos de Júlio	6,71 \pm 0,27	18,19 \pm 0,44	9,41 \pm 0,46	21	151,18	<0,0001	0,93
		Alfenas	5,25 \pm 0,20	18,27 \pm 0,42	9,75 \pm 0,45	21	172,42	<0,0001	0,94
Crescimento populacional	$y=a/(1+\exp(-(x-b)/c))$	Água Boa	313 \pm 16,83	60,67 \pm 2,73	14,83 \pm 2,21	4	231,77	<0,0001	0,99
		Brag. Paulista	275,96 \pm 12,08	58,76 \pm 2,25	14,50 \pm 1,88	4	296,49	<0,0001	0,99
		Campos de Júlio	346,28 \pm 75,42	94,68 \pm 11,34	24,00 \pm 3,79	4	296,13	<0,0001	0,99
		Alfenas	504,78 \pm 525,56	127,08 \pm 51,06	29,36 \pm 8,29	4	122,02	0,0003	0,98

Todos os parâmetros estimados foram significativos a $P<0,01$ pelo teste t-Student.

Tabela 11. Sumário das análises de regressão não-lineares das curvas de emergência acumulada, emergência diária e crescimento populacional de *Oryzaephilus surinamensis*

Variável	Modelo	População	Parâmetros estimados (\pm EPM)			g.l.erro	F	P	R ²
			a	b	c				
Emergência acumulada	$y=a/(1+\exp(-(x-b)/c))$	Unai I	98,61 \pm 0,37	15,72 \pm 0,09	4,35 \pm 0,08	20	14948,75	<0,0001	0,99
		Uberlândia	97,98 \pm 0,57	16,01 \pm 0,13	4,23 \pm 0,11	20	6558,32	<0,0001	0,99
		Guaxupé	98,75 \pm 0,38	17,67 \pm 0,08	4,01 \pm 0,07	20	17324,26	<0,0001	0,99
		Astolfo Dutra	97,53 \pm 0,72	16,83 \pm 0,16	4,12 \pm 0,14	20	4460,70	<0,0001	0,99
Emergência diária	$y=a\exp(-0,5((x-b)/c)^2)$	Unai I	19,63 \pm 0,75	16,46 \pm 0,30	6,91 \pm 0,31	20	215,34	<0,0001	0,96
		Uberlândia	16,05 \pm 0,66	16,45 \pm 0,31	6,58 \pm 0,32	20	186,59	<0,0001	0,95
		Guaxupé	18,30 \pm 0,74	18,41 \pm 0,29	6,11 \pm 0,29	20	210,57	<0,0001	0,95
		Astolfo Dutra	10,70 \pm 0,47	17,09 \pm 0,33	6,55 \pm 0,33	20	172,11	<0,0001	0,94
Crescimento populacional	$y=a/(1+\exp(-(x-b)/c))$	Unai I	1493,49 \pm 259,50	76,59 \pm 10,69	25,26 \pm 5,30	4	145,41	0,0002	0,99
		Uberlândia	954,59 \pm 131,11	66,31 \pm 8,87	25,32 \pm 5,41	4	126,04	0,0002	0,98
		Guaxupé	1313,61 \pm 140,71	65,36 \pm 6,35	22,02 \pm 4,21	4	154,24	0,0002	0,99
		Astolfo Dutra	511,64 \pm 48,05	55,62 \pm 5,93	22,78 \pm 4,67	4	119,10	0,0003	0,98

Todos os parâmetros estimados foram significativos a $P<0,01$ pelo teste t-Student.

Tabela 12. Sumário das análises de regressão não-lineares das curvas de emergência acumulada, emergência diária e crescimento populacional de *Rhyzopertha dominica*

Variável	Modelo	População	Parâmetros estimados (\pm SEM)			g.l.erro	F	P	R ²
			a	b	c				
Emergência acumulada	$y = a \exp(-\exp(-(x-b)/c))$	Piracicaba	98,89 \pm 0,48	17,89 \pm 0,12	9,07 \pm 0,18	28	14133,18	<0,0001	0,99
		Nova Era	99,43 \pm 0,63	19,47 \pm 0,15	9,29 \pm 0,22	28	10372,30	<0,0001	0,99
		Bom Despacho	100,99 \pm 0,37	19,70 \pm 0,08	9,20 \pm 0,13	28	31090,19	<0,0001	0,99
		Palmital	98,78 \pm 0,52	16,42 \pm 0,13	9,75 \pm 0,20	28	11671,25	<0,0001	0,99
Emergência diária	$y = a \exp(-0,5 (\ln(x/b)/c)^2)$	Piracicaba	18,25 \pm 0,79	18,00 \pm 0,46	0,47 \pm 0,02	28	166,77	<0,0001	0,92
		Nova Era	878,02 \pm 0,69	19,13 \pm 0,46	0,45 \pm 0,02	28	175,13	<0,0001	0,93
		Bom Despacho	18,82 \pm 0,61	19,49 \pm 0,37	0,46 \pm 0,02	28	303,17	<0,0001	0,96
		Palmital	9,85 \pm 0,37	15,99 \pm 0,42	0,53 \pm 0,02	28	196,61	<0,0001	0,93
Crescimento populacional	$y = a / (1 + \exp(-(x-b)/c))$	Piracicaba	1194,78 \pm 219,13	93,92 \pm 8,12	19,28 \pm 3,04	4	321,08	<0,0001	0,99
		Nova Era	1007,85 \pm 332,80	93,66 \pm 17,29	23,70 \pm 6,07	4	119,19	0,0003	0,98
		Bom Despacho	1116,34 \pm 131,40	79,63 \pm 5,45	17,09 \pm 3,03	4	206,94	<0,0001	0,99
		Palmital	1490,30 \pm 2348,99	142,02 \pm 78,62	32,15 \pm 9,95	4	116,34	0,0003	0,98

Todos os parâmetros estimados foram significativos a $P < 0,01$ pelo teste t-Student.

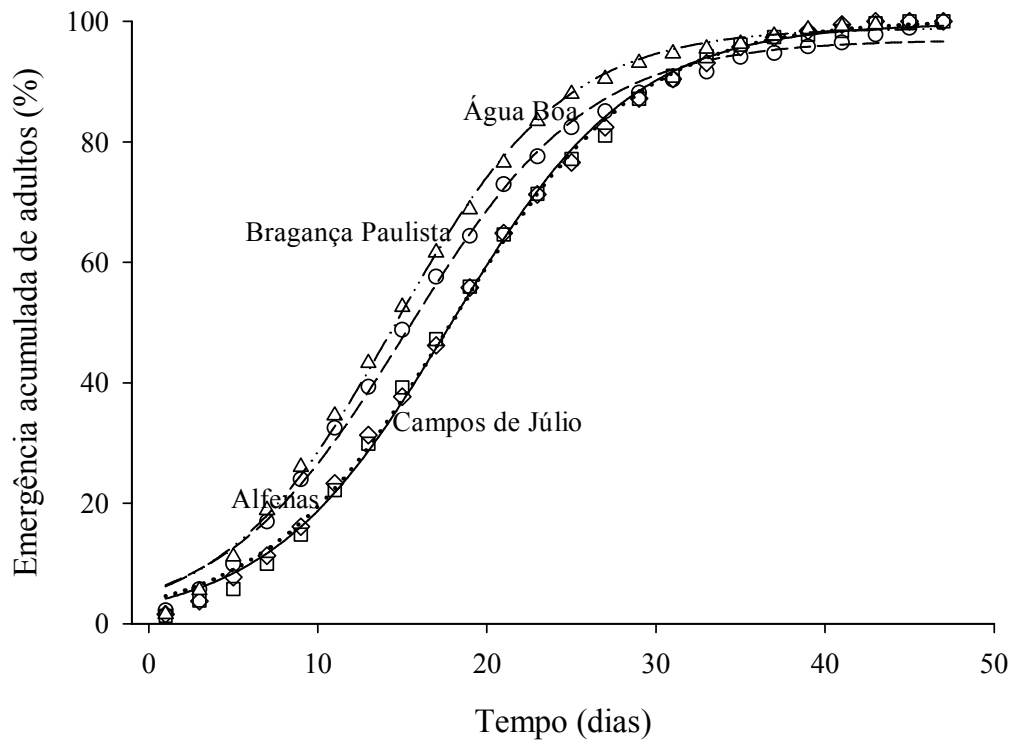


Figura 4. Emergência acumulada de quatro populações de *Tribolium castaneum* (Água Boa, MT (○); Bragança Paulista, SP (Δ); Campos de Júlio, MT (□) e Alfenas, MG (◇)). Os símbolos representam as médias das quatro repetições (g.l.erro=21; $P < 0,0001$; $R^2 > 0,99$).

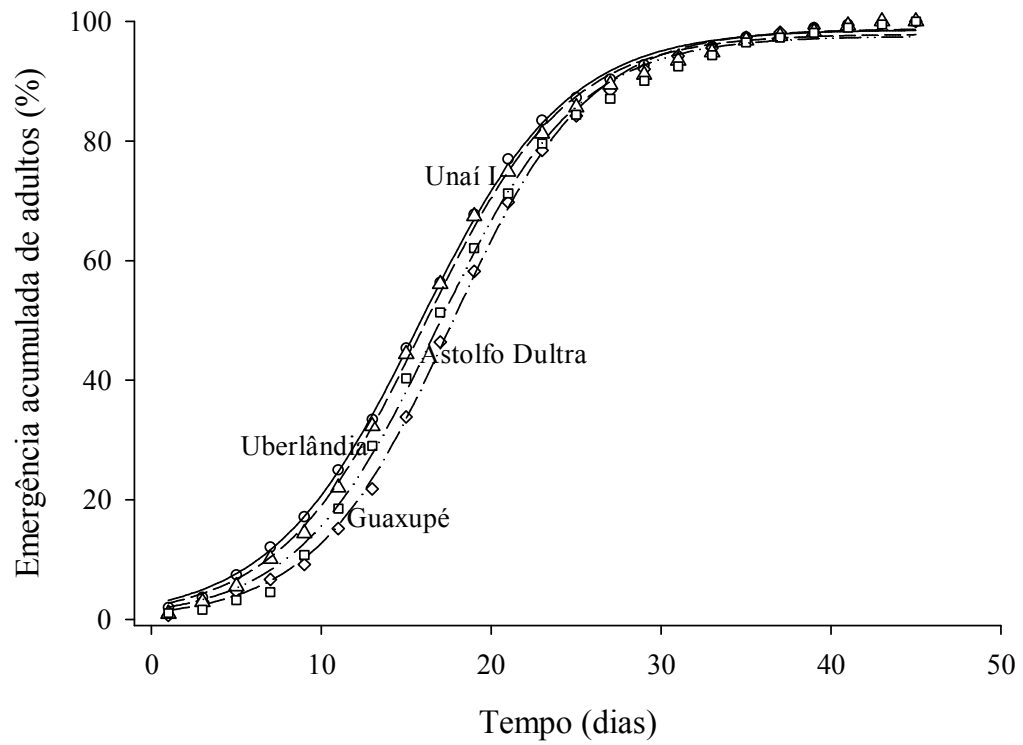


Figura 5. Emergência acumulada de quatro populações de *Oryzaephilus surinamensis* (Unai I, MG (○); Guaxupé, MG (◇); Uberlândia, MG (Δ) e Astolfo Dutra, MG (□)). Os símbolos representam as médias das quatro repetições (g.l.erro=20; $P < 0,0001$; $R^2 > 0,99$).

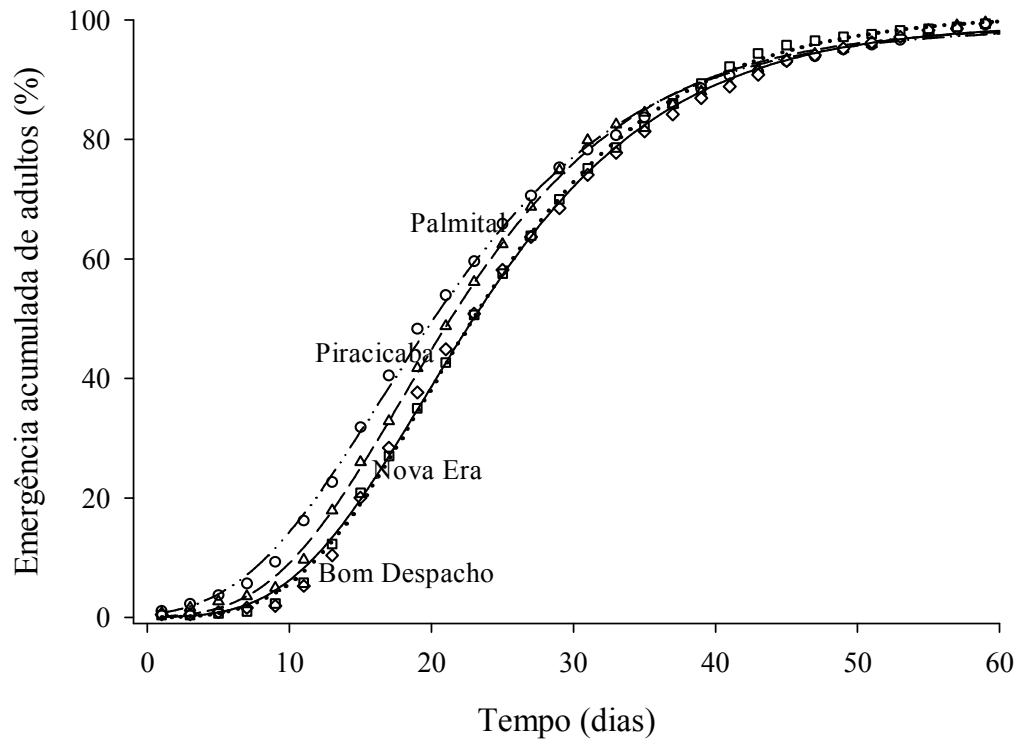


Figura 6. Emergência acumulada de quatro populações de *Rhyzopertha dominica* (Piracicaba, SP (Δ); Nova Era, MG (\diamond); Bom Despacho, MG (\square) e Palmital, SP (\circ)). Os símbolos representam as médias das seis repetições (g.l.erro=28; $P < 0,0001$; $R^2 > 0,99$).

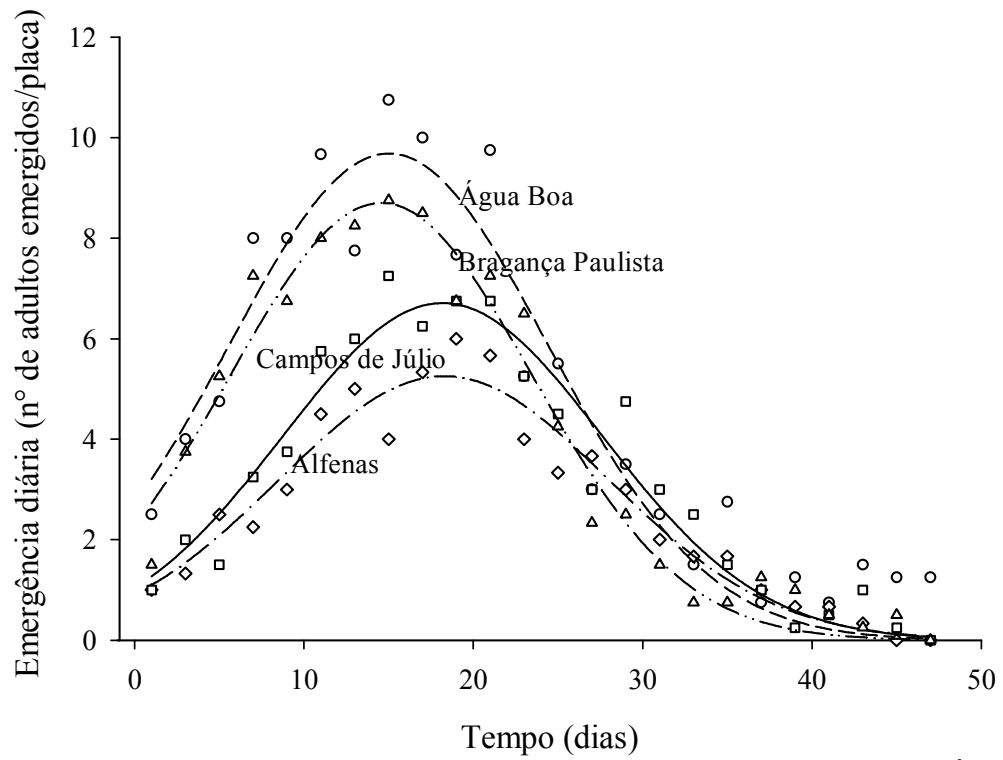


Figura 7. Emergência diária de quatro populações de *Tribolium castaneum* (Água Boa, MT (○), Bragança Paulista, SP (△); Campos de Júlio, MT (□) e Alfenas, MG (◇)). Os símbolos representam as médias das quatro repetições (g.l.erro=21; $P < 0,0001$; $R^2 > 0,89$).

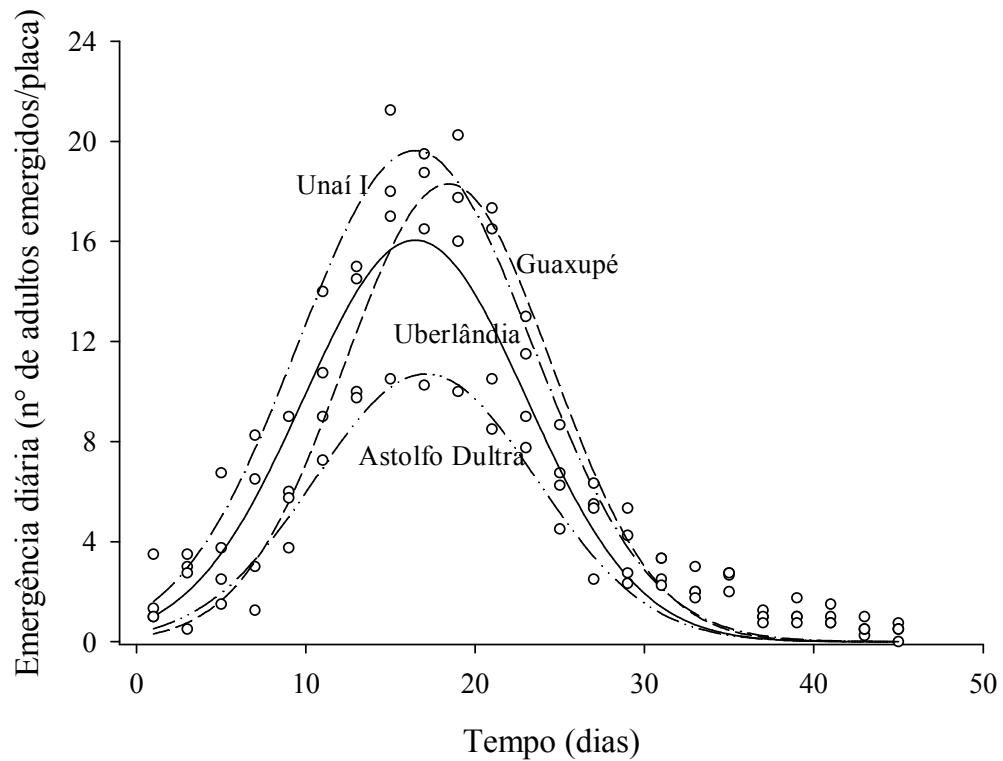


Figura 8. Emergência diária de quatro populações de *Oryzaephilus surinamensis* (Unai I, MG (○); Guaxupé, MG (◇); Uberlândia, MG (△) e Astolfo Dutra, MG (□)). Os símbolos representam as médias das quatro repetições (g.l.erro=20; $P < 0,0001$; $R^2 > 0,93$).

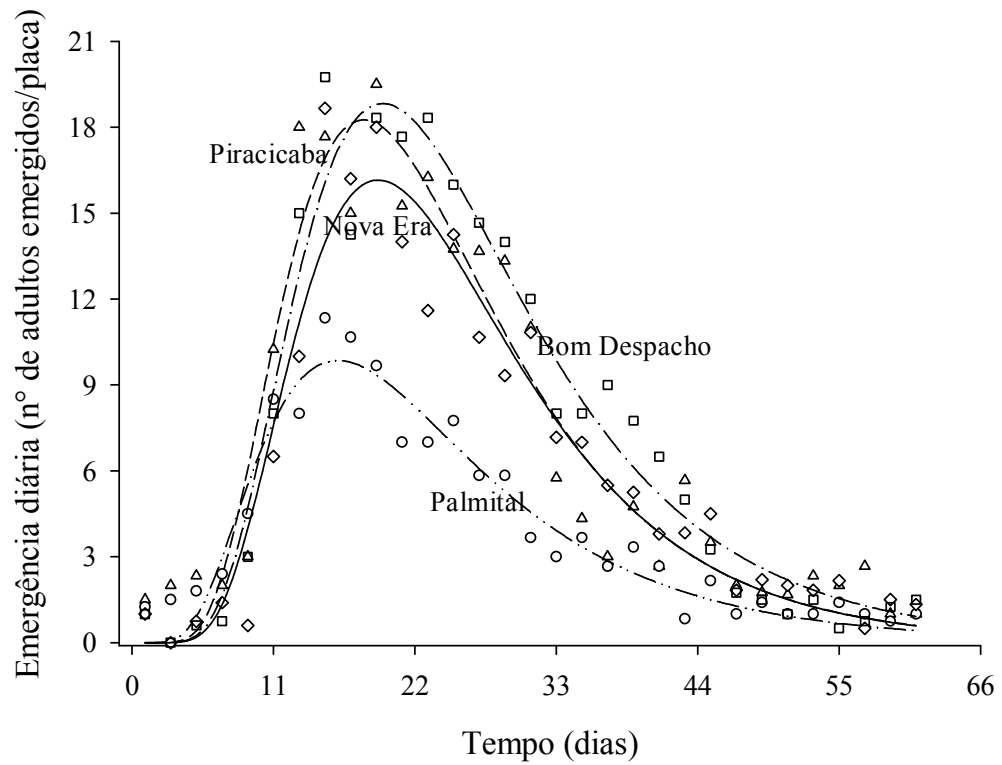


Figura 9. Emergência diária de quatro populações de *Rhizopertha dominica* (Piracicaba, SP (Δ); Nova Era, MG (◇); Bom Despacho, MG (□) e Palmital, SP (○)). Os símbolos representam as médias das seis repetições (g.l.erro=28; $P < 0,0001$; $R^2 > 0,91$).

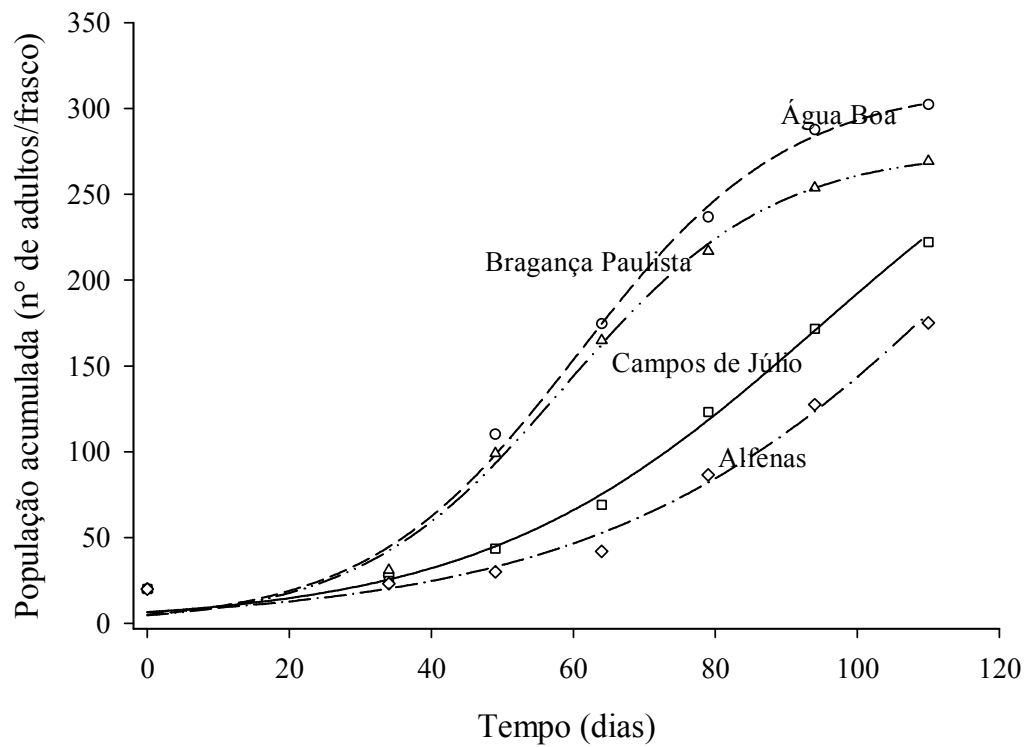


Figura 10. Crescimento populacional de quatro populações de *Tribolium castaneum* (Água Boa, MT (○); Bragança Paulista, SP (Δ); Campos de Júlio, MT (□) e Alfenas, MG (◇)). Os símbolos representam as médias das quatro repetições (g.l.erro=4; $P \leq 0,0003$; $R^2 > 0,97$).

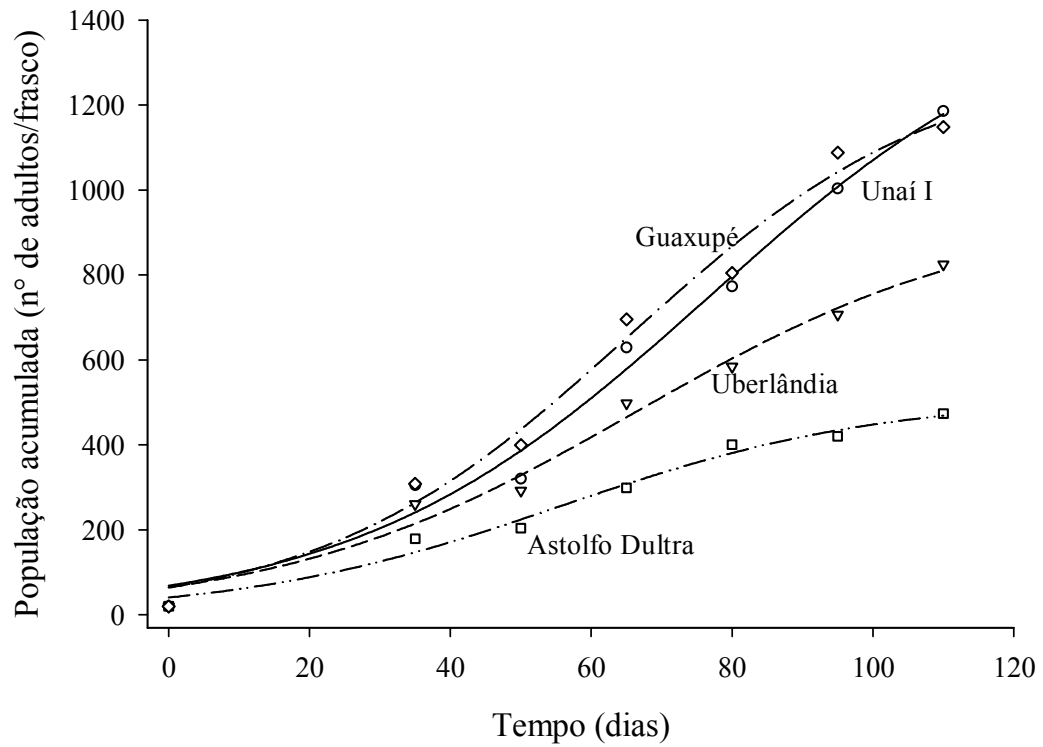


Figura 11. Crescimento populacional de quatro populações de *Oryzaephilus surinamensis* (Unai I, MG (○); Uberlândia, MG (△); Guaxupé, MG (◇) e Astolfo Dutra, MG (□)). Os símbolos representam as médias das quatro repetições (g.l.erro=4; $P \leq 0,0003$; $R^2 > 0,97$).

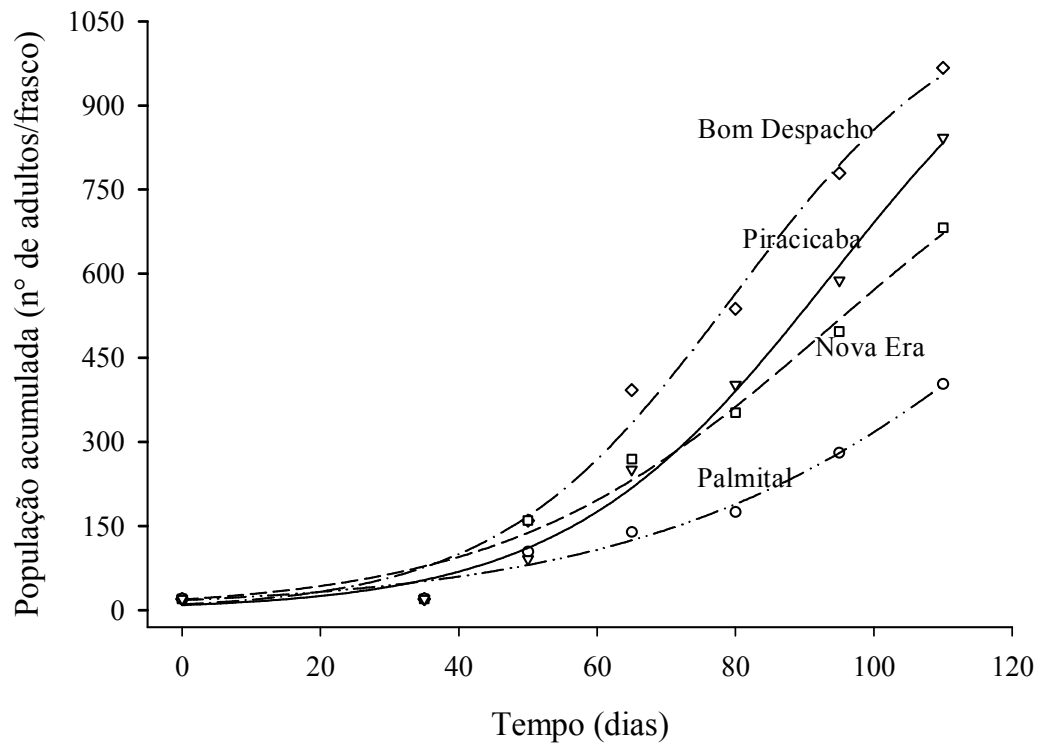


Figura 12. Crescimento populacional de quatro populações de *Rhizopertha dominica* (Piracicaba, SP (Δ); Nova Era, MG (\diamond); Bom Despacho, MG (\square) e Palmital, SP (\circ)). Os símbolos representam as médias das seis repetições (g.l.erro=4; $P \leq 0,0003$; $R^2 > 0,97$).

4. DISCUSSÃO

As populações de *T. castaneum*, *R. dominica* e *O. surinamensis* apresentaram uniformidade de resposta ao ozônio e ausência de resistência a esse gás (Tabelas 5, 6 e 7). Ao contrário desses resultados, alguns trabalhos têm registrado resistência à fosfina (Pacheco *et al.*, 1990; Sartori *et al.*, 1991; Lorini *et al.*, 2007; Pimentel *et al.*, 2007) e aos inseticidas piretróides e organofosforados (Santos, 1988; Pacheco *et al.*, 1991; Guedes *et al.*, 1994; Guedes *et al.*, 1995; Ribeiro *et al.*, 2003) em populações de insetos-praga de produtos armazenados coletadas em diferentes regiões do Brasil. Recentemente, Pimentel *et al.* (2007) detectaram elevados níveis de resistência à fosfina em algumas das populações estudadas no presente trabalho (sete de *T. castaneum*, cinco de *R. dominica* e seis de *O. surinamensis*). Nenhuma dessas populações mostrou resistência ao ozônio, independentemente de ser resistente ou susceptível à fosfina, o que permite concluir que não existe resistência cruzada entre o ozônio e a fosfina. Estudos prévios realizados por Zhanggui *et al.* (2003) reforçam esta hipótese. De acordo com esses autores, populações de *T.*

castaneum, *R. dominica* e *S. zeamais* resistentes à fosfina, coletadas na China e na Austrália, também não apresentaram resistência ao ozônio.

A toxicidade dos fumigantes varia com a taxa respiratória dos insetos (Cotton, 1932), que pode ser mensurada pela produção de CO₂ ou consumo de O₂ (Emekci *et al.*, 2002; Emekci *et al.*, 2004; Mitcham *et al.*, 2006). Neste trabalho, as populações apresentaram diferentes padrões de produção de CO₂ (Tabela 8), e algumas populações tiveram valores significativamente inferiores. No entanto, nenhuma população apresentou resistência ao ozônio, indicando que a toxicidade do fumigante não teve relação com o metabolismo respiratório dos insetos. Porém, era esperado que as populações com maior taxa respiratória apresentassem maior sensibilidade ao ozônio, pois a captação dos fumigantes é geralmente proporcional à taxa respiratória dos insetos, podendo variar de acordo com as condições ambientais em que se encontram (Cotton, 1932). Esses resultados reforçam a hipótese de ausência de resistência cruzada entre a fosfina e o ozônio, pois o incremento da resistência à fosfina está relacionado à redução do metabolismo respiratório (Pimentel *et al.*, 2007).

Semelhante ao que foi observado para a taxa respiratória, as populações das três espécies também apresentaram diferentes padrões de r_i (Tabela 9). As populações de Alfenas e Unai I de *T. castaneum*, Palmital de *R. dominica* e Astolfo Dutra de *O. surinamensis* foram agrupadas no menor padrão de r_i , sendo resistentes à fosfina (Tabelas 5, 6 e 7). Nos bioensaios de desenvolvimento (Figuras 7, 8 e 9) e de crescimento populacional (Figuras 10, 11 e 12), as populações resistentes à fosfina (de Alfenas e Campos de Júlio de *T. castaneum*, Palmital de *R. dominica* e Astolfo Dutra de *O. surinamensis*) também apresentaram menor desempenho reprodutivo em relação às populações susceptíveis (de Água Boa e Bragança Paulista de *T.*

castaneum, de Piracicaba e Nova Era de *R. dominica* e de Unaí I e Uberlândia de *O. surinamensis*). Ressalta-se que as populações de Campos de Júlio e Alfnas de *T. castaneum* (Figura 4) e de Astolfo Dutra e Guaxupé de *O. surinamensis* (Figura 5), resistentes à fosfina, apresentaram maior tempo de desenvolvimento em relação às suscetíveis.

O pior desempenho reprodutivo das populações resistentes à fosfina provavelmente está associado a um custo adaptativo a este fumigante. De acordo com Mckenzie (1996), o custo adaptativo pode ser evidente na ausência do agente seletivo. O potencial biológico de insetos de *T. castaneum* resistentes e suscetíveis à fosfina foi mensurado na ausência do inseticida por El-Lakwah *et al.* (1992). Estes autores observaram que a viabilidade dos ovos/fêmea foi de 76% nas populações resistentes e de 90% nas populações suscetíveis. Adicionalmente, o tempo de geração e a mortalidade larval foram maiores nos insetos resistentes.

Os modelos de evolução de resistência a inseticidas baseiam-se freqüentemente em três premissas: (1) a aquisição de adaptação a um novo ambiente (resistência a inseticidas) envolve grandes modificações no fenótipo ancestral; (2) resistência a inseticidas raramente é fixada em populações naturais, apesar da vantagem da seletividade sob uso de inseticidas (Mckenzie, 1996; Coustau *et al.*, 2000); e (3) mecanismos de resistência a inseticidas estão freqüentemente associados a funções bioquímicas e moleculares alteradas (Mckenzie, 1996). A evolução da resistência à fosfina para as populações estudadas neste trabalho parece estar de acordo com a primeira e a terceira premissas, desde que as adaptações e os mecanismos bioquímicos e/ou moleculares envolvidos na resistência sejam os mesmos e estejam presentes em todas as populações resistentes, conforme proposto para piretróides por Fragoso *et al.* (2005).

A desvantagem reprodutiva observada nas populações resistentes à fosfina provê suporte para a hipótese de que a alocação de energia para a produção dos mecanismos de defesa contra inseticidas nos indivíduos resistentes estaria prejudicando o seu desempenho reprodutivo (White & Bell, 1990; Longstaff, 1991; Pimentel *et al.*, 2007). Com relação às populações resistentes que apresentaram padrões reprodutivos semelhantes às suscetíveis, é possível que a resistência dessas populações seja estável, conforme sugerido por Fragoso *et al.* (2005) para piretróides.

Adicionalmente a outros trabalhos que mostram o potencial do ozônio como inseticida fumigante para as condições tropicais (Kells *et al.*, 2001; Pereira *et al.*, 2007a; Rozado *et al.*, 2007), os resultados deste trabalho indicam que este fumigante poderá se tornar uma alternativa ao uso da fosfina, podendo ainda ser usado nos programas de manejo de resistência à fosfina. Uma das prerrogativas para o desenvolvimento de qualquer tática de manejo de resistência deve ser diminuir a velocidade de estabelecimento de populações com alta frequência de genes que conferem resistência a um determinado agente de controle (Cruz, 2002). Uma alternativa é o emprego do uso alternado ou em mosaico de dois ou mais inseticidas que não apresentam resistência cruzada entre si (Subramanyam & Hagstrum, 1996). Com o uso de diferentes agentes de controle, os genótipos resistentes apresentam desvantagem reprodutiva na ausência do agente seletivo, permitindo o aumento da frequência dos genótipos suscetíveis (Mckenzie, 1996; Subramanyam & Hagstrum, 1996).

O conhecimento da toxicidade do ozônio às populações estudadas e o conhecimento dos custos adaptativos associados à resistência à fosfina podem ter importância prática no manejo destas populações, uma vez que podem servir como

base para elaboração de táticas de manejo de resistência e, se bem sucedidas, podem contribuir para a redução dos prejuízos advindos das falhas de controle.

5. CONCLUSÕES

Por meio dos resultados obtidos neste trabalho e considerando os objetivos propostos, conclui-se que:

- (i) As populações de *T. castaneum*, *R. dominica* e *O. surinamensis* coletadas em seis estados do Brasil mostraram uniformidade de resposta ao ozônio e nenhuma exibiu resistência a este fumigante;
- (ii) Levando-se em consideração que a maioria das populações estudadas neste trabalho são resistentes à fosfina e que estas populações não apresentaram resistência ao ozônio, pode-se afirmar que não houve resistência cruzada entre os dois fumigantes;
- (iii) As populações apresentaram diferentes padrões respiratórios, mas não houve relação entre a toxicidade ao ozônio e a taxa respiratória dos insetos;

- (iv) Diferentes padrões de desempenho reprodutivo foram constatados na ausência de pressão seletiva por inseticidas. Como nenhuma população apresentou resistência ao ozônio e a maioria é resistente à fosfina, pode-se afirmar que a causa da desvantagem reprodutiva das populações resistentes à fosfina está relacionada a custos adaptativos associados a esta;

- (v) Os resultados desse trabalho indicam que o ozônio é uma alternativa ao uso da fosfina, podendo ser usado nos programas de manejo de resistência à fosfina.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

An, J.; Zhang, M.; Lu, Q. Changes in some quality indexes in fresh-cut green asparagus treated with aqueous ozone and subsequent modified atmosphere packaging. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 1, p. 340-344, 2007.

Baker, J. E.; Perez-Mendonça, J.; Beeman, R. W.; Throne, J. E. Fitness of a malathion-resistant strain of the parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 91, n. 1, p. 50-55, 1998.

Booth, R. G.; Cox, M. L.; Madge, R. B. **IIE Guides to insects of importance to man: 3, Coleoptera**, London: CAB International, 1990. 384p.

Champ, B. R.; Dyte, C. E. **Informe de la prospección mundial de la FAO sobre susceptibilidad a los insecticidas de las plagas de granos almacenados**, Roma: FAO, 1976. 356p.

CONAB - Companhia nacional de abastecimento. **Acompanhamento da safra 2006/2007 - 12º Levantamento de grãos, setembro de 2007**. Disponível em <http://www.conab.gov.br/>. Acessado em: 01 de setembro de 2007.

Cotton, R. T. The relation of respiratory metabolism of insects to their susceptibility to fumigants. **Journal of Economic Entomology**, v. 25, p. 1088-1103, 1932.

Coustau, C.; Chevillon, C.; Ffrench-Constant, R. H. Resistance to xenobiotics and parasites: can we count the cost? **Trends in Ecology and Evolution**, v. 15, n. 9, p. 378-383, 2000.

Cruz, I. Manejo de Resistência de Insetos-Praga a Inseticidas, com ênfase em *Spodoptera frugiperda* (Smith). **Documentos 21**, Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2002. 15p.

El-Lakwah, S. M.; Ahmed, S. M.; Khaltab, M. M.; Abdel-Latief, A. M. Selection of the red flour beetle (*Tribolium castaneum* Herbst) for resistance to phosphine in the laboratory and biological observations on the resistance strain. In: Otto, D.; Weber, B. **Insecticides: Mechanism of action and resistance**, Andover: Intercept, 1992. p. 409-426.

Emekci, M.; Navarro, S.; Donahaye, E.; Rindner, M.; Azrieli, A. Respiration of *Tribolium castaneum* (Herbst) at reduced oxygen concentrations. **Journal of Stored Products Research**, v. 38, n. 5, p. 413-425, 2002.

Emekci, M.; Navarro, S.; Donahaye, E.; Rindner, M.; Azrieli, A. Respiration of *Rhyzopertha dominica* (F.) at reduced oxygen concentrations. **Journal of Stored Products Research**, v. 40, n. 1, p. 27-38, 2004.

Erdman, H. E. Ozone toxicity during ontogeny of two species of flour beetles, *Tribolium confusum* and *T. castaneum*. **Environmental Entomology**, v. 9, n. 1, p. 16-17, 1980.

Faroni, L. R. A.; Oliveira, C. R. F.; Gonçalves, J. R.; Pimentel, M. A. G. Influência da alimentação na biologia de *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera: Bostrichidae). **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 29, n. 1, p. 13-18, 2004.

Faroni, L. R. A.; Sousa, A. H. Aspectos biológicos e taxonômicos dos principais insetos-praga de produtos armazenados. In: Almeida, F. A. C.; Duarte, M. E. M.; Mata, M. E. R. M. C. **Tecnologia de Armazenagem em sementes**, Campina Grande: UFCG, 2006. p. 371-402.

Foster, S. P.; Denholm, I.; Devonshire, A. L. The ups and downs of insecticide resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae*) in the U.K. **Crop Protection**, v. 19, n. 8, p. 873-879, 2000.

Fragoso, D. B.; Guedes, R. N. C.; Peternelli, L. A. Developmental rates and population growth of insecticide-resistant and susceptible populations of *Sitophilus zeamais*. **Journal of Stored Product Research**, v. 41, n. 3, p. 271-281, 2005.

Georghiou, G. P. The evolution of resistance to pesticides. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 3, p. 133-168, 1972.

Gonçalves, R. A.; Santos, J. P.; Chandra, P. K.; Germani, R. Controle de *Rhyzopertha dominica* pela atmosfera controlada com CO₂ em trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 1, p. 1-9, 2000.

Guedes, R. N. C. Manejo integrado para a proteção de grãos armazenados contra insetos. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 15/16, n. 1/2, p. 3-48. 1990/1991.

Guedes, R. N. C.; Lima, J. O. G.; Santos, J. P.; Cruz, C. D. Inheritance of deltamethrin resistance in a Brazilian strain of maize weevil *Sitophilus zeamais* Mots. **International Journal of Pest Management**, v. 40, n. 1, p. 103-106, 1994.

Guedes, R. N. C.; Lima, J. O. G.; Santos, J. P.; Cruz, C. D. Resistance to DDT and pyrethroids in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Product Research**, v. 31, n. 2, p. 145-150, 1995.

Guedes, R. N. C.; Oliveira, E. E.; Guedes, N. M. P.; Ribeiro, B.; Serrão, J. E. Cost and mitigation of insecticide resistance in the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Physiological Entomology**, v. 31, n. 1, p. 30-38, 2006.

Haubruge, E.; Arnaud, A. Fitness consequences malathion-specific resistance in red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae) and selection for resistance in the absence of malathion. **Journal of Economic Entomology**, v. 94, n. 2, p. 552-557, 2001.

Hollingsworth, R. G.; Armstrong, J. W. Potential of temperature, controlled atmospheres and ozone fumigation to control thrips and mealybugs on ornamental plants for export. **Journal of Economic Entomology**, v. 98, n. 2, p. 289-298, 2005.

Howe, R. W. The biology of the two common storage species of *Oryzaephilus* (Coleoptera: Cucujidae). **Annual Applied Biology**, v. 44, n. 2, p. 341-355, 1956.

Kells, S. A.; Mason, L. J.; Maier, D.E.; Wolososhuk, C. P. Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. **Journal of Stored Products Research**, v. 37, n. 4, p. 371-383, 2001.

Khadre, M. A.; Yousef, A. E.; Kim, J. G. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 9, p. 1242-1252, 2001.

Kim, J. G.; Yousef, A. E.; Chism, Q. W. Use of ozone to inactivate microorganisms in lettuce. **Journal of Food Safety**, v. 19, n. 1, p. 17-34, 1999.

Longstaff, B. C. An experimental study of the fitness of susceptible and resistant strains of *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) exposed to insecticide. **Journal of Stored Products Research**, v. 27, n. 1, p. 75-82, 1991.

Lorini, I. Descrição, biologia e danos das principais pragas de grãos armazenados. In: Lorini, I.; Miike, L. H.; Scussel, V. M. **Armazenagem de grãos**, Campinas: IBG, 2002. p. 381-397.

Lorini, I.; Collins, P. J.; Darglish, G. J.; Nayak, M. K.; Pavic, H. Detection and characterisation of strong resistance to phosphine in Brazilian *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). **Pest Management Science**, v. 63, n. 4, p. 358-364, 2007.

Maier, D. E.; Hulasare, R.; Campabadall, C. A.; Woloshuk, C. P.; Mason, L. Ozonation as a non-chemical stored product protection technology. In: Lorini, I.; Bacaltchuk, B.; Beckel, H.; Deckers, D.; Sundfeld, E.; Santos, J. D.; Biagi, J. D.; Celaro, J. C.; Faroni, L. R. A.; Bortolini, L. O. F.; Sartori, M. R.; Elias, M. C.;

Guedes, R. N. C.; Fonseca, R. G.; Scussel, V. M. **Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored-Product Protection**, Campinas: ABRAPOS, 2006. p. 773-788.

McKenzie, J. A. Selection Against Resistant Phenotypes. In: McKenzie, J. A. **Ecological and evolutionary aspects of insecticide resistance**, Austin: Academic Press, 1996. 185p.

Mendez, F.; Maier, D. E.; Mason, L. J.; Woloshuck, C. P. Penetration of ozone into columns of stored grains and effects on chemical composition and processing performance. **Journal of Stored Products Research**, v. 39, n. 1, p. 33-44, 2003.

Mitcham, E.; Martin, T.; Zhou, S. The mode of action of insecticidal controlled atmospheres. **Bulletin of Entomological Research**, v. 96, n. 3, p. 213-222, 2006.

Navarro, S. New global challenges to the use of gaseous treatments in stored products. In: Lorini, I; Bacaltchuk, B.; Beckel, H.; Deckers, D.; Sundfeld, E.; Santos, J. D.; Biagi, J. D.; Celaro, J. C.; Faroni, L. R. A.; Bortolini, L. O. F.; Sartori, M. R.; Elias, M. C.; Guedes, R. N. C.; Fonseca, R. G.; Scussel, V. M. **Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored-Product Protection**, Campinas: ABRAPOS, 2006. p. 495-509.

Oppert, B.; Hammel, R.; Throne, J. E.; Kramer, K. J. Fitness costs of resistance to *Bacillus thuringiensis* in the Indianmeal moth, *Plodia interpunctella*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 96, n. 3, p. 281-287, 2000.

Pacheco, I. A.; Paula, D. C. **Insetos de grãos armazenados - identificação e biologia**, Campinas: Fundação Cargil, 1995. 228p.

Pacheco, I. A.; Sartori, M. R.; Bolonhezi, S. Resistance to malathion, pirimiphos-methyly and fenitritihion in Coleoptera from stored grains. In: Fleurat-Lessard, F.; Ducom, P. **Proceedings of the 5 th International Working Conference on Stored-Product Protection**, Bordeaux: Imprimerie du Médoc, 1991. p. 1029-1037.

Pacheco, I. A.; Sartori, M. R.; Taylor, R. W. D. Levantamento de resistência de insetos-praga de grãos armazenados à fosfina no estado de São Paulo. **Coletânea do ITAL**, v. 20, n. 2, p. 144-154, 1990.

Pereira, A. M.; Faroni, L. R. A.; Sousa, A. H.; Urruchi, W. I.; Paes, J. L. Influência da temperatura da massa de grãos sobre a toxicidade do ozônio a *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 2007a. (in press)

Pereira, A. M.; Faroni, L. R. A.; Silva Júnior, A. G.; Sousa, A. H.; Paes, J. L. Viabilidade econômica do gás ozônio como fumigante em grãos de milho armazenados. **Engenharia na Agricultura**, 2007b. (in press)

Pimentel, M. A. G.; Faroni, L. R. A.; Tótola, M. R.; Guedes, R. N. C. Phosphine resistance, respiration rate and fitness consequences in stored-product insects. **Pest Management Science**, v. 63, n. 9, p. 876-881, 2007.

Pomeranz, Y. Insects: identification, damage and detection. In.: Sauer, D. B. **Storage cereal grains and their products**, Minnesota: American Association of Cereal Chemists Inc., 1992. p. 435-479.

Rees, D. P. Coleoptera. In: Subramanyam, B.; Hagstrum, D. W. **Integrated Management of Insects in Stored Products**, New York: Marcel Dekker, 1996. p. 1-39.

Ribeiro, B. M.; Guedes, R. N. C.; Oliveira, E. E.; Santos, J. P. Insecticide resistance and synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 39, n. 1, p. 21-31, 2003.

Robertson, J. L.; Preisler, H. K. **Pesticide bioassays with Arthropods**, Boca Raton, Florida: CRC Press, 1992. 127p.

Rozado, A. F.; Faroni, L. R. A.; Urruchi, W. M. I.; Guedes, R. N. C.; Paes, J. L. Ozônio no controle de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 2007. (in press)

SAEG. **Sistema para Análises Estatísticas**, versão 9.0, Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 2005.

Santos, J. P. Comparação entre populações de *Sitophilus zeamais* quanto à resistência a inseticidas piretróides e fosforados. In: Congresso Nacional do Milho e Sorgo, 15, 1988, Piracicaba, **Resumos ...** Piracicaba, 1988. pp. 71.

Sartori, M. R., Pacheco, I. A., Vilar, R. M. Resistance to phosphine in stored grain insects in Brazil. In: Fleurat-Lessard, F., Ducom. P. **Proceedings of the 5th International Working Conference on Stored-Product Protection**, Bordeaux: Imprimerie du Médoc, 1991. p. 1041-1050.

SAS Institute. **SAS/STAT User`s Guide**, version 6.0, Cary: SAS Institute Inc., 1989.

Scott, A. J.; Knott, M. A. A. cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v. 30, n. 3, p. 507-512, 1974.

SPSS. **Sigma Plot user's guide**, version 7.0 (revised edition), Chicago: SPSS Inc., 2001.

Subramanyam, B.; Hagstrum, D. W. Resistance Measurement and Management In: Subramanyam, B.; Hagstrum, D. W. **Integrated Management of Insects in Stored Products**, New York: Marcel Dekker, 1996. p. 331-397.

Trematerra, P.; Fontana, F.; Mancini, M. Analysis of development rates of *Sitophilus oryzae* (L.) in five cereals of the genus *Triticum*. **Journal of Stored Products Research**, v. 32, n. 4, p. 315-322, 1996.

Walthall, W. K.; Stark, J. D. A comparison of acute mortality and population growth rate as endpoints of toxicological effect. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 37, n. 1, p. 45-52, 1997.

White, N. D. G.; Bell, R. J. Relative fitness of a malathion-resistant strain of *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera: Cucujidae) when development and oviposition occur in malathion-treated and untreated wheat kernels. **Journal of Stored Products Research**, v. 26, n. 1, p. 23-37, 1990.

Zhanggui, Q., Xia, W., Gang, D., Xiaoping, Y., Xuechao, H., Deke, X., Xingwen, L. Investigation of the use of ozone fumigation to control several species of stored grain insects. In: Credland, P.F., Armitage, D.M., Bell, C.H., Cogan, P.M., Highley, E. **Advances in Stored Product Protection, Proceedings of the 8th International**

Working Conference on Stored Products Protection, Wallingford: CABI
International Publishing, 2003. p. 617-621.

ANEXO

Anexo 1. Propriedades e fatores de conversão para utilização do ozônio.

Propriedades físicas

Densidade do ozônio: $2,14 \text{ Kg m}^{-3}$
Densidade do oxigênio: $1,43 \text{ Kg m}^{-3}$
Densidade do ar: $1,29 \text{ Kg m}^{-3}$
Densidade da água: 1000 Kg m^{-3}

Concentração de ozônio em água (massa)

$1 \text{ mg L}^{-1} = 1 \text{ ppm O}_3 = 1 \text{ g O}_3 \text{ m}^{-3}$

Concentração de ozônio em ar (volume)

$1 \text{ g O}_3 \text{ m}^{-3} = 467 \text{ ppm O}_3$
 $1 \text{ ppm O}_3 = 2,14 \text{ mg O}_3 \text{ m}^{-3}$

Concentração de ozônio em ar (massa)

$100 \text{ g O}_3 \text{ m}^{-3} = 7,8\% \text{ O}_3$
 $1\% \text{ O}_3 = 12,8 \text{ g O}_3 \text{ m}^{-3}$

Concentração de ozônio em oxigênio (massa)

$100 \text{ g O}_3 \text{ m}^{-3} = 6,99\% \text{ O}_3$
 $1\% \text{ O}_3 = 14,3 \text{ g O}_3 \text{ m}^{-3}$

Fonte: http://www.ozoneapplications.com/info/ozone_conversions.htm. 01 Jan. 2007.