

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

Ozônio gasoso no controle de ovos de *Sitophilus zeamais* e na qualidade de sementes de milho durante o armazenamento

Vivian Gabriela Ferreira Silva
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

VIVIAN GABRIELA FERREIRA SILVA

Ozônio gasoso no controle de ovos de *Sitophilus zeamais* e na qualidade de sementes de milho durante o armazenamento

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

Orientador: Ernandes R. de Alencar

Coorientadores: Marcus V. de A. Silva
Leda R. D. Faroni

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586o
2025
Silva, Vivian Gabriela Ferreira, 2000-
Ozônio gasoso no controle de ovos de *Sitophilus zeamais* e
na manutenção da qualidade de sementes de milho durante o
armazenamento / Vivian Gabriela Ferreira Silva. – Viçosa, MG,
2025.

1 dissertação eletrônica (40 f.): il.

Orientador: Ernandes Rodrigues de Alencar.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Engenharia Agrícola, 2025.

Referências bibliográficas: f. 35-40.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.274>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Milho - Semente - Doenças e pragas - Controle.
2. Ozonização. 3. Gorgulho-do-milho. 4. Germinação.
5. Vitalidade. 6. Milho - Semente - Qualidade. 7. Milho -
Semente - Armazenamento. I. Alencar, Ernandes Rodrigues de,
1980-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Engenharia Agrícola. Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Agrícola. III. Título.

CDD 22. ed. 633.1597

VIVIAN GABRIELA FERREIRA SILVA

Ozônio gasoso no controle de ovos de *Sitophilus zeamais* e na qualidade de sementes de milho durante o armazenamento

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

APROVADA: 27 de fevereiro de 2025.

Assentimento:

Vivian Gabriela Ferreira Silva
Autora

Ernandes Rodrigues de Alencar
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 21/05/2025 às 11:58:42 e pelo orientador em 21/05/2025 às 13:50:43. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **YXPP.S5ZP.SMOY** e clique no botão 'Validar documento'.

À minha família, em especial à minha mãe, Maria do Nazaré, e à minha irmã, Sônia Lílian. O apoio constante e a crença de vocês em mim revelam a força incrível que nós, mulheres, podemos manifestar. É com esse respaldo que sinto ter a capacidade de fazer a diferença por meio das minhas ações.

AGRADECIMENTOS

A Deus por toda a força e amparo ao longo da minha existência, a Santíssima Virgem Maria pela intercessão em todos os momentos.

Aos meus pais Maria do Nazaré Ferreira Silva e Francisco da Rocha Silva, por todo apoio e esforço para que pudesse me tornar uma mulher íntegra, por me ensinarem a ter garra para não desistir diante de situações complexas, que eu possa sempre honrar o que fazem por mim.

A minha irmã Sônia Lílian, pela cumplicidade e apoio em todos os meus sonhos, anseios e decisões. Por colaborar também na minha educação junto aos nossos pais, me ajudando a me tornar uma mulher imponente perante momentos decisivos. A minha psicóloga, Viviane Turteltaub, pela sua orientação, a qual foi essencial para o meu desenvolvimento pessoal, especialmente em momentos em que eu mais precisei de clareza e suporte.

Ao Allyfe, Daniele, Emanuel e Samara, alunos da Iniciação Científica e da graduação, pelo auxílio na coleta de dados e por fazerem o trabalho árduo parecer mais leve.

Aos meus amigos Luane, Diana, Daniel, Elia, Francisco Sitoé, Francisco Raylan, Rafael, Ebinezzer, Mateus, Amanda e Fernando, por toda parceria no laboratório e fora dele no decorrer dos dois anos, pelas risadas, fofocas, cafés e confraternizações.

Às minhas queridas amigas e companheiras da República CowNerd: Maria Terezinha, Amanda Dias, Isabela e Laysa, por terem sido essenciais no meu último período de moradia em Viçosa. O apoio de vocês, as risadas e a amizade tornaram esse momento único e inesquecível.

Ao meu orientador Ernandes Rodrigues de Alencar, pela orientação deste trabalho e por acreditar na minha capacidade.

Aos meus coorientadores o Marcus Vinícius de Assis Silva e Lêda Rita D'Antonino Faroni por todo apoio e colaboração.

A técnica Nívea Pacheco e o Laboratório de Ecotoxicologia e Ecofisiologia de Insetos, Departamento de Entomologia, da Universidade Federal de Viçosa. Pela disponibilização e assistência.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar o curso de Mestrado em Engenharia Agrícola.

Ao Grupo Carrefour Brasil – Brasil, pela concessão da bolsa de estudos.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

RESUMO

SILVA, Vivian Gabriela Ferreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2025. **Ozônio gasoso no controle de ovos de *Sitophilus zeamais* e na qualidade de sementes de milho durante o armazenamento.** Orientador: Ernandes Rodrigues de Alencar. Coorientadores: Marcus Vinicius de Assis Silva e Leda Rita Dantonino Faroni.

As sementes de milho no ambiente de armazenagem encontram-se sujeitas ao ataque e desenvolvimento de insetos-pragas. Com isso, faz-se necessária a adoção de técnicas para controle de insetos em todos os estágios de desenvolvimento, viabilizando a redução dos danos causados ao lote de sementes. Dessarte, os objetivos do presente estudo foram (i) determinar o efeito do ozônio no controle de ovos de *Sitophilus zeamais* em sementes de milho e (ii) avaliar os possíveis efeitos na qualidade fisiológica, após a ozonização e durante o armazenamento. Na ozonização das sementes, adotou-se a concentração de entrada de 2 mg L⁻¹ e vazão de 2,0 m³ min⁻¹ t⁻¹. Utilizaram-se amostras de 2,0 kg de sementes de milho. Adicionadas amostras de 15 g de sementes contendo ovos de *S. zeamais* no protótipo. O tempo de saturação e a concentração da saturação foi de 32,2 min e 1,5 mg L⁻¹, respectivamente, com relação entre a concentração de saturação e a concentração de entrada do ozônio foi de 0,76. Foram então avaliados: o controle de ovos nas sementes infestadas e a qualidade das sementes. Os insetos emergidos foram avaliados, após 30 dias até 50 dias, com contagem realizadas de 5 em 5 dias, até completar o ciclo. Assim também foram feitas avaliações periódicas na qualidade das sementes após os dias de armazenamento (0, 45, 90, 135 e 180 dias). O gás ozônio foi eficiente no controle de ovos de *S. zeamais*, nas sementes ozonizadas por 24 h. Nas sementes não ozonizadas, verificou-se a emergência de 11,5±6,8 insetos adultos, e nas sementes ozonizadas por tempo igual ou superior a 6 h, os valores médios foram iguais ou inferiores a 0,5 insetos emergidos. No que se refere à variável germinação, quando se analisou o efeito do tempo de ozonização e do período de armazenamento separadamente, não houve alteração expressiva na análise de regressão. Resultados semelhantes foram obtidos para tempo médio de germinação e velocidade média de germinação, quando se analisou o efeito do período de armazenamento separadamente. O percentual de germinação permaneceu superior a 85,0%, em todos os tratamentos e durante o armazenamento. No que se refere à condutividade elétrica, observou-se aumento à medida que se elevou o tempo de ozonização e o período de armazenamento. Tem-se que para os tratamentos controle (0 h) e aquele referente a 24 h de

ozonização, os valores estimados de condutividade elétrica foram 19,1 e 21,9 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$, respectivamente. Todavia, quando se analisaram as variáveis comprimento da raiz, comprimento da parte aérea e comprimento de plântulas, apesar de ter sido verificado diferença significativa em decorrência da interação entre o tempo de ozonização e o período de armazenamento, os coeficientes das equações de regressão não foram significativos. Por conseguinte, concluiu-se que: (i) tratamento com ozônio na concentração de entrada 2,0 mg L^{-1} e vazão específica de ar de 2,0 $\text{m}^3 \text{min}^{-1} \text{ t}^{-1}$ foi capaz de controlar ovos de *Sitophilus zeamais*; (ii) O ozônio foi capaz de reduzir a emergência dos insetos a partir dos tempos de exposição intermediários de 6, 12 e 18 h de exposição; (iii) dentre os tempos de ozonização testados, o de 24 h é o mais adequado para controle de ovos de *S. zeamais*; (iv) E, condições semelhantes às adotadas no presente estudo, o ozônio não altera a qualidade fisiológica de sementes de milho imediatamente depois do tratamento e durante o armazenamento.

Palavras-chave: Ozonização, gorgulho-do-milho, germinação, vigor.

ABSTRACT

SILVA, Vivian Gabriela Ferreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2025. **Gaseous ozone in the control of *Sitophilus zeamais* eggs and in the quality of corn seeds during storage.** Adviser: Ernandes Rodrigues de Alencar. Co-advisers: Marcus Vinicius de Assis Silva and Leda Rita Dantonino Faroni.

Corn seeds in the storage environment contain substances that are susceptible to attack and development by insect pests. Therefore, it is necessary to adopt techniques to control insects at all stages of development, making it possible to reduce the damage caused to the seed batch. Therefore, the objectives of the present study were (i) to determine the effect of ozone on the control of *Sitophilus zeamais* eggs in corn seeds and (ii) to evaluate the possible effects on physiological quality, after ozonation and during storage. In seed ozonation, the input concentration was updated to 2 mg L⁻¹ and flow rate to 2,0 m³ min⁻¹ t⁻¹. Samples of 2.0 kg of corn seeds were used. Samples of 15 g of seeds containing *S. zeamais* eggs were added to the prototype. The saturation time and saturation concentration were 32.2 min and 1.5 mg L⁻¹, respectively, with a ratio between the saturation concentration and the ozone input concentration of 0.76. The following were then evaluated: egg control in infested seeds and seed quality. The emerged insects were evaluated after 30 to 50 days, with counts performed every 5 days, until the cycle was complete. Periodic evaluations of seed quality were also made after the days of storage (0, 45, 90, 135 and 180 days). Ozone gas was efficient in controlling *S. zeamais* eggs in seeds ozonated for 24 h. In non-ozonated seeds, 11.5±6.8 adult insects emerged, and in seeds ozonated for a period equal to or greater than 6 h, the average values were equal to or less than 0,5 insects emerged. With regard to the germination variable, when the effect of ozonation time and storage period was analyzed separately, there was no significant change in the regression analysis. Similar results were obtained for average germination time and average germination speed, when the effect of storage period was analyzed separately. The germination percentage remained above 85,0% in all treatments and during storage. Regarding electrical conductivity, an increase was observe as the ozonation time and storage period increased. For the control treatments (0 h) and the one referring to 24 h of ozonation, the estimated electrical conductivity values were 19,1 and 21,9 μS cm⁻¹ g⁻¹, respectively. However, when the variables root length, shoot length and seedling length were analyzed, despite a significant difference being found due to the interaction between ozonation time and storage period, the coefficients of the regression equations were not significant. Therefore, it was concluded

that: (i) ozone treatment at an inlet concentration of 2.0 mg L⁻¹ and a specific air flow rate of 2.0 m³ min⁻¹ t⁻¹ was able to control *Sitophilus zeamais* eggs; (ii) ozone was able to reduce insect emergence from intermediate exposure times of 6, 12 and 18 h of exposure; (iii) among the ozonation times tested, 24 h is the most suitable for controlling *S. zeamais* eggs; (iv) And, under conditions similar to those adopted in the present study, ozone does not alter the physiological quality of corn seeds immediately after treatment and during storage.

Keywords: Ozonation, corn weevil, germination, vigor.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Esquema do aparato experimental utilizado para geração e exposição das sementes de milho ao gás ozônio.....	17
Figura 2. Vista em corte com detalhamento do protótipo utilizado para exposição das sementes de milho ao gás ozônio, posicionamento das armadilhas com sementes infestadas e posterior armazenamento em sacos de papel kraft.....	18
Figura 3. Curva de regressão de concentração residual do ozônio em função do tempo de exposição em sementes de milho, para concentração de entrada de 2,0 mg L ⁻¹ (C ₀) e vazão específica de 2,0 m ³ min ⁻¹ t ⁻¹	23
Figura 4. Número de adultos de <i>Sitophilus zeamais</i> emergidos de sementes de milho ozonizadas por até 24 h, depois de 50 dias da infestação. *Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....	24
Figura 5. Sequência temporal de imagens de raios-X mostrando as interações e desenvolvimento de <i>Sitophilus zeamais</i> nas sementes não ozonizadas (controle) .	25
Figura 6. Sequência temporal de imagens de raios-X mostrando as interações e desenvolvimento de <i>Sitophilus zeamais</i> nas sementes de tratadas com gás ozônio, na concentração de entrada de 2,0 mg L ⁻¹ e vazão específica de ar de 2,0 m ³ min ⁻¹ t ⁻¹	26
Figura 7. Germinação (GER, %) (A, B), Tempo médio de germinação (TMG) (C) e velocidade média de germinação (VMG) (D) em função do tempo de ozonização (x, horas) ou período de armazenamento (y, dias), em sementes de milho ozonizadas na concentração de 2,0 mg L ⁻¹ , sob vazão específica de ar de 2,01 m ³ min ⁻¹ t ⁻¹	28
Figura 8. Condutividade elétrica (CE, μS cm ⁻¹ g ⁻¹) (A), comprimento da raiz (CR, cm) (B), comprimento da parte aérea (CA, cm) (C) e comprimento de plântulas (CP, cm) (D) em função do tempo de ozonização (x, h) e do período de armazenamento (y, dias) em sementes de milho ozonizadas na concentração de 2,0 mg L ⁻¹ e vazão específica de ar de 2,0 m ³ min ⁻¹ t ⁻¹	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Equação de regressão e coeficiente de determinação (R^2) de concentração residual do ozônio em função do tempo de exposição em sementes de milho, para concentração de entrada de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ (C_0) e vazão específicas de $2,0 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1} \text{ t}^{-1}$	23
Tabela 2 - Equações de regressão e respectivos coeficientes de determinação (R^2) das variáveis germinação (GER, %), tempo médio de germinação (TMG, dias) e velocidade média de germinação (VMG) em função do tempo de ozonização (x, horas) ou período de armazenamento (y, dias), em sementes de milho ozonizadas na concentração de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$, sob vazão específica de ar de $2,01 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1} \text{ t}^{-1}$	29
Tabela 3 - Equações de regressão e respectivos coeficientes de determinação (R^2) das variáveis condutividade elétrica (CE, $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$), comprimento da raiz (CR, cm), comprimento da parte aérea (CA, cm) e comprimento de plântulas (CP, cm) em função do tempo de ozonização (x, h) e do período de armazenamento (y, dias), em sementes de milho ozonizadas na concentração de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ e vazão específica de ar de $2,0 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1} \text{ t}^{-1}$	31

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CONAB Companhia Nacional de Abastecimento

GRAS Geralmente Reconhecido como Seguro

USEPA Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

USDA Departamento de Agricultura dos Estados Unidos

O₃ Ozônio.

MIP Manejo Integrado de Pragas

UFV Universidade Federal de Viçosa

DEA Departamento de Engenharia Agrícola

D.B.O Demanda Bioquímica de Oxigênio

IOA Associação Internacional de Ozônio

RAS Regras para Análise de Sementes

CESM Comissões Estaduais de Sementes e Mudas

RSA Resistência Sistêmica Adquirida

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. MATERIAL E MÉTODOS	16
2.1 Local do Experimento.....	16
2.2 Origem das sementes e dos insetos	16
2.3 Criação dos insetos	16
2.4 Obtenção das sementes contendo ovos de <i>Sitophilus zeamais</i>	16
2.5 Geração do gás	17
2.6 Exposição das sementes ao ozônio	17
2.7 Eficácia do ozônio no controle de ovos de <i>S. zeamais</i>	19
2.8 Avaliação da qualidade das sementes de milho ozonizadas durante o armazenamento	19
2.8.1 Teste de germinação	20
2.8.2 Tempo Médio de Germinação, Índice de Velocidade de Germinação e Velocidade Média de Germinação	20
2.8.3 Condutividade Elétrica	21
2.8.4 Comprimento da parte aérea (CA), Comprimento da raiz (CR) e Comprimento da plântula (CP)	22
2.9 Análise Estatística	22
3. RESULTADOS.....	23
3.1 Efeito do tratamento com ozônio no controle de ovos de <i>S. zeamais</i>	24
3.2 Efeito do tratamento com ozônio na qualidade das sementes de milho	27
4. DISCUSSÃO	31
5. CONCLUSÕES	34
REFERÊNCIAS.....	35

1. INTRODUÇÃO

O milho é uma das culturas agrícolas mais importantes do mundo, desempenhando um papel crucial na produção de alimentos, ração animal e produtos industriais. Tem-se ainda que o milho é a principal fonte de amido, respondendo por cerca de 85% da produção global desse carboidrato (Zhang et al., 2021). A utilização de grãos de milho permite a fabricação de uma ampla gama de produtos, incluindo farinhas, óleos, bebidas, combustíveis, álcool industrial, adoçantes e outros (Contini et al., 2019; Ranum et al., 2014).

No Brasil, o milho é cultivado em todas as regiões por pequenos e grandes produtores. De acordo com o 5º Levantamento de Safra de Grãos publicado em fevereiro de 2025, pela Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB, a estimativa de produção das três safras de milho, na safra 2024/25, é de 122 milhões de toneladas (CONAB, 2025). De acordo com o Serviço Agrícola Estrangeiro do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, estima-se que a produção mundial de milho seja superior a 1219,3 MMT (milhões de toneladas métricas) em 2024/2025 (USDA, 2024).

Para que sejam atingidos os expressivos resultados de produção citados anteriormente, faz-se necessária a utilização de sementes de qualidade. A semente é o principal elemento do processo de produção agrícola do milho (Heberle et al., 2019). A qualidade fisiológica das sementes é influenciada por características herdadas, sendo que as principais variáveis são a germinação e o vigor.

A qualidade fisiológica é também influenciada por condições ambientais, como a maturidade fisiológica pelo método de colheita, beneficiamento e armazenamento (Andrade et al., 2001). O ambiente de armazenamento das sementes deve ser ajustado conforme as necessidades específicas de cada cultura. Caso contrário, a deterioração do lote pode ser acelerada, resultando na redução do vigor e da capacidade de germinação. Isso ocorre porque condições inadequadas podem afetar a atividade metabólica das sementes, levando a modificações na atividade enzimática, na síntese de proteínas, no acúmulo de substâncias tóxicas, nos danos à integridade do DNA, aos sistemas de membranas, na peroxidação de lipídios e na lixiviação de solutos (Heberle et al., 2019; Wang et al., 2022).

Especificamente no armazenamento, as sementes estão sujeitas ao ataque e desenvolvimento de insetos-pragas por apresentar um ambiente com temperatura e

umidade relativa favoráveis ao desenvolvimento (Afzal et al., 2017). As principais pragas de grãos e sementes no armazenamento são as espécies *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1855), *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) e *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763). Esses insetos são considerados pragas primárias capazes de romper o tegumento, alimentar-se, ovipositar e desenvolver no interior de grãos e sementes. Nesse sentido, são capazes de destruir o embrião, ou seus segmentos, fazendo com que a semente não germine de forma adequada e o desenvolvimento da cultura seja prejudicado (Lorini et al., 2015). Os danos por parte dessas pragas são severos, pois o endosperma da semente atacada acaba sendo danificado, e isso implica na redução da quantidade de reservas da semente e conseqüentemente diminuição de vigor do lote infestado (Santos e Maia, 1990).

O gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), é um inseto cosmopolita, que apresenta infestação cruzada (potencial de infestar os grãos tanto no campo como no armazenamento), e é considerado uma importante praga de armazenamento. O ciclo de desenvolvimento do gorgulho do milho durante a infestação é iniciado na fase de ovo. Então, são necessários 5 dias para o desenvolvimento embrionário, 18 dias até atingir a fase larval, 33 dias para chegar até a fase de pupa e 35 dias para atingir a fase adulta (Moreira de Carvalho et al., 2019). O ataque do inseto se inicia quando a fêmea, após cruzamento, insere os ovos na parte interna de grãos e sementes. Os ovos são fixados nos grãos por uma substância gelatinosa e após o período de incubação, as larvas penetram no endosperma. Em seguida, os ovos eclodem em larvas, que constroem galerias no embrião ou no endosperma (Silva et al., 2022). As fêmeas adultas apresentam alto potencial reprodutivo, podendo depositar 150 ovos no intervalo de 119-120 dias. O número máximo de ovos por fêmea adulta durante a vida é igual 300 ovos (Arrahman et al., 2022).

As alternativas convencionais para controle do gorgulho do milho, *S. zeamais*, são inseticidas protetores (piretróides e organofosforados) e fumigação com fosfina. São formas de controle consideradas eficientes, mas que apresentam expressiva toxicidade, podendo contaminar o meio ambiente, expor a saúde do aplicador a altos níveis de toxicidade, viabilizar a resistência de outras pragas e extinção dos inimigos naturais dos insetos-pragas (Bellon e Cemin, 2023; Lorini et al., 2015). Portanto, são necessárias alternativas de controle com melhor biodegradabilidade, maior segurança,

baixo impacto ambiental e com boa eficiência para que sejam aplicados em programas de Manejo Integrado de Pragas - MIP (Pimentel et al., 2019).

O ozônio (O_3) é um gás com potencial para controle de insetos-pragas de armazenamento, não apresenta resistência cruzada como a fosfina, e é um gás altamente reativo e oxidante (Sousa et al., 2016). É classificado como um “GRAS” (Geralmente Reconhecido como Seguro) pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) e considerado um gás não residual (Isikber e Athanassiou, 2015). A formação do ozônio ocorre por descargas elétricas em oxigênio (O_2), que serão rearranjadas em moléculas de O_3 (Hansen et al., 2013). Quando aplicado no controle de insetos-pragas, a ação do ozônio no sistema respiratório pode acarretar efeitos tóxicos, viabilizando a mortalidade. Isto é, o ozônio é capaz de causar danos oxidativos nos tecidos respiratórios dos insetos através da passagem do gás via tubos respiratórios revestidos de cutícula e consequente alteração na função pulmonar, reatividade dos brônquios e oxidação da membrana (Tiwari et al., 2010).

No que se refere ao controle de insetos, é necessária a determinação de concentrações de ozônio que sejam eficazes sobre os diferentes estágios de desenvolvimento, principalmente nas fases em que a respiração destes é reduzida (fases de ovo e de pupa) (Antunes et al., 2011). A fêmea de *S. zeamais* na postura coloca os ovos em uma galeria e cobre com uma substância gelatinosa para proteger os ovos de serem danificados ou predados por outros insetos, desse modo também protegendo contra gases e defensivos (Arrahman et al., 2022). Saliencia-se que há diversos relatos na literatura referentes ao controle por meio do gás ozônio de insetos adultos, inclusive *S. zeamais* (Sousa et al., 2016; Silva et al., 2022). Entretanto, não há relatos que tratam do uso do ozônio no controle de ovos dessa espécie de insetos em sementes de milho.

Diante do exposto, objetivou-se (i) determinar o efeito do ozônio no controle de ovos de *S. zeamais* em sementes de milho e (ii) possíveis efeitos na qualidade fisiológica das sementes, após a ozonização e durante o armazenamento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do Experimento

O experimento foi realizado no Laboratório de Pós-Processamento de Produtos Agrícolas, do Departamento de Engenharia Agrícola (DEA), da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

2.2 Origem das sementes e dos insetos

Na pesquisa foram utilizadas sementes de milho do híbrido AG 8065 Pro 4 (Sementes Agrocere, Santa Cruz das Palmeiras, SP, Brasil). Os insetos adultos de *Sitophilus zeamais* foram obtidos na criação de insetos do Laboratório de Pós-Colheita, localizado no setor de Armazenamento Processamento de Produtos Agrícolas, DEA-UFV. Essa criação foi obtida na região de Paracatu, Minas Gerais, Brasil.

2.3 Criação dos insetos

Os adultos de *S. zeamais* foram mantidos em recipientes de vidro de 1,0 L, com abertura na tampa e coberta com tecido tipo organza, para possibilitar trocas gasosas. A criação foi realizada sobre milho comum com teor de água de 13,0% (b.u.). Os frascos de vidro permaneceram em câmaras climáticas, em temperatura de 27 ± 2 °C, umidade relativa de $70\pm 5\%$ (Sousa et al., 2016; Silva et al., 2022).

2.4 Obtenção das sementes contendo ovos de *Sitophilus zeamais*

Para a obtenção de sementes de milho contendo ovos de *S. zeamais*, foi adotada metodologia proposta por Paes et al., (2012). Os insetos adultos permaneceram em contato com a massa de sementes por 6 dias para que realizassem a oviposição. Amostras com 15 g de sementes foram dispostas em recipientes de plástico com tampa perfurada, para que houvesse trocas gasosas. Em cada recipiente contendo sementes de milho, foram colocados aproximadamente 30 adultos não sexados, com idade igual ou inferior a 7 dias e mantidos em ambiente com temperatura 27 ± 2 °C, umidade relativa de $70\pm 5\%$.

2.5 Geração do gás

O gás ozônio foi obtido por meio de um gerador de descarga corona O&L3.ORM (Ozone & Life, São José dos Campos, SP, Brasil), acoplado de concentrador de oxigênio do modelo Mark 5 Plus (Oxxisul, Curitiba, Paraná, Brasil). Na geração de O_3 , foi adotada vazão específica de $2,0 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1} \text{ t}^{-1}$, obtendo-se concentração de entrada $2,0 \text{ mg L}^{-1}$. A concentração de gás ozônio foi mensurada pelo método iodométrico, considerado pela IOA (International Ozone Association) como método oficial (Clesceri et al., 2000). No intermédio entre gerador e protótipo, foi disposta uma solução de cloreto de sódio (NaCl) saturada para minimizar a redução do teor de água das sementes durante a ozonização (Black e Pritchard, 2002) (Figura 1).

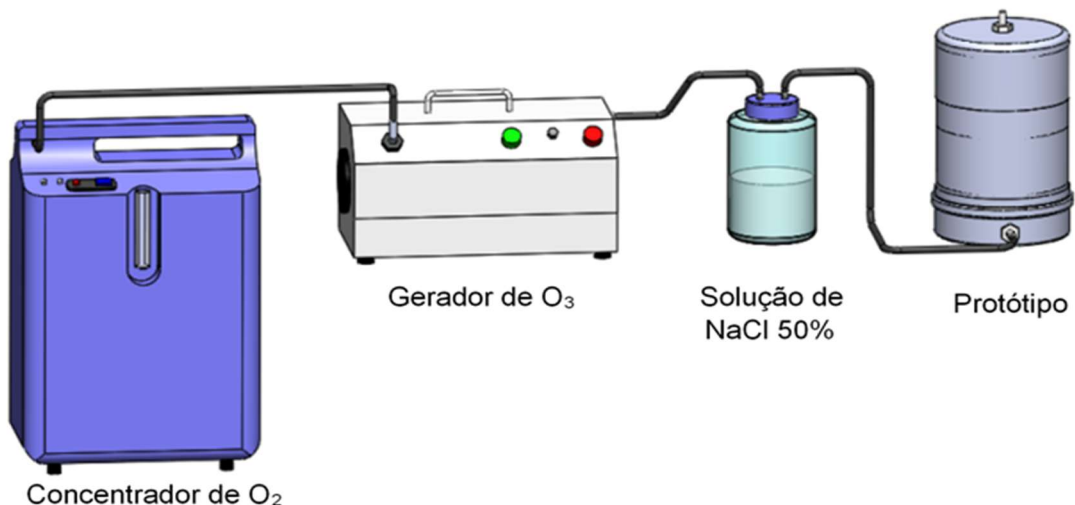


Figura 1. Esquema do aparato experimental utilizado para geração e exposição das sementes de milho ao gás ozônio.

2.6 Exposição das sementes ao ozônio

Para o tratamento com gás ozônio, amostras de 2,0 kg de sementes foram acondicionadas em um protótipo (Figura 2). O protótipo utilizado no experimento foi feito a partir de coluna cilíndrica em PVC com altura de 0,28 m, diâmetro de 0,3 m e dotada de um *plenum* com uma tela metálica posicionado a 0,05 m da base, para promover a sustentação dos grãos e distribuir o gás na massa de grãos. As sementes de milho foram expostas ao gás ozônio em concentração de entrada $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ e vazão específica de ar de $2,0 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1} \text{ t}^{-1}$.

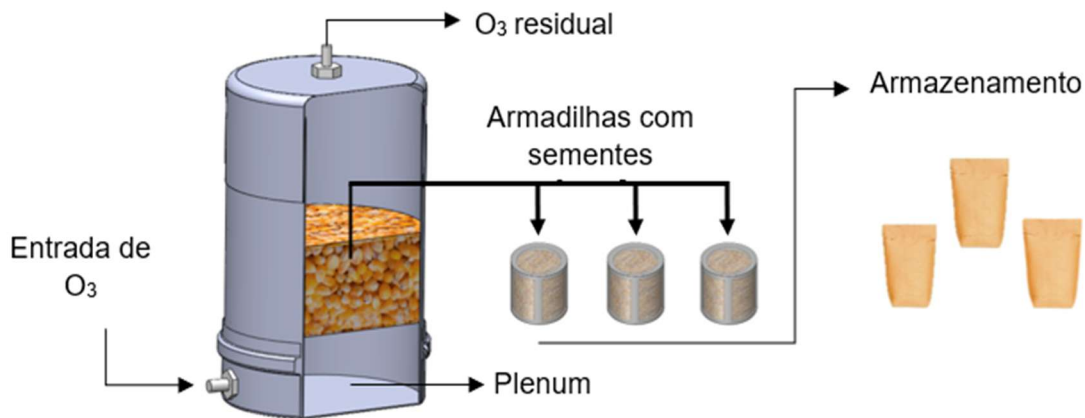


Figura 2. Vista em corte com detalhamento do protótipo utilizado para exposição das sementes de milho ao gás ozônio, posicionamento das armadilhas com sementes infestadas e posterior armazenamento em sacos de papel kraft.

Os dados de concentração de ozônio residual em função do tempo foram ajustados a equação sigmoidal (Equação 1). Após o ajuste da equação sigmoidal, o tempo de saturação foi obtido a partir da Equação 2. Conhecendo-se o tempo de saturação, no qual foi possível obter a concentração de saturação do ozônio nas sementes de milho.

$$C = \frac{a}{\left(1 + e^{-\left(\frac{t-b}{c}\right)}\right)} \quad (1)$$

$$t_{sat} = b + 2c \quad (2)$$

Em que:

C = Concentração de gás ozônio (mg L^{-1});

t = Tempo (min);

a, b, c = constantes;

t_{sat} = Tempo de saturação (h).

Para determinar a eficácia do ozônio no controle de ovos de *S. zeamais* e sobre a qualidade das sementes de milho, foram utilizadas armadilhas de PVC, com capacidade de 15 g, que foram dispostas no recipiente e no meio da camada de sementes, que continha o volume de 2,0 kg (Figura 2). Essas armadilhas foram

dotadas de aberturas nas laterais, na base e no topo, cobertas com tecido do tipo organza para conter sementes e permitir a passagem do ozônio nas direções axial e radial. Em cada teste com os insetos, foram colocadas 10 armadilhas contendo sementes com ovos de *S. zeamais*. Os tempos de exposição ao ozônio foram de 0 (controle), 6, 12, 18 e 24 h.

2.7 Eficácia do ozônio no controle de ovos de *S. zeamais*

A contagem de insetos adultos emergidos foi feita a partir de 30 dias, a cada 5 dias eram feitas contagem cumulativas de quanto insetos emergiram pós-infestação até completar o ciclo de 50 dias.

Adicionalmente, para visualizar o efeito do ozônio sobre os ovos por meio de imagens, as sementes contendo ovos de *S. zeamais* foram dispostas 4 fileiras compostas de 7 sementes inteiras infestada com ovos de *S. zeamais* (28 sementes por imagem de raio x). Estas foram analisadas quanto ao desenvolvimento destes ovos nos tempos 0, 10, 20 e 30 dias de exposição ao gás ozônio, obtendo-se radiografias digitais em aparelho MX 20, composto por câmera digital de 14 bits (Faxitron X-Ray Corp., Wheeling, IL, EUA) (Plata-Rueda et al., 2019). Na análise por imagens, optou-se pelos tempos de exposição 0 (controle) e 24 h.

2.8 Avaliação da qualidade das sementes de milho ozonizadas durante o armazenamento

Para avaliar o efeito do ozônio sobre a qualidade das sementes, foram feitas avaliações após a ozonização nos dias 0, 45, 90, 135 e 180 de armazenamento. Para isso, amostras de 200 g foram acondicionadas em embalagens porosas de papel kraft (Figura 2) e mantidas a 25 °C em câmara climática. As variáveis de qualidade das sementes foram: porcentagem de germinação, tempo médio de germinação, índice de velocidade de germinação, condutividade elétrica e comprimento da raiz, comprimento da parte aérea, comprimento da plântula em sementes de milho ozonizadas.

2.8.1 Teste de germinação

Para o teste de germinação foram utilizadas duplicatas de 50 sementes para repetição de cada tratamento. No teste, utilizou-se como substrato o papel germitest umedecido com aproximadamente 2,5 vezes o volume água destilada em relação ao peso do papel seco. O procedimento foi realizado em câmara climática com a temperatura 25°C, durante 7 dias, de acordo com os critérios contidos nas Regras para Análise de Sementes (RAS) (Brasil, 2009). Foram observadas as plântulas com estruturas essenciais intactas: sistema radicular (raiz primária e raízes secundárias), parte aérea (mesocótilo, gemas terminais e coleóptilo).

Ao final do teste foi obtido o número de plantas normais e calculou-se a percentagem de germinação através da Equação 3.

$$PG = \frac{N}{A} \times 100 \quad (3)$$

Em que:

PG = Porcentagem de germinação (%);

N = Número de sementes germinadas;

A = Número total de sementes colocadas para germinar.

2.8.2 Tempo Médio de Germinação, Índice de Velocidade de Germinação e Velocidade Média de Germinação

O tempo médio de germinação (TMG) e o índice de velocidade de germinação (IVG) foram realizados paralelamente ao teste de germinação. Realizou-se contagens diárias de plântulas normais após a instalação do teste. O TMG indica o número médio de sementes germinadas por dia (Equação 4) (Labouriau, 1983), enquanto o IVG determina o número de sementes germinadas a cada dia em relação ao tempo, a partir da semeadura até o último de contagem (Equação 5) (Maguire, 1962). A velocidade média de germinação (VMG) foi calculada através do inverso do tempo médio de germinação como na Equação 6 (Labouriau e Valadares 1976).

$$TMG = \frac{\sum N_i t_i}{\sum n_i} \quad (4)$$

Em que:

TMG = Tempo médio de germinação (dias);

t_i = tempo de incubação;

n_i = número de sementes germinadas por dia;

$$IVG = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \dots + \frac{G_n}{N_n} \quad (5)$$

Em que:

IVG = Índice de velocidade de germinação (adimensional);

G¹, G², G_n = número de sementes germinadas 1^o, 2^o, até a última contagem;

N¹, N², N_n = número de dias da semeadura na 1^o, 2^o, até a última contagem;

$$VMG = \frac{1}{TMG} \quad (6)$$

Em que:

VMG = velocidade média de germinação (dias⁻¹);

TMG = Tempo médio de germinação (dias);

2.8.3 Condutividade Elétrica

Na determinação da condutividade elétrica, utilizaram-se duas repetições de 50 sementes para repetição de cada tratamento. As amostras foram dispostas em copo plástico de 200 mL, pesadas e posteriormente embebidas em 75 mL de água destilada. E seguida, as amostras foram mantidas por 24 h, a temperatura de 25°C (Vieira e Carvalho, 1994). Após o período de embebição, foi determinada a condutividade elétrica da solução, utilizando-se condutímetro modelo MCA-150 (TecnoPON, Piracicaba, São Paulo, Brasil). Para o cálculo da condutividade elétrica, foi utilizada a Equação 7, com os resultados expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$.

$$CE = \frac{\text{Valor lido (} \mu\text{S/cm)}}{\text{Peso (g)}} \quad (7)$$

Em que:

CE = Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$).

2.8.4 Comprimento da parte aérea (CA), Comprimento da raiz (CR) e Comprimento da plântula (CP)

Para determinar o comprimento da parte aérea (CA), comprimento da raiz (CR) e comprimento de plântula (CP), foram selecionadas as plântulas especificadas como normais a partir do teste de germinação, ou seja, plantas com sistema radicular (raiz primária e em certos gêneros raízes seminais), parte aérea hipocótilo, epicótilo, mesocótilo, gemas terminais, e coleótilo (Brasil, 2009). Para aferir as medições foi manuseada uma régua milimetrada sobre mesa de superfície plana (leitura em centímetro). As medições foram feitas manualmente, onde o CA foi medido através do coleótilo, o CR foi estimado através da maior radícula e CP do coleótilo até a ponta da maior raiz (KRZYZANOWSKI et al., 2020).

2.9 Análise Estatística

Foi adotado Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com três repetições, ou seja, três aplicações distintas. Em relação ao processo de saturação, a concentração adotada foi de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ a vazão específica de $2,0 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1} \text{ t}^{-1}$. Quanto às análises de qualidade das sementes de milho, foi adotado um esquema fatorial 5×5 , sendo cinco tempos de exposição ao ozônio (0, 6, 12, 18 e 24 h) e 5 períodos de armazenamento (0, 45, 90, 135 e 190 dias). Inicialmente foi realizada análise de variância e posteriormente análise de regressão, no software StatPlus 5.0 (AnalystSoft Inc, Canada). Para obtenção dos gráficos e equações utilizou-se o software SigmaPlot versão 10.0 (Systat Software Inc, Germany). A análise de variância, foi obtida através do software StatPlus 5.0 (AnalystSoft Inc, Canadá).

3. RESULTADOS

3.1 Tempo de saturação

Na Figura 3 e Tabela 1, é representado o processo de saturação do gás ozônio nas sementes de milho, quando se adotou a concentração de entrada (C_0) de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ e vazão específica de $2,0 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1} \text{ t}^{-1}$. O tempo de saturação foi de 32,2 min, para concentração de saturação (C_{Sat}) $1,5 \text{ mg L}^{-1}$. Salienta-se que a relação entre a concentração de saturação e a concentração de entrada do ozônio foi de 0,76.

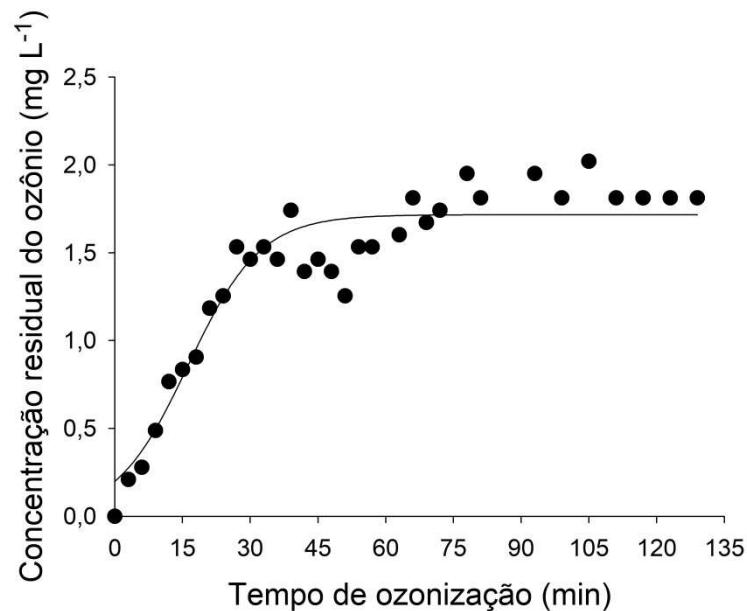


Figura 3. Curva de regressão de concentração residual do ozônio em função do tempo de exposição em sementes de milho, para concentração de entrada de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ (C_0) e vazão específica de $2,0 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1} \text{ t}^{-1}$.

Tabela 1. Equação de regressão e coeficiente de determinação (R^2) de concentração residual do ozônio em função do tempo de exposição em sementes de milho, para concentração de entrada de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ (C_0) e vazão específicas de $2,0 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1} \text{ t}^{-1}$.

Equação ajustada	R^2	EPE	t_{Sat} (min)	C_{Sat} (mg L^{-1})	C_{Sat}/ C_0
$\hat{y} = \frac{1,7162}{1+e^{-\left(\frac{x-16,2195}{7,9934}\right)}}$	0,90	0,1699	32,2	1,5	0,76

EPE – Erro padrão da estimativa; t_{Sat} – tempo de saturação (min); C_{Sat} – concentração de saturação (mg L^{-1}); C_{Sat}/ C_0 – relação entre C_{Sat} e C_0 .

3.1 Efeito do tratamento com ozônio no controle de ovos de *S. zeamais*

Na Figura 4, tem-se o efeito do ozônio sobre ovos de *S. zeamais*. O gás ozônio foi eficiente no controle de ovos de *S. zeamais*, nas condições adotadas no presente estudo. Nas sementes não ozonizadas, verificou-se $11,5 \pm 6,8$ insetos adultos emergidos em cada amostra de 15g de sementes, decorridos 50 dias de infestação. Por outro lado, nas sementes ozonizadas por tempo igual ou superior a 6 h, os valores médios foram iguais ou inferiores 0,5 insetos emergidos. É importante destacar que não foi observado insetos adultos nas sementes ozonizadas por 24 h, mesmo 50 dias depois da infestação.

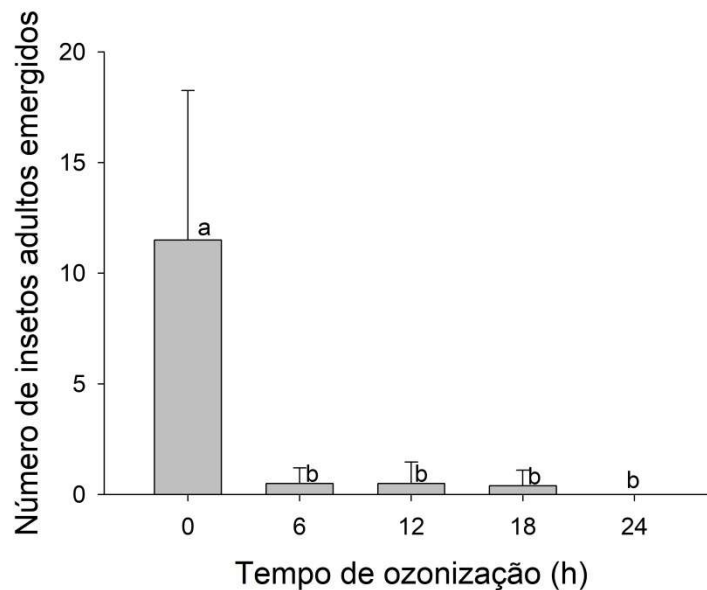


Figura 4. Número de adultos de *Sitophilus zeamais* emergidos de sementes de milho ozonizadas por até 24 h, depois de 50 dias da infestação. *Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Nas Figuras 5 e 6, é possível observar o desenvolvimento de *S. zeamais*, nas sementes não ozonizadas (controle) e ozonizadas por 24 h, respectivamente, por período de até 30 dias. Verifica-se nitidamente o desenvolvimento de *S. zeamais*, com a presença de fases imaturas, nas sementes não ozonizadas. Por outro lado, não houve desenvolvimento de *S. zeamais* nas sementes ozonizadas por 24 h.

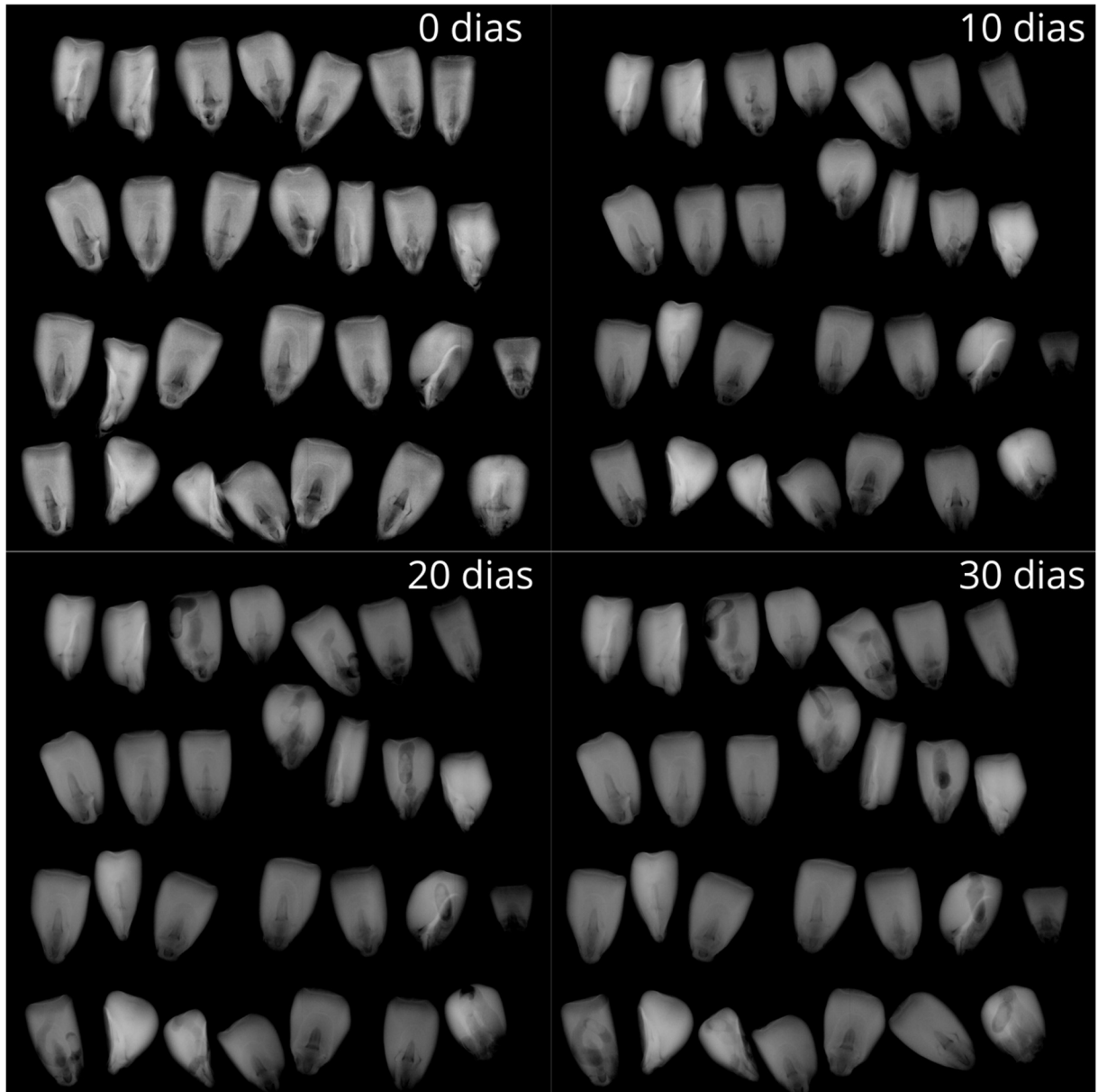


Figura 5. Sequência temporal de imagens de raios-X mostrando as interações e desenvolvimento de *Sitophilus zeamais* nas sementes não ozonizadas (controle).

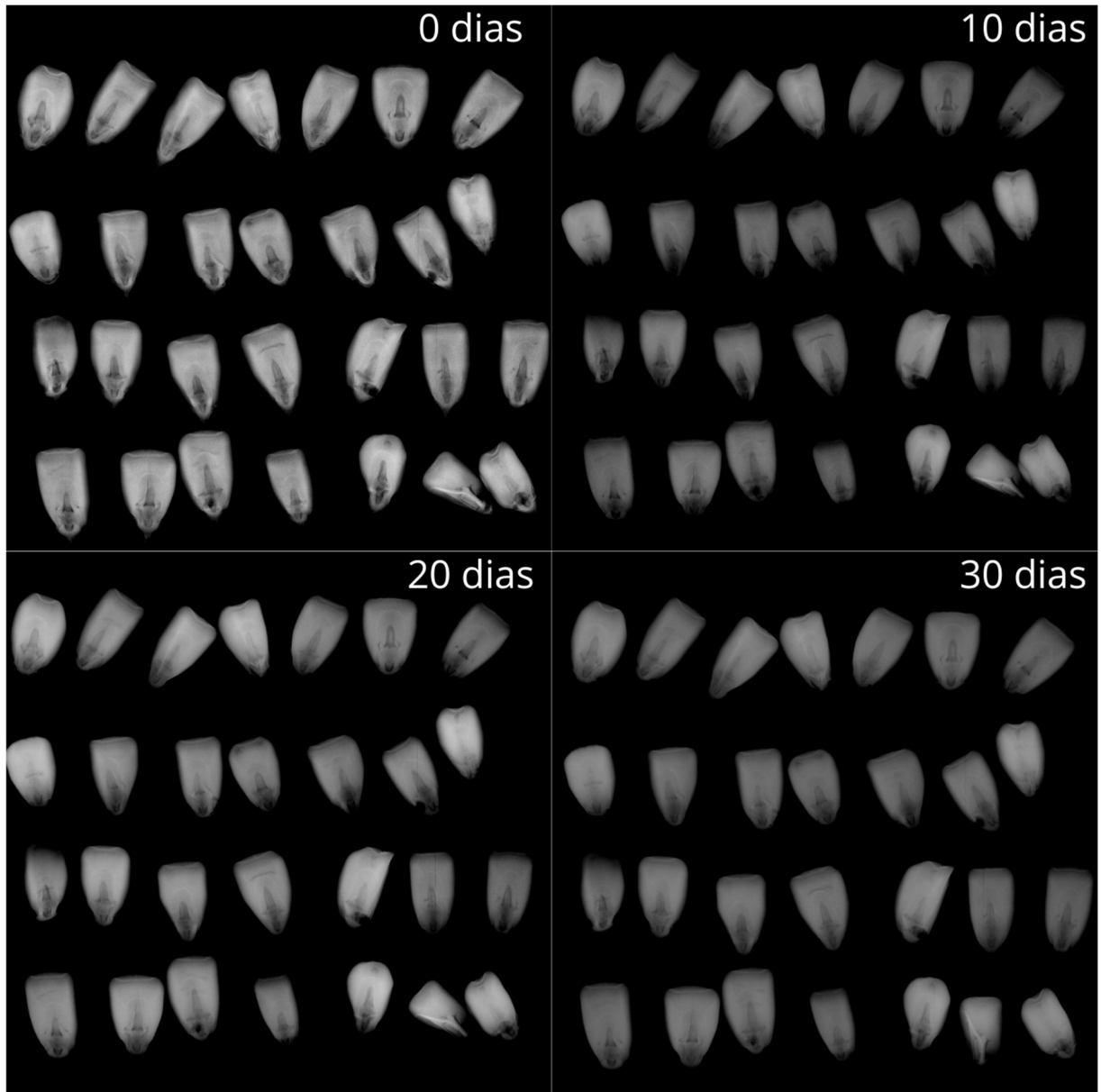


Figura 6. Sequência temporal de imagens de raios-X mostrando as interações e desenvolvimento de *Sitophilus zeamais* nas sementes de tratadas com gás ozônio, na concentração de entrada de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ e vazão específica de ar de $2,0 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1} \text{ t}^{-1}$.

3.2 Efeito do tratamento com ozônio na qualidade das sementes de milho

De acordo com a análise de variância, não houve variação significativa ($p > 0,05$) em decorrência da interação entre o tempo de ozonização e o período de armazenamento quando se analisou a germinação. Por outro lado, houve verificação significativa da germinação ($p < 0,05$), quando considerados os efeitos do tempo de ozonização e do período de armazenamento separadamente. Quanto às variáveis tempo médio de germinação (TMG) e velocidade média de germinação (VMG), verificou-se efeito significativo ($p < 0,05$) somente do período de armazenamento isoladamente.

No que se refere à variável germinação, embora a análise de variância tenha indicado efeito significativo do tempo de ozonização e do período de armazenamento separadamente, não foi observada alteração expressiva em relação a condição inicial de germinação, o que foi expresso na análise de regressão (Figuras 7A e 7B e Tabela 2). O coeficiente angular das equações de regressão, tanto quando se considerou o tempo de ozonização quanto o período de armazenamento, não foi significativo ($p > 0,05$) (Tabela 2). Resultados semelhantes foram obtidos para tempo médio de germinação e velocidade média de germinação (Figuras 7C e 7D e Tabela 2), quando se analisou o efeito do período de armazenamento isoladamente. É importante mencionar que o percentual de germinação permaneceu superior a 85,0%, em todos os tratamentos e durante o armazenamento.

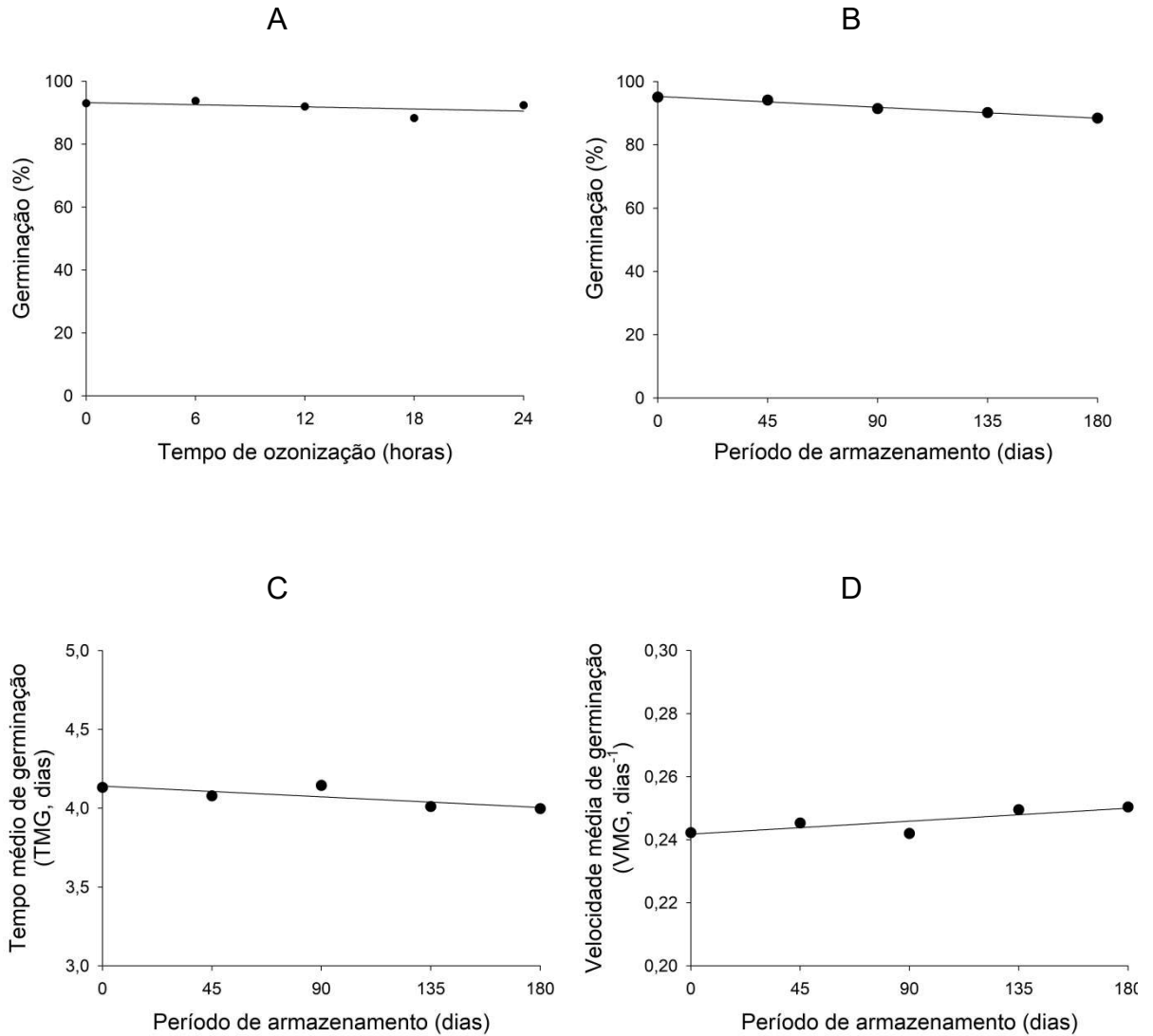


Figura 7. Germinação (GER, %) (A, B), Tempo médio de germinação (TMG) (C) e velocidade média de germinação (VMG) (D) em função do tempo de ozonização (x, horas) ou período de armazenamento (y, dias), em sementes de milho ozonizadas na concentração de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$, sob vazão específica de ar de $2,01 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1} \text{ t}^{-1}$.

Tabela 2 - Equações de regressão e respectivos coeficientes de determinação (R^2) das variáveis germinação (GER, %), tempo médio de germinação (TMG, dias) e velocidade média de germinação (VMG) em função do tempo de ozonização (x, horas) ou período de armazenamento (y, dias), em sementes de milho ozonizadas na concentração de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$, sob vazão específica de ar de $2,01 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1} \text{ t}^{-1}$

Variáveis	Equações ajustadas	R^2	EPE
GER	$\hat{z} = -0,11220 x^{\text{ns}} + 93,2067$	0,50	2,117
	$\hat{z} = -0,03820 y^{\text{ns}} + 95,3000$	0,99	0,416
TMG	$\hat{z} = -0,00080 y^{\text{ns}} + 4,1402$	0,79	0,048
VMG	$\hat{z} = 0,00004 y^{\text{ns}} + 0,2418$	0,82	0,002

^{ns} – não significativo a 5% de probabilidade. EPE – Erro padrão da estimativa.

Com relação às variáveis condutividade elétrica (CE), comprimento da parte aérea (CA), comprimento da raiz (CR) e comprimento de plântulas (CP), verificou-se variação significativa ($p < 0,05$) em decorrência da interação entre o tempo de ozonização e o período de armazenamento. Apresenta-se, na Figura 8 e Tabela 3, o efeito do tempo de ozonização e o período de armazenamento para as variáveis condutividade elétrica, comprimento da parte aérea e comprimento da raiz e comprimento de plântulas.

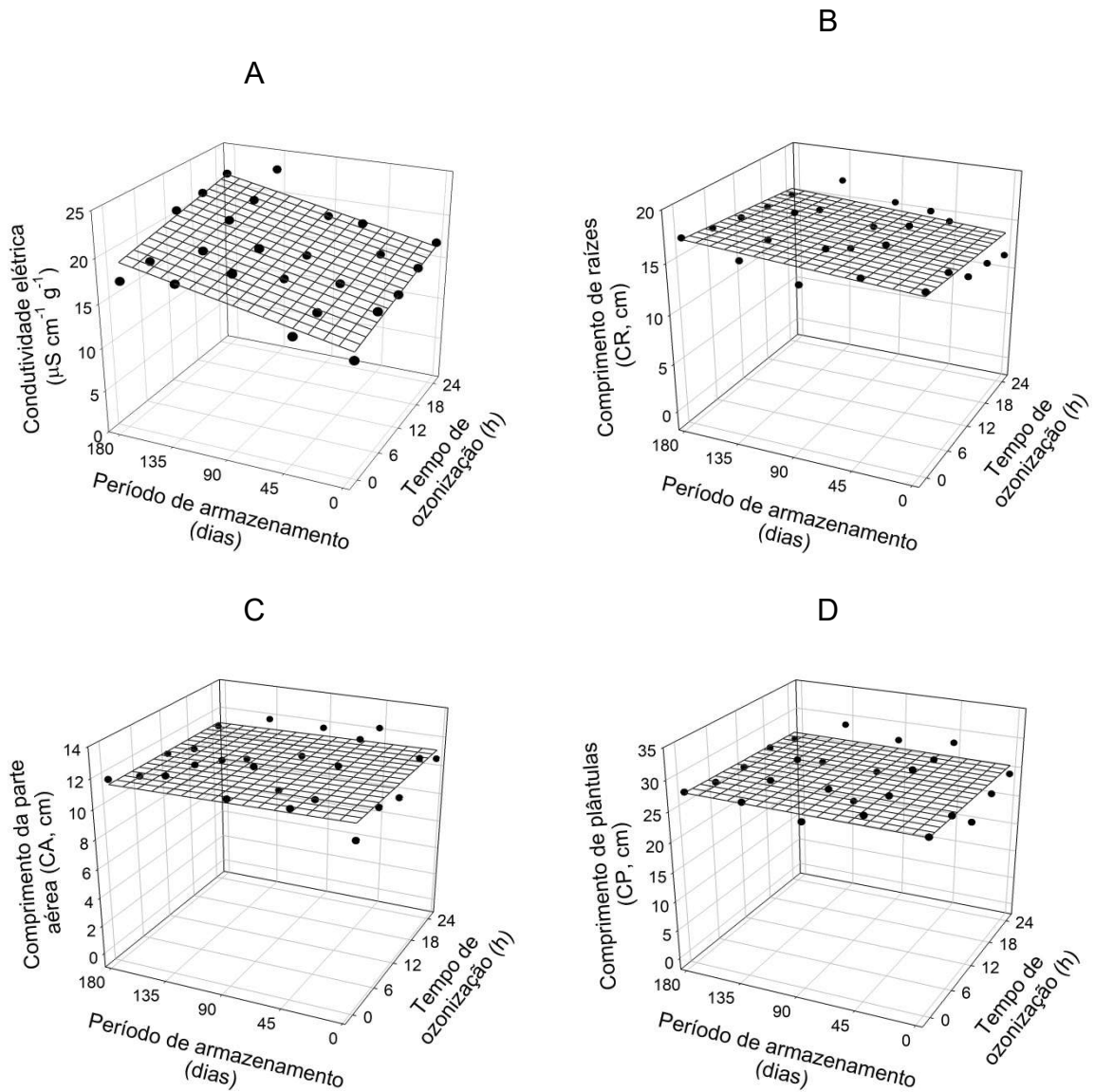


Figura 8. Condutividade elétrica (CE, $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) (A), comprimento da raiz (CR, cm) (B), comprimento da parte aérea (CA, cm) (C) e comprimento de plântulas (CP, cm) (D) em função do tempo de ozonização (x, h) e do período de armazenamento (y, dias) em sementes de milho ozonizadas na concentração de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ e vazão específica de ar de $2,0 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1} \text{ t}^{-1}$.

Tabela 3 - Equações de regressão e respectivos coeficientes de determinação (R^2) das variáveis condutividade elétrica (CE, $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$), comprimento da raiz (CR, cm), comprimento da parte aérea (CA, cm) e comprimento de plântulas (CP, cm) em função do tempo de ozonização (x, h) e do período de armazenamento (y, dias), em sementes de milho ozonizadas na concentração de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ e vazão específica de ar de $2,0 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1} \text{ t}^{-1}$

Variáveis	Equações ajustadas	R^2	EPE
CE	$\hat{z}=14,1276+0,1162 x^*+0,0277 y^*$	0,73	2,001
CR	$\hat{z}=15,3417-0,0485 x^{\text{ns}}+0,0081 y^{\text{ns}}$	0,14	1,938
CA	$\hat{z}=11,5072-0,0028 x^{\text{ns}}-0,0011 y^{\text{ns}}$	0,48	1,283
CP	$\hat{z}=26,7912-0,0267 x^{\text{ns}}+0,0022 y^{\text{ns}}$	0,09	0,826

* Significativo a 5% de probabilidade. ^{ns} – não significativo. EPE – Erro padrão da estimativa.

No que se refere a condutividade elétrica (Figura 8A), observou-se aumento à medida que se elevou o tempo de ozonização e o período de armazenamento. Os coeficientes da equação de regressão dessa variável foram significativos (Tabela 3). Tem-se que para os tratamentos controle (0 h) e aquele referente a 24 h de ozonização, os valores estimados de condutividade elétrica foram $19,1$ e $21,9 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$. Todavia, quando se analisaram as variáveis comprimento da raiz (Figura 8B), comprimento da parte aérea (Figura 8C) e comprimento de plântulas (Figura 8D), apesar de ter sido verificado diferença significativa em decorrência da interação entre o tempo de ozonização e o período de armazenamento, os coeficientes das equações de regressão não foram significativos (Tabela 3).

4. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos referente ao processo de saturação (Figura 3) foram semelhantes aos já identificados por outros estudos com o gás ozônio em fluxo contínuo em massa de grãos de milho de pipoca (Silva et al., 2019), feijão-caupi (Abreu et al., 2022) e arroz (Srivastava et al., 2021). Segundo Kells et al., (2001) e Mendez et al., (2003) o ozônio é um gás de alta reatividade e o seu transporte na massa de grãos apresenta duas fases distintas. De acordo com esses autores, na primeira fase, o gás reage com os sítios ativos na superfície do produto, ocorrendo a

degradação do ozônio de forma mais rápida. À medida que o ozônio se desloca no espaço intergranular, a taxa de degradação é reduzida, caracterizando-se a segunda fase. A redução da taxa de degradação do ozônio na segunda fase implica no aumento da concentração do gás no espaço intergranular com o decorrer do processo de ozonização (Kells et al., 2001; Mendez et al., 2003).

Quanto ao efeito do ozônio sobre ovos de *S. zeamais* nas sementes de milho, verificou-se que o gás foi eficiente no controle dessa fase imatura do inseto, não sendo observados adultos, mesmo depois de 50 dias após a infestação, quando se adotou o tempo de ozonização de 24 h (Figura 4). Nos demais tempos de ozonização (6, 12 e 18 h), verificou-se emergência de insetos adultos, porém com valores médios inferiores ao do tratamento controle (sementes não ozonizadas). É importante salientar a diferença de tolerância entre as fases dos insetos quanto expostos a fumigantes. De acordo com Rajendran e Sriranjini (2008), os estágios ativos de insetos (adultos e larvas não diapausantes) são menos tolerantes a fumigantes que estágios sedentários (ovos e pupas). A tolerância superior dos ovos se deve a taxa respiratória inferior, quando comparado aos estágios ativos, o que afeta a absorção dos gases fumigantes (Rajendran e Sriranjini, 2008; Paes et al., 2012). No presente estudo, apesar dessa característica dos ovos, foi possível observar o controle total no tempo de ozonização de 24 h, adotando-se concentração de entrada de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ e vazão específica de $2 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1} \text{ t}^{-1}$.

Outra característica do inseto-praga *S. zeamais* e que pode influenciar a ação de fumigantes é o fato de que a fêmea perfura os grãos, insere os ovos nas cavidades no endosperma e cobre com substância gelatinosa, de composição desconhecida (Niewiada et al., 2005). Embora haja proteção dos ovos com essa substância gelatinosa, nas condições adotadas no presente estudo, o ozônio controlou os ovos do *S. zeamais*. É possível que o ozônio, em função do seu potencial oxidativo (2,07 mV) (Guzel-Seydim et al., 2004), tenha degradado constituintes dessa substância gelatinosa utilizada pelas fêmeas para cobrir os grãos e, conseqüentemente, o controle dos ovos pelo gás foi favorecido. Sabe-se que o ozônio é capaz de oxidar compostos orgânicos diversos, preferencialmente compostos insaturados (Silva et al., 2015). Nesse contexto, pode ser afirmar que a concentração do ozônio no meio poroso influenciou o controle dos insetos nas sementes de milho. A concentração de saturação obtida foi de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$, equivalente a aproximadamente 76% da concentração de entrada do gás. Quando a massa de sementes ou grãos se encontra

saturada com ozônio e é exposta a tratamento prolongado, a toxicidade é intensificada, ocasionando um aumento na mortalidade dos insetos (Jian, et al., 2013; Dong et al., 2022).

No que tange a qualidade fisiológica das sementes de milho durante o armazenamento, em geral, o ozônio não provocou alterações indesejáveis nas condições adotadas no presente estudo. Alterações mais pronunciadas devido ao ozônio foram verificadas somente quando se considerou a variável condutividade elétrica, o que não indicou inviabilidade de uso posterior das sementes de milho, mesmo armazenadas por 180 dias. Ressalta-se que a germinação das sementes de milho, ozonizadas ou não, permaneceu superior a 85% durante 180 dias de armazenamento. É importante mencionar que o percentual de 85% é o mínimo exigido para comercialização de sementes de milho no Brasil, de acordo com a Instrução Normativa Nº 45, de 17 de setembro de 2013 (Brasil, 2013).

A condutividade elétrica das sementes quando submetidas ao tratamento com ozônio e ao armazenamento prolongado, pode ser aumentada, pois quando as membranas se deterioram, os líquidos intracelulares podem sair na água de embebição onde estão as sementes (Oliveira et al., 2011). Este aumento da condutividade elétrica em grãos ozonizados está diretamente ligado ao da concentração de entrada do gás e do tempo de exposição (Silva et al., 2019). O armazenamento prolongado, com períodos de 6 a 18 meses, é capaz de influenciar também o processo de deterioração, refletindo no aumento condutividade elétrica sementes (Shahein e Shalaby, 2021).

Apesar de não terem sido observadas alterações expressivas na qualidade das sementes de milho no presente estudo, outros autores verificaram modificações desejáveis, como aumento do percentual de germinação nas sementes de milho ozonizadas em relação às não ozonizadas (Rosa et al., 2022; Baskakov et al., 2020). O aumento do percentual de germinação é associado ao estresse oxidativo, o que estimula a expressão do gene que codifica enzimas antioxidantes como: catalase, ascorbato peroxidase, superóxido dismutase e glutathione redutase (Zhao et al., 2008). Essas enzimas são parte de um sistema antioxidante, essenciais para a germinação completa das sementes (Sasaki et al., 2005; Keting e Rajeev, 2011). Por outro lado, Lazukin et al., (2018) e Alencar et al., (2021) não observaram alterações na qualidade de sementes de trigo e quinoa, respectivamente, devido à ozonização.

Há que se destacar que alterações indesejáveis podem ocorrer quando as sementes são expostas a tratamento prolongado com ozônio e a germinação pode ser afetada negativamente. Nesses casos, há um acúmulo de peróxido ou superóxido, acarretado pelo gás ozônio, o que ocasiona danos aos mecanismos antioxidantes, reduzindo a atividade de enzimas relacionadas e prejudicando a biossíntese de macromoléculas, e, conseqüentemente, supressão do processo de germinação (Wu et al., 2006). A redução da capacidade germinativa é indesejável, sendo uma das principais variáveis a serem consideradas.

Em trabalhos futuros, sugere-se que sejam realizadas análises com as demais fases imaturas do *S. zeamais*, tais como larvas e pupa. Além disso, é importante que seja realizada a avaliação do desempenho em campo das sementes de milho tratadas com o gás ozônio (MAXIMIANO et al., 2023). Não há na literatura trabalhos no qual se avalia o efeito do gás ozônio no desempenho de sementes de milho em campo. Há somente os trabalhos de Baskakov et al., (2020) e de Monteiro et al., (2022) em que foram determinados os efeitos do gás ozônio e da água ozonizada, respectivamente, em sementes de milho.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo permitiram concluir que:

- i. O tratamento com ozônio na concentração de entrada $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ e vazão específica de ar de $2,0 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1} \text{ t}^{-1}$ foi capaz de controlar ovos de *Sitophilus zeamais*.
- ii. O ozônio foi capaz de reduzir a emergência dos insetos a partir dos tempos de exposição intermediários de 6, 12 e 18 h de exposição;
- iii. E, dentre os tempos de ozonização testados, o de 24 h é o mais adequado para controle total de ovos de *S. zeamais*.
- iv. E, condições semelhantes às adotadas no presente estudo, o ozônio não altera a qualidade fisiológica de sementes de milho imediatamente depois do tratamento e durante o armazenamento.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A. O.; FARONI, L. R. D. A.; SILVA, M. V. A.; SOUSA, A. H.; ALENCAR, E. R.; SILVA, G. N. Ozone as an alternative fumigant for controlling *Callosobruchus maculatus* (F.)(Coleoptera: Chrysomelidae) in cowpea beans. **Journal of Stored Products Research** v. 97, p. 101969, 2022.
- AFZAL, I.; BAKHTAVAR, M. A.; ISHFAQ, M.; SAGHEER, M.; BARIBUTSA, D.. Maintaining dryness during storage contributes to higher maize seed quality. **Journal of Stored Products Research**, v. 72, p. 49-53, 2017.
- ALENCAR, E. R.; FARONI, L. R. D. A.; SOARES, N. D. F. F.; SILVA, W. A.; SILVA CARVALHO, M. C. Efficacy of ozone as a fungicidal and detoxifying agent of aflatoxins in peanuts. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 4, p. 899-905, 2012.
- ALENCAR, E. R.; JOJOA, W. A.; SILVA, K. N.; SOUZA, N. O. S. "Ozonation of Quinoa Seeds (*Chenopodium Quinoa* Willd.): Saturation and Decomposition Kinetics of Ozone and Physiological Quality of Seeds." **Semina: Ciências Agrárias** 42 (3): 1019–32, 2021.
- ANDRADE, R. V.; AUZZA, S. A. Z.; ANDREOLI, C.; NETTO, D. A. M.; OLIVEIRA, A. C. Qualidade fisiológica das sementes do milho híbrido simples HS 200 em relação ao tamanho. 2001. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/78263/1/Qualidade-fisiologica-1.pdf>. Acesso em 28/08/2024.
- ANTUNES, L. E. G.; FERRARI FILHO, E.; SILVA PIRES, P. D.; VIEBRANTZ, P. C.; GOTTARDI, R.; DIONELLO, R. G. Controle de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera: Cucujidae) usando duas concentrações de gás fosfina com diferentes períodos de exposição, em grãos de milho. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 17, n. 2, p. 167-172, 2011.
- ARRAHMAN, A.; MIRSAM, H.; DJAENUDDIN, N.; PAKKI, S.; SAENONG, M. S.; SEBAYANG, A. An in-depth study on *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera: Curculionidae) pests on corn plants. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science** . IOP Publishing, v. 1107, n. 1, p. 012060, 2022.
- BASKAKOV, I. V.; OROBINSKY, V. I.; GULEVSKY, V. A.; GIEVSKY, A. M.; CHERNYSHOV, A. V. Influence of ozonation in seed storage on corn grain yield and its quality. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, v. 488, p. 012007, 2020.
- BELLON, P. P.; CEMIN, M. F. R. Efficacy of alternative and biological insecticides on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in corn grains. **Seven Editora**, 2023.
- BLACK, M.; PITCHARD, H. W. Desiccation and survival in plants: drying without dying. New York: **CAB International**, p. 84-91, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 2009.

BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 45, de 17 de setembro de 2013. Diário Oficial da República Federativa do Brasil: seção 1, p. 38-38, 2013.

CLESCERI, L.S.; GREENBERG, A.E.; EATON, A.D. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th. Denver: American Water Works Association, 2000.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, Brasília, DF, v. 12, safra 2024/25, n. 5 quinto levantamento, fevereiro 2025. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 17/02/2025.

CONTINI, E.; MOTA, M. M.; MARRA, R.; BORGHI, E.; MIRANDA, R. D.; SILVA, A. D.; MENDES, S. M. Milho: caracterização e desafios tecnológicos. **Brasília: Embrapa. (Desafios do Agronegócio Brasileiro, 2)**, 2019. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/195075/1/Milho-caracterizacao.pdf>. Acesso em: 28/08/2023.

DONG, X.; AGARWAL, M.; XIAO, Y.; REN, Y.; MAKER, G.; YU, X. Ozone efficiency on two coleopteran insect pests and its effect on quality and germination of barley. **Insects**, v. 13, n. 4, p. 318, 2022.

GUZEL-SEYDIM, Z. B.; GREENE, A. K.; SEYDIM, A. C. Use of ozone in the food industry. **LWT-Food Science and Technology**, v. 37, n. 4, p. 453-460, 2004.

HANSEN, L. S.; HANSEN, P.; JENSEN, K. M. V. Lethal doses of ozone for control of all stages of internal and external feeders in stored products. **Pest management science**, v. 68, n. 9, p. 1311-1316, 2012.

HANSEN, L. S.; HANSEN, P.; JENSEN, K.M. V. Effect of gaseous ozone for control of stored product pests at low and high temperature. **Journal of stored products research**, v. 54, p. 59-63, 2013.

HEBERLE, E.; ARAUJO, E. F., LACERDA FILHO, A. F.; CECON, P. R.; ARAUJO, R. F.; AMARO, H. T. R. Qualidade fisiológica e atividade enzimática de sementes de milho durante o armazenamento. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 3, p. 657-665, 2019.

ISIKBER, A. A.; ATHANASSIOU, C. G. The use of ozone gas for the control of insects and micro-organisms in stored products. **Journal of Stored Products Research**, v. 64, p. 139-145, 2015.

JIAN, F.; JAYAS, D.S.; WHITE, N.D. Can ozone be a new control strategy for pests of stored grain?. **Agricultural Research**, v. 2, p. 1-8, 2013.

KELLS, S. A.; MASON, L. J.; MAIER, D. E.; WOLESKOK, C. P. Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. **Journal of Stored Products Research**, v. 37, p. 371-382, 2001.

KETING, C.; RAJEEV, A. Dynamics of the antioxidant system during seed osmopriming, post-priming germination, and seedling establishment in Spinach (*Spinacia oleracea*), **Plant Science** v 180, p 212–220, 2011.

KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. de B.; MARCOS-FILHO, J. (ed.) Vigor de sementes: conceitos e testes. 2. ed. Londrina: Abrates, 2020. p. 278-316.

LABORIAL, L. G.; VALADARES, M. B. On the germination of seeds of *Calotropis procera*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 48, p. 174-186, 1976.

LABOURIAU, L.G. A germinação das sementes. Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos. Washington, D.C. 1983.

LAZUKIN, A.; SERDUKOV, Y.; PINCHUK, M.; STEPANOVA, O.; KRIVOV, S.; LYUBUSHKINA, I. Treatment of spring wheat seeds by ozone generated from humid air and dry oxygen. 2018.

LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. B.; HENNING, A. A.; HENNING, F. A. Manejo integrado de pragas de grãos e sementes armazenadas. **CEP**, v. 86001, p. 970, 2015.

MAGALHÃES, S. R.; BORGES, E. E L.; BERGER, A P. A. Alterações nas atividades das enzimas alfa-galactosidase e poligalacturonase e nas reservas de carboidratos de sementes de *Schizolobium parahyba* (vell.) Blake (guapuruvú) durante a germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, nº 2, p.253-261, 2009.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation of seedling emergence and vigour. **Crop Science**, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MAXIMIANO, Christian Viterbo et al. Reinvigoration of corn seeds (common, popcorn, sweet and super sweet) by hydroconditioning. **REVISTA DELOS**, v. 16, n. 44, p. 1434-1464, 2023.

MENDEZ, F.; MAIER, D. E.; MASON, L. J.; WOLOSHUK, 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, p. 33-44, 2003.

MOREIRA DE CARVALHO, M. L.; REZENDE LEITE, E.; CARVALHO, G. A.; FRANÇA-SILVA, F.; BERNARDES DE ANDRADE, D.; MARQUES, E. R. The compared efficiency of the traditional method, radiography without contrast and radiography with contrast in the determination of infestation by weevil (*Sitophilus zeamais*) in maize seeds. **Insects**, v. 10, n. 6, p. 156, 2019.

MONTEIRO, N. O. D. C.; ALENCAR, E. R.; SOUZA, N. O. S.; LEÃO, T. P. Ozonized water in the preconditioning of corn seeds: physiological quality and field performance. **Ozone: Science & Engineering**, v. 43, n. 5, p. 436-450, 2021.

NIEWIADA, A.; NAWROT, J.; SZAFRANEK, J.; SZAFRANEK, B.; SYNAK, E.; JELEŃ, H.; WAŚOWICZ, E. Some factors affecting egg-laying of the granary weevil (*Sitophilus granarius* L.). **Journal of Stored Products Research**, v. 41, n. 5, p. 544-555, 2005.

OLIVEIRA, A. C. S. D.; COELHO, F. C.; VIEIRA, H. D.; RUBIM, R. F. Armazenamento de sementes de milho em embalagens reutilizáveis, sob dois ambientes. **Revista Brasileira De Milho E Sorgo**, v. 10, n. 1, p. 17-28, 2011.

PAES, J. L.; FARONI, L. R. D. A.; DHINGRA, O. D.; CECON, P. R.; SILVA, T. A. Insecticidal fumigant action of mustard essential oil against *Sitophilus zeamais* in maize grains. **Crop Protection**, v. 34, p. 56-58, 2012.

PIMENTEL, M.; DE OLIVEIRA, I. R.; MATRANGOLO, W.; FERNANDES, D.; RAMOS, G.; FERNANDES, D. K. S.; RAMOS, G. C. P. Eficiência de inseticidas alternativos para controle do caruncho-do-milho. 2019. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1109817/1/bol186.pdf>. Acesso em: 26/08/2024.

PLATA-RUEDA, A.; MARTÍNEZ, L. C.; COSTA, N. C. R.; ZANUNCIO, J. C.; SENA FERNANDES, M. E.; SERRÃO, J. E.; ... & FERNANDES, F. L. Chlorantraniliprole-mediated effects on survival, walking abilities, and respiration in the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 172, p. 53-58, 2019.

RANUM, P.; PEÑA-ROSAS, J. P.; GARCIA-CASAL, M. N. Global maize production, utilization, and consumption. **Annals of the New York academy of sciences**, v. 1312, n. 1, p. 105-112, 2014.

RAJENDRAN, S.; SRIRANJINI, V. Plant products as fumigants for stored-product insect control. **Journal of stored products Research**, v. 44, n. 2, p. 126-135, 2008.

ROSA, C. C.; ALENCAR, E. R.; SOUZA, N. O. S.; BASTOS, C. S.; SUINAGA, F. A.; FERREIRA, W. F. D. S. Physiological quality of corn seeds treated with gaseous ozone. **Ozone: Science & Engineering**, v. 44, n. 1, p. 117-126, 2022.

SANTOS, J. P.; MAIA, J. D. G.; CRUZ, I. Efeito da infestação pelo gorgulho (*Sitophilus zeamais*) e traça (*Sitotroga cerealella*) sobre a germinação de sementes de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 25, n. 12, p. 1687-1692, 1990.

SASAKI, K.; KISHITANI, S.; ABE, F.; SATO, T. Promotion of seedling growth of seeds of rice (*Oryza sativa* L. cv. Hitomebore) by treatment with H₂O₂ before sowing. **Plant Production Science**, v. 8, n. 5, p. 509-514, 2005.

SHAHEIN, A. M.; SHALABY, N. Longevity of maize seed (*Zea mays* L.) under different storage conditions. **Journal of Sustainable Agricultural Sciences**, v. 47, n. 4, p. 45-55, 2021.

SILVA, W. S.; SARTORI, J. A.; AGUIAR, C. L. Combination effect of ozone and heat treatment for the color reduction in sugarcane juice. **Chemical and Process Engineering Research**, v. 35, n. 1, p. 75-83, 2015.

SILVA, M. V. A.; FARONI, L. R. D. A.; SOUSA, A. H.; PRATES, L. H. F.; ABREU, A. O. Kinetics of the ozone gas reaction in popcorn kernels. **Journal of Stored Products Research**, v. 83, p. 168-175, 2019.

SILVA, M. V. A.; FARONI, L. R. D. A.; ALENCAR, E. R.; SOUSA, A. H.; CECON, P. R.; NOGUEIRA, J. V. F.; MASON FILHO, V. Ozone injection at low pressure: decomposition kinetics, control of *Sitophilus zeamais*, and popcorn kernel quality. **Ozone: Science & Engineering**, v. 44, n. 1, p. 66-78, 2022.

SOUSA, A. H.; FARONI, L. R. D. A.; PIMENTEL, M. A. G.; SILVA, G. N.; GUEDES, R. N. C. Ozone toxicity to *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) populations under selection pressure from ozone. **Journal of Stored Products Research**, v. 65, p. 1-5, 2016.

SRIVASTAVA, S.; MISHRA, G.; MISHRA, H. N. Vulnerability of different life stages of *Sitophilus oryzae* insects in stored rice grain to ozone treatment and its effect on physico-chemical properties in rice grain. **Food Frontiers**, v. 2, n. 4, p. 494-507, 2021.

TIWARI, B.K.; BRENNAN, C.S.; CURRAN, T.; GALLAGHER, E.; CULLEN, P.J.; O'DONNELL, C.P. Application of ozone in grain processing. **Journal of cereal science**, v. 51, n. 3, p. 248-255, 2010.

USDA - United States Department of Agriculture Foreign Agricultural Service August. **Grain: World Markets and Trade**. United States Department of Agriculture, 2024. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/grain.pdf>. Acesso em: 26/08/24.

VIOLLEAU, F.; HADJEBA, K.; ALBET, J.; CAZALIS, R.; SUREL, O. Effect of oxidative treatment on corn seed germination kinetics. **Ozone: Science and Engineering**, v 30, n 6, p. 418-422, 2008.

WANG, B.; YANG, R.; JI, Z.; ZHANG, H.; ZHENG, W.; ZHANG, H.; FENG, F. Evaluation of biochemical and physiological changes in sweet corn seeds under natural aging and artificial accelerated aging. **Agronomy**, v. 12, n. 5, p. 1028, 2022.

WU, J.; DOAN, H.; CUENCA, M. A. Investigation of gaseous ozone as an anti-fungal fumigant for stored wheat. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology**, v. 81, n. 7, p. 1288-1293, 2006.

ZHAO, L.; HE, J.; WANG, X.; ZHANG, L. Nitric oxide protects against polyethylene glycol-induced oxidative damage in two ecotypes of reed suspension cultures. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, n. 2, p. 182-191, 2008.

ZHANG, R.; MA, S.; LI, L.; ZHANG, M.; TIAN, S.; WANG, D.; ... & WANG, X. Comprehensive utilization of corn starch processing by-products: A review. **Grain & Oil Science and Technology**, v. 4, n. 3, p. 89-107, 2021.