



Toxicidade da combinação de dióxido de carbono e fosfina sob diferentes temperaturas para *Tribolium castaneum*¹

Raimundo W. S. Aguiar^{2,3}, Lêda R. D'A. Faroni⁴, Raul N. C. Guedes³, Adalberto H. Sousa³ & Adriano F. Rozado³

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da temperatura sobre a toxicidade da combinação de dióxido de carbono e fosfina, para os estágios de desenvolvimento de *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). A toxicidade da combinação de 5% de dióxido de carbono e 1 g m⁻³ de fosfina para os estágios de ovo, larvas de 5, 10 e 15 dias, pupa e adulto de *T. castaneum*, foi estudada nas temperaturas de 25, 30, 35, 40 e 45 °C, por meio de estimativas dos tempos de exposição letais para 50 e 95% dos insetos (TL₅₀ e TL₉₅). Curvas tempo-resposta foram estabelecidas mediante bioensaios com períodos crescentes de exposição à combinação do dióxido de carbono com a fosfina. Observou-se que os TL₅₀ e TL₉₅ reduziram com a elevação da temperatura em todos os estágios de *T. castaneum* avaliados. O estágio de larva de cinco dias foi a mais susceptível à combinação de dióxido de carbono e fosfina. De acordo com os resultados, a combinação do dióxido de carbono com a fosfina é alternativa potencial para diminuir a quantidade de fosfina aplicada em produtos armazenados, por apresentar alta toxicidade para todos os estágios de *T. castaneum* sob diferentes temperaturas.

Palavras-chave: armazenamento, fumigação, atmosfera modificada, inseto-praga

Toxicity of the carbon dioxide and phosphine combination to *Tribolium castaneum* under different temperatures

ABSTRACT

The objective of this work was to assess the effect of temperature on the toxicity of the carbon dioxide-phosphine combination for the developmental stages of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). The toxicity of combination of 5% carbon dioxide and 1 g m⁻³ phosphine in the developmental stages of egg, larvae of 5, 10 and 15 days, pupae and adult of *T. castaneum* was studied under the temperatures of 25, 30, 35, 40 and 45 °C, through the estimation of lethal insect exposure times of 50 and 95% (LT₅₀ and LT₉₅). For that, time-response curves were established through bioassays with increasing periods of exposure to the combination of carbon dioxide and phosphine. A reduction of LT₅₀ and LT₉₅ was observed with temperature increase in all developmental stages of *T. castaneum* evaluated. The 5-day old larva was the developmental stage most susceptible to the combination of carbon dioxide and phosphine. According to the results, the combination of carbon dioxide with phosphine is a potential alternative to reduce the amount of phosphine applied on stored products, due to high toxicity in all developmental stages of *T. castaneum* under different temperatures.

Key words: storage, fumigation, modified atmosphere, insect-pest

¹ Extraído da Dissertação de Mestrado apresentada pelo primeiro autor à Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

² Campus de Gurupi/UFT. Fone: (63) 3311-3516. E-mail: rwsa@uft.edu.br

³ DBA/UFV. Fone: (31) 3899-4008. E-mail: guedes@ufv.br; adalberto.sousa@ufv.br

⁴ DEA/UFV. 36570-000, Viçosa, MG. Fone: (31) 3899-1874. E-mail: lfaroni@ufv.br; adrianorozado@oi.com.br

INTRODUÇÃO

Tribolium castaneum (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) é um inseto-praga de produtos armazenados, encontrado em todo o território brasileiro. Apresenta hábito alimentar secundário e é cosmopolita, podendo atacar diferentes produtos, como farinhas, farelos, rações, grãos, biscoitos, etc (Trematerra & Sciarretta, 2004; Daglish, 2006). Adultos de *T. castaneum* são os primeiros insetos a reinfestarem os produtos após o tratamento com inseticida, devido à sua grande habilidade de voo, especialmente em condições tropicais. Podem viver muitos meses, ou até anos, sob condições ótimas para o seu desenvolvimento (35 °C e 75% UR) (Faroni & Sousa, 2006).

A fosfina (PH₃) é o único fumigante utilizado no Brasil para controlar os insetos-praga de produtos armazenados. O uso contínuo e indiscriminado desde a década de 70 tem ocasionado, porém, o surgimento de populações resistentes em várias regiões do País (Lorini et al., 2007). Pimentel et al. (2007) constataram que uma população de *T. castaneum* coletada no município de Bom Despacho, MG, foi 186 vezes mais resistente que a população padrão de susceptibilidade, coletada no município de Água Boa, MT.

Uma alternativa para minimizar os problemas inerentes ao uso contínuo e indiscriminado da fosfina consiste na combinação deste fumigante com o dióxido de carbono. Embora não considerado um fumigante, o dióxido de carbono, quando em altas concentrações, é reconhecidamente tóxico aos insetos (Noomhorm et al., 2009). Fields & White (2002) demonstraram que o CO₂ é tóxico para pragas de grãos armazenados durante longos períodos em níveis produzidos pela própria respiração dos insetos. Sabe-se, entretanto, que são necessárias dosagens elevadas de dióxido de carbono para se obter o controle efetivo de insetos (Gunasekaran & Rajendran, 2005). Apesar do tempo de exposição dos grãos ao dióxido de carbono ou à combinação deste com a fosfina ser longo, esses gases não alteram a qualidade dos produtos tratados (Faroni et al., 2002).

A associação de dióxido de carbono com fosfina tem sido recomendada com a finalidade de reduzir tanto a concentração necessária de ambos quanto o tempo de exposição necessário para se obter o controle efetivo dos insetos (Casella et al., 1998; Martinazzo et al., 2000). Em estudo visando avaliar a eficácia da combinação de fosfina (0,23 g m⁻³) e dióxido de carbono (4 a 6%) para diferentes estágios de desenvolvimento de *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae), Mueller (1994) verificou que o controle efetivo dos adultos (100% de mortalidade) foi obtido no período de 12 h; para os estágios de ovo, larva e pupa, o controle efetivo foi obtido no período de 24 h. O uso da combinação da fosfina nas doses de 0,50 e 0,75 g m⁻³, com uma atmosfera rica em dióxido de carbono (21% de CO₂), no período de exposição de 120 h, resultou na mortalidade efetiva (100%) para todos os estágios de desenvolvimento de *S. zeamais* Motsch. (Casella et al., 1998) e *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) (Martinazzo et al., 2000). Nesses estudos, ovos e adultos foram os estágios mais susceptíveis para as duas espécies.

Embora a toxicidade da combinação da fosfina com o di-

óxido de carbono seja conhecida para insetos-praga de produtos armazenados, pouco se sabe sobre os fatores bióticos e abióticos que podem interferir na eficácia de sua aplicação. Em geral, a toxicidade dos fumigantes apresenta relação direta com a temperatura ambiente e com o estágio de desenvolvimento dos insetos (Pereira et al., 2008). Do ponto de vista biológico, os estágios de desenvolvimento e as temperaturas que proporcionam maior atividade metabólica nos insetos, os tornam mais passíveis à ocorrência de desbalanços nas trocas gasosas em função da atividade dos inseticidas (Pimentel et al., 2009). Isto ocasiona maior gasto energético para a manutenção da homeostase, que é o processo responsável pela manutenção da integridade do ambiente interno das células (Nation, 2002; Sousa et al., 2008).

A temperatura também interfere na distribuição dos fumigantes podendo afetar sua eficácia no controle de insetos (Pratt & Reuss, 2004). Em temperaturas abaixo de 15,6 °C, a distribuição dos fumigantes é menos uniforme na massa de grãos uma vez que, nessas condições, os gases apresentam baixa volatilidade e são mais adsorvidos pelos grãos, podendo resultar no aumento da dose ou do período de exposição necessário para controlar os insetos (Chaudhry et al., 2004; Pereira et al., 2007). Por outro lado, com a elevação da temperatura os gases se difundem mais rapidamente pela massa de grãos e os insetos respiram mais, absorvendo maior quantidade de inseticidas (Hulasare et al., 2005; Sousa et al., 2008).

Objetivo neste trabalho avaliar o efeito da temperatura sobre a toxicidade da combinação de dióxido de carbono e fosfina para os estágios de desenvolvimento de *T. castaneum*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Setor de Preprocessamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas do Departamento de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Criação dos insetos

A criação de *T. castaneum* foi feita em grãos de trigo semitriturados, mantidos em câmaras climáticas tipo B O D, sob condições constantes de temperatura (30 ± 2 °C), umidade relativa (70 ± 5%) e escotofase de 24 h. Para obtenção dos estágios de ovo, larvas de 5, 10 e 15 dias, pupa e adulto de *T. castaneum*, 200 insetos adultos foram postos em frascos plásticos de 95 mm de diâmetro e 100 mm de altura, contendo 150 g de grãos de trigo semitriturado. Após cinco dias se coletaram ovos para os bioensaios de toxicidade e para obtenção dos demais estágios. Os ovos coletados para se obter os demais estágios foram colocados em placas de Petri de 140 mm de diâmetro e 10 mm de altura, contendo 35 g de grãos de trigo semitriturados. Conhecendo-se a data de coleta dos ovos e o ciclo biológico de *T. castaneum*, obtiveram-se os três estágios larval, pupa e adulto, segundo Casella et al. (1998) e Martinazzo et al. (2000).

Obtenção da atmosfera modificada

A combinação de 5% de dióxido de carbono e 1 g m⁻³ de

fosfina foi realizada no interior de três câmaras metálicas com volume interno de 1 m³. Em cada câmara havia uma abertura lateral para manipulação dos insetos e das pastilhas de fosfeto de alumínio. As câmaras tinham, ainda, duas conexões, a primeira contendo uma válvula para injeção de gases e a outra com válvula de segurança.

Em todos os bioensaios a concentração de 1 g m⁻³ de fosfina foi obtida através da reação do fosfeto de alumínio com a água presente no ar atmosférico do interior das câmaras, a partir de pastilhas de 3 g de fosfeto de alumínio (ALP). Com relação ao CO₂, sua concentração de 5% foi obtida através da injeção direta de CO₂ (com grau de pureza mínimo de 99,8%), após a vedação das câmaras. A concentração do gás foi verificada pelo analisador de CO₂ (modelo 425 N, da marca NOVA Analytical Systems Inc) acoplado às câmaras. Em todos os bioensaios, quando o percentual de 5% de CO₂ dentro das câmaras metálicas era estabelecido, interrompia-se a injeção, fechando-se as válvulas de injeção e de segurança. O controle foi constituído de ar atmosférico (78% de N₂, 0,03% de CO₂ e 21% de O₂) para cada temperatura e estágio de desenvolvimento de *T. castaneum*.

Bioensaios de tempo-resposta

Inicialmente se estimaram, para cada temperatura e estágio de desenvolvimento, os períodos de exposição da atmosfera modificada, necessários para matar o menor número de insetos (mortalidade semelhante ao controle) e os períodos de exposição em que a mortalidade dos insetos fosse próxima de 100%. A partir dos valores obtidos nesses testes se estabeleceram os períodos de exposição intermediários. Os dados de mortalidade foram utilizados para gerar curvas de tempo-mortalidade obtendo-se, assim, os tempos letais para 50 e 95% de mortalidade (TL₅₀ e TL₉₅) para cada estágio e temperatura.

As unidades experimentais foram constituídas de copos plásticos de 70 mm de diâmetro e 90 mm de altura contendo 30 g de trigo semitriturados e 20 insetos. Utilizaram-se três repetições. Todos os tratamentos foram iniciados somente após a estabilização de cada temperatura. Avaliou-se a mortalidade dos adultos após 12 h do término de cada teste; para os demais estágios, a avaliação da mortalidade foi realizada a cada dez dias até se obter o tempo necessário para os insetos dos estágios de ovo, larvas de 5, 10 e 15 d e as pupas se tornarem adultos.

Análise estatística

Os resultados dos bioensaios de tempo-resposta foram submetidos a análise de probit utilizando-se o procedimento PROBIT do software SAS (SAS Institute, 1989). Adicionalmente, análises de regressão foram realizadas em função da temperatura para cada estágio de desenvolvimento estudado, utilizando-se curvas do software SigmaPlot, versão 7.0 (SPSS, 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os TL₅₀ e TL₉₅ para as temperaturas e estágios de desenvolvimento de *T. castaneum* são apresentados na Tabela 1.

Os TL₅₀ nas temperaturas de 25, 30, 35, 40 e 45 °C variaram, respectivamente, de 10,99 a 18,85 h para ovos; de 5,11 a 14,27 h para larvas de cinco dias; de 10,02 a 18,53 h para larvas de dez dias; de 10,10 a 20,12 h para larvas de 15 dias; de 12, 21 a 18,79 h para pupas e de 11,33 a 19,51 h para adultos. Para os TL₉₅, esta variação foi de 20,55 a 35,27 h para ovos; de 11,97 a 27,42 h para larvas de cinco dias; de 17,02 a 30,68 h para larvas de dez dias; de 18,70 a 32,87 h para larvas de 15 dias; de 21,55 a 34,32 h para pupas e de 17,75 a 39,34 h, para adultos.

De acordo com as análises de regressão linear ($Y = a + bx$), os TL₅₀ e TL₉₅ reduziram significativamente com a elevação da temperatura em todos os estágios avaliados (Tabela 2). Observa-se, na Tabela 1, que esta redução foi mais expressiva nas larvas de cinco dias, para as quais os TL₅₀ da temperatura de 45 °C reduziram de 64,19 a 51,33% em relação às temperaturas de 25 a 45 °C. Tal redução para os TL₉₅ foi de 56,34 a 30,40%. Ressalta-se que na temperatura de 45 °C os intervalos de confiança dos TL₅₀ e TL₉₅ para as larvas de cinco dias não se sobrepuseram aos intervalos de confiança dos demais estágios, ao contrário do que foi observado nas temperaturas de 25 a 40 °C; então, o estágio de larva de cinco dias apresenta maior susceptibilidade à combinação do dióxido de carbono com fosfina que os estágios de ovo, larvas de 10 e 15 dias, pupa e adulto, diferença esta maior na temperatura de 45 °C.

Como a principal rota de entrada dos fumigantes nos insetos é o sistema respiratório, fatores associados à sua atividade respiratória, como a temperatura, podem afetar a captação dos fumigantes (Chaudhry et al., 2004; Mitcham et al., 2006). Desta forma, o aumento da toxicidade da combinação do dióxido de carbono e fosfina com a elevação da temperatura pode ter ocorrido em virtude do aumento da taxa respiratória dos insetos tendo, como consequência, uma captação maior das moléculas inseticidas.

A maior toxicidade da combinação dióxido de carbono com a fosfina para o estágio de larva de cinco dias, também pode estar associada à taxa respiratória uma vez que este é o estágio de *T. castaneum* que apresenta maior taxa respiratória em algumas espécies de insetos-praga de produtos armazenados. Emekci et al. (2002) observaram que a taxa respiratória de ovos, larvas jovens e velhas, pupas e adultos de *T. castaneum* a 30 °C, e sob condições normais de ar atmosférico, foi de 0,32; 29,08; 3,33; 0,59 e 2,37 µl CO₂ mg inseto h⁻¹, respectivamente. Diferentes padrões respiratórios também foram observados entre os estágios de desenvolvimento de *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) (Emekci et al., 2004) que, por sua vez, teve a taxa respiratória para os estágios de ovo, larva jovem e velha, pupa e adulto a 30 °C, sob condições normais de ar atmosférico, de 0,14; 4,83; 1,98; 0,64 e 2,58 µl CO₂ mg⁻¹ inseto h⁻¹, respectivamente.

As respostas diferenciadas entre os estágios de desenvolvimentos dos insetos-praga de produtos armazenados para os fumigantes também podem estar relacionadas à produção de proteínas de defesa (Mahroof et al., 2003; 2005). Algumas proteínas, como chaperonas, estão relacionadas com a proteção celular sob condições de estresse (Ojima et al., 2005). As chaperonas são conhecidas pelo seu papel na proteção das proteínas presentes nas membranas celulares e interação com outras

Tabela 1. Tempos letais (TL_{50} e TL_{95}) da atmosfera modificada com 5% de dióxido de carbono e 1 g m⁻³ de fosfina para os estágios de desenvolvimento de *Tribolium castaneum*

Estágio	Temperatura (°C)	Inclinação ± E.P.M.	TL_{50} (IF 95%) h	TL_{95} (IF 95%) h	χ^2	P
Ovo	25	1,80 ± 0,13	18,85 (17,36-20,19)	35,27 (30,18-38,19)	2,00	0,57
	30	1,84 ± 0,11	15,71 (12,29-18,28)	29,72 (26,66-34,81)	3,29	0,34
	35	1,70 ± 0,09	14,81 (14,49-17,01)	26,50 (22,04-32,08)	6,29	0,46
	40	1,99 ± 0,15	12,65 (11,82-13,42)	21,25 (19,45-24,04)	6,07	0,10
	45	1,64 ± 0,07	10,99 (10,09-11,84)	20,55 (18,97-25,37)	7,45	0,86
Larva (5 dias)	25	1,84 ± 0,09	14,27 (13,25-15,26)	27,42 (24,31-32,72)	4,18	0,24
	30	2,07 ± 0,12	13,38 (11,28-14,07)	21,05 (19,37-23,67)	6,13	0,10
	35	1,83 ± 0,12	12,22 (10,29-15,21)	20,85 (19,03-23,70)	1,99	0,57
	40	2,35 ± 0,14	10,50 (8,52-12,32)	17,20 (16,09-26,04)	7,14	0,11
	45	1,19 ± 0,04	5,11 (4,57-6,12)	11,97 (10,46-14,45)	5,73	0,22
Larva (10 dias)	25	1,98 ± 0,10	18,53 (17,68-20,10)	30,68 (28,09-36,29)	5,47	0,14
	30	1,78 ± 0,10	17,61 (16,28-18,38)	30,53 (27,94-34,97)	3,32	0,22
	35	1,78 ± 0,10	15,61 (15,18-18,83)	26,30 (25,94-34,97)	4,32	0,22
	40	1,85 ± 0,13	13,6 (11,28-15,36)	24,20 (22,56-27,02)	9,52	0,48
	45	2,14 ± 0,16	10,02 (8,54-13,20)	17,02 (16,70-20,10)	3,93	0,26
Larva (15 dias)	25	1,94 ± 0,08	20,12 (18,00-21,58)	32,87 (29,66-36,91)	3,13	0,37
	30	1,84 ± 0,11	19,04 (17,77-19,59)	32,00 (27,00-34,48)	6,09	0,10
	35	1,97 ± 0,13	16,62 (15,36-17,78)	28,17 (26,05-31,51)	1,81	0,61
	40	1,67 ± 0,13	15,20 (14,73-17,50)	25,21 (24,50-31,21)	2,93	0,40
	45	2,23 ± 0,17	10,10 (9,19-13,51)	18,70 (16,20-19,00)	2,80	0,42
Pupa	25	1,77 ± 0,06	18,79 (14,54-21,91)	34,32 (26,25-37,78)	2,92	0,40
	30	1,94 ± 0,08	16,93 (15,76-18,01)	33,6 (26,64-36,65)	1,36	0,71
	35	1,91 ± 0,07	16,33 (15,29-17,29)	28,6 (25,65-31,15)	7,60	0,54
	40	2,05 ± 0,09	15,75 (14,75-17,79)	25,81 (23,83-28,42)	4,95	0,17
	45	2,31 ± 0,17	12,21 (10,89-14,90)	21,55 (19,56-27,56)	2,80	0,42
Adulto	25	1,78 ± 0,09	19,51 (18,33-22,62)	39,34 (33,31-43,40)	1,52	0,67
	30	1,55 ± 0,05	17,27 (16,72-19,78)	37,13 (33,78-49,93)	1,81	0,84
	35	1,83 ± 0,10	15,54 (14,68-17,23)	28,53 (24,21-31,36)	4,21	0,23
	40	1,86 ± 0,10	13,38 (11,20-15,20)	25,34 (24,10-29,97)	2,90	0,40
	45	2,21 ± 0,15	11,33 (10,20-13,29)	17,75 (16,23-19,09)	2,12	0,54

E.P.M. – erro padrão da média, TL – tempo letal, IF – Intervalo fiducial a 95% de probabilidade, χ^2 – Qui-quadrado e P – probabilidade

Tabela 2. Sumário das análises de regressão linear ($Y = a + bx$) para a influência da temperatura sobre a toxicidade da combinação de dióxido de carbono e fosfina, para os estágios de desenvolvimento de *Tribolium castaneum*

Estágio	Parâmetros estimados		g.l.erro	F	P	R ²	
	a	b					
Ovo	27,74 ± 1,24	-0,37 ± 0,03	3	116,98	< 0,01	0,97	
Larva (5 dias)	25,93 ± 3,64	-0,42 ± 0,10	3	17,29	0,02	0,85	
Larva (10 dias)	29,79 ± 1,91	-0,42 ± 0,05	3	61,65	< 0,01	0,95	
Larva (15 dias)	32,93 ± 2,85	-0,47 ± 0,07	3	35,70	< 0,01	0,92	
Pupa	26,04 ± 2,11	-0,28 ± 0,05	3	23,53	< 0,01	0,88	
Adulto	29,73 ± 0,32	-0,41 ± 0,01	3	2.026,15	< 0,01	0,99	
TL_{50}	Ovo	53,19 ± 3,29	-0,75 ± 0,09	3	67,31	< 0,01	0,95
	Larva (5 dias)	44,02 ± 3,68	-0,69 ± 0,10	3	45,34	< 0,01	0,93
	Larva (10 dias)	49,30 ± 4,67	-0,67 ± 0,13	3	26,45	< 0,01	0,89
	Larva (15 dias)	51,98 ± 3,85	-0,70 ± 0,10	3	42,32	< 0,01	0,93
	Pupa	52,10 ± 2,59	-0,66 ± 0,07	3	84,13	< 0,01	0,96
	Adulto	68,09 ± 3,93	-1,09 ± 0,11	3	99,48	< 0,01	0,97

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

proteínas celulares para garantir o estado normal de dobramento e minimizar a agregação de proteínas celulares em altas temperaturas (Heredia-Middleton et al., 2008). O aumento da produção das chaperonas em insetos sob condições de estresse foi observado para várias espécies, como *T. castaneum*, *Papilio glaucus* (L.); *Manduca sexta* (L.) (Fittinghoff & Riddiford,

1988); *Sarcophaga crassipalpis* Macquart (Joplin & Denlinger, 1990); *Spathosternum prasiferum* (Walker); *Periplaneta americana* (L.) e *Heliothis armigera* (Hübner) (Singh & Lakhotia, 2000). Desta forma, as respostas diferenciadas entre os estágios de *T. castaneum* podem estar associadas à menor produção de proteínas de defesa nas larvas de cinco dias.

Adicionalmente a outros trabalhos em que é apresentado o potencial da combinação do dióxido de carbono com a fosfina, como fumigante (Casella et al., 1998; Martinazzo et al., 2000; Faroni et al., 2002), verificou-se, neste estudo, que tal fumigante poderá tornar-se uma alternativa aos inseticidas convencionais em regiões de clima tropical. Considerando-se os elevados níveis de resistência à fosfina em insetos-praga de produtos armazenados no Brasil (Lorini et al., 2007; Pimentel et al., 2007; 2009) e o potencial de uso desta combinação em altas temperaturas, pode-se inferir que referida combinação é uma importante alternativa para ser utilizada nos programas de manejo de resistência a fosfina. Uma das prerrogativas para diminuir a velocidade de estabelecimento de populações com alta frequência de genes que conferem resistência a determinado agente de controle, é o emprego de mistura de inseticidas, uso alternado ou em mosaico de dois ou mais inseticidas (Sousa et al., 2008). 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 (Kolaczinski & Curtis, 2004).

CONCLUSÕES

1. A temperatura influenciou a toxicidade da combinação de dióxido de carbono e fosfina para todos os estágios de desenvolvimento de *T. castaneum* avaliadas.
2. A toxicidade da combinação de dióxido de carbono e fosfina foi mais substancial nas larvas de cinco dias.
3. A combinação do dióxido de carbono com a fosfina é alternativa potencial ao uso dos inseticidas convencionais em regiões de clima tropical.

LITERATURA CITADA

- Casella, T. L. C.; Faroni, L. R. D'A.; Berbert, P. A.; Cecon, P. R. Dióxido de carbono associado à fosfina no controle do gorgulho-do-milho (*Sitophilus zeamais*). Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.2, n.2, p.179-185, 1998.
- Chaudhry, M. Q.; Bell, H. A.; Savvidou, N.; MacNicoll, A. D. Effect of low temperatures on the rate of respiration and uptake of phosphine in different life stages of the cigarette beetle *Lasioderma serricorne* (F.). Journal of Stored Products Research, v.40, n.2, p.125-134, 2004.
- Daglish, G. J. Survival and reproduction of *Tribolium castaneum* (Herbst), *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Sitophilus oryzae* (L.) following periods of starvation. Journal of Stored Products Research, v.42, n.3, p.328-338, 2006.
- 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.
- Faroni, L. R. D'A.; Berbert, P. A.; Martinazzo, A. P.; Coelho, E. M. Qualidade da farinha obtida de grãos de trigo fumigados com dióxido de carbono e fosfina. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.6, n.2, p.354-357, 2002.
- Faroni, L. R. D'A.; Sousa, A. H. Aspectos biológicos e taxonômicos dos principais insetos-praga de produtos armazenados. In: Almeida, F. de A. C.; Duarte, M. E. M.; Mata, M. E. R. M. C. Tecnologia de Armazenagem em sementes, Campina Grande: UFCG, 2006. Cap.7, p.371-402.
- Fields, P. G.; White, N. D. G. Alternatives to methyl bromide treatments for stored-product and quarantine insects. Annual Review of Entomology, v.47, n.1, p.331-359, 2002.
- Fittinghoff, G. M.; Riddiford, L. M. Effect of heat shock on non-heat shock proteins of the insect integument. Journal of Cellular Biochemistry, v.12D, p.264-268, 1988.
- Gunasekaran, N.; Rajendran, S. Toxicity of carbon dioxide to drugstore beetle *Stegobium paniceum* and cigarette beetle *Lasioderma serricorne*. Journal of Stored Products Research, v.41, p.283-294, 2005.
- Heredia-Middleton, P.; Brunelli, J.; Drew, R. E.; Thorgaard, G. H. Heat shock protein (HSP70) RNA expression differs among rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) clonal lines. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, v.149, n.4, p.552-556, 2008.
- Hulasare, R. B.; White, N. D. G.; Jayas, D. S. Effect of suboptimal temperatures and sublethal CO₂ levels on multiplication of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae), alone or competing with *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera: Cucujidae). Journal of Stored Products Research, v.41, n.2, p.187-197, 2005.
- Joplin, K. H.; Denlinger, D. L. Developmental and tissue specific control of the heat shock induced 70 kDa related proteins in the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. Journal of Insect Physiology, v.36, n.4, p.239-249, 1990.
- Kolaczinski, J. H.; Curtis, C. F. Investigation of negative cross-resistance as a resistance-management tool for insecticide-treated nets. Journal of Medical Entomology, v.41, n.5, p.390-934, 2004.
- Lorini, I.; Collins, P. J.; Daglish, G. J.; Nayak, M. K.; Pavic, H. Detection and characterization of strong resistance to phosphine in Brazilian *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). Pest Management Science, v.63, n.4, p.358-364, 2007.
- Mahroof, R.; Subramanyam, B.; Eustace, D. Temperature and relative humidity profiles during heat treatment of mills and its efficacy against *Tribolium castaneum* (Herbst) life stage. Journal of Stored Products Research, v.39, n.5, p.555-569, 2003.
- Mahroof, R.; Zhu, Y. K.; Subramanyam, B. Changes in expression of heat-shock proteins in *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) in relation to developmental stage, exposure time, and temperature. Annals of the Entomological Society of America, v.98, n.1, p.100-107, 2005.
- Martinazzo, A.; Faroni, L. R. D'A.; Berbert, P. A.; Reis, F. P. Utilização da fosfina em combinação com o dióxido de carbono no controle do *Rhyzopertha dominica* (F.). Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.35, n.6, p.1063-1069, 2000.
- 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.

- Mueller, D. K. A new method of using low levels of phosphine in combination with heat and carbon dioxide. In: Higley, E. J.; Whight, H. J.; Banks, H. J.; Champ, B. R. Stored product protection: proceedings of the 6th International Working Conference on Stored-product Protection. Canberra: CAB International, 1994. p.123-125.
- Nation, J. L. Respiration. In: Nation, J. L. Insect physiology and biochemistry. Boca Raton: CRC Press LLC, 2002. Cap.12, p.371-380.
- Noomhorm, A.; Sirisoontarak, P.; Uraichuen, J.; Ahmad, I. Effects of pressurized carbon dioxide on controlling *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and the quality of milled rice. *Journal of Stored Products Research*, v.45, p.201-205, 2009.
- Ojima, N.; Yamashita, M.; Watabec, S. Quantitative mRNA expression profiling of heat-shock protein families in rainbow trout cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v.329, n.1, p.51-57, 2005.
- Pereira, A. M.; Faroni, L. R. D'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*. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.12, n.5, p.493-497, 2008.
- Pereira, A. M.; Faroni, L. R. D'A.; Sousa, A. H.; Urruchi, W. I.; Roma, R. C. C. Efeito imediato e latente da fumigação com ozônio na qualidade dos grãos de milho. *Revista Brasileira de Armazenamento*, v.32, n.2, p.100-110, 2007.
- Pimentel, M. A. G.; Faroni, L. R. D'A.; Guedes, R. N. C.; Sousa, A. H.; Tótola, M. R. Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschusky (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*, v.45, n.1, p.71-74, 2009.
- Pimentel, M. A. G.; Faroni, L. R. D'A.; Tótola, M. R.; Guedes, R. N. C. Phosphine resistance, respiration rate and fitness consequences in stored-product insects. *Pest Management Science*, v.63, n.9, p.876-881, 2007.
- Pratt, S. J.; Reuss, R. Scrubbing carbon dioxide prevents overestimation of insect mortality in long-duration static phosphine toxicity assays. *Journal of Stored Products Research*, v.40, n.2, p.233-239, 2004.
- SAS Institute. SAS/STAT User's Guide, version 6.0, Cary: SAS Institute Inc., 1989.
- Singh, A. K.; Lakhota, S. C. Tissue-specific variations in the induction of Hsp70 and Hsp64 by heat shock in insects. *Cell Stress and Chaperones*, v.5, n.2, p.90-97, 2000.
- Sousa, A. H.; Faroni, L. R. D'A.; Guedes, R. N. C.; Tótola, M. R.; Urruchi, W. I. Ozone as a management alternative against phosphine-resistant insect-pests of stored products. *Journal of Stored Products Research*, v.44, n.4, p.379-385, 2008.
- SPSS. Sigma Plot user's guide, version 7.0 (revised edition), Chicago: SPSS Inc., 2001.
- Trematerra, P.; Sciarretta, A. Spatial distribution of some beetles infesting a feed mill with spatio-temporal dynamics of *Oryzaephilus surinamensis*, *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum*. *Journal of Stored Products Research*, v.40, n.4, p.363-377, 2004.