

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

ZENILDA DE FATIMA CARNEIRO

RESISTÊNCIA DE VARIEDADES DE MILHO CRIOULO AO
GORGULHO-DO-MILHO *Sitophilus zeamais* (COLEOPTERA:
CURCULIONIDAE)

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2019

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

ZENILDA DE FATIMA CARNEIRO

**RESISTÊNCIA DE VARIEDADES DE MILHO CRIOULO AO
GORGULHO-DO-MILHO *Sitophilus zeamais* (COLEOPTERA:
CURCULIONIDAE)**

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2019

ZENILDA DE FATIMA CARNEIRO

**RESISTÊNCIA DE VARIEDADES DE MILHO CRIOULO AO
GORGULHO-DO-MILHO *Sitophilus zeamais* (COLEOPTERA:
CURCULIONIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Santos Andrade

Coorientadora: Prof^a. Dra. Adriana Paula D'Agostini Contreiras Rodrigues

Coorientador: Dr. Leandro Pin Dalvi

PATO BRANCO

2019

C289r

Carneiro, Zenilda de Fatima

Resistência de variedades de milho crioulo ao gorgulho-do-milho *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) Zenilda de Fatima Carneiro.-- 2019.

71 f. : il. ; 30 cm

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Santos Andrade

Coorientadora: Profa. Dra. Adriana P. D. Contreiras Rodrigues

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, PR, 2019.

Bibliografia: f. 49 – 61

1. Alimentos. 2. Milho-Armazenamento. 3. Pragas. I. Andrade, Gilberto Santos, orient. II. Rodrigues, Adriana Paula. D'Agostini Contreiras, e Leandro Pin Dalvi coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Resistência de variedades de milho crioulo ao gorgulho-do-milho *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae).

CDD (22.ed.) 630

Ficha Catalográfica elaborada por:
Súelem Belmudes Cardoso CRB9/1630
Biblioteca da UTFPR Câmpus Pato Branco



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco



Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Agronomia

TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação nº XXX

**RESISTÊNCIA DE VARIEDADES DE MILHO CRIOULO AO GORGULHO-DO-
MILHO *Sitophilus zeamais* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)**

por

ZENILDA DE FATIMA CARNEIRO

Dissertação apresentada às 13 horas e 30 min. do dia 22 de março de 2019 como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Produção vegetal, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos membros abaixo designados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Marcoandre Savaris
ESALQ, Piracicaba

Prof. Dr. Jorge Jamhour
UTFPR, Câmpus Pato Branco

Prof.^a Dra. Taciane Finatto
UTFPR, Câmpus Pato Branco

Prof. Dr. Gilberto Santos Andrade
UTFPR, Câmpus Pato Branco
Orientador

Prof. Dr. Alcir José Modolo
Coordenador do PPGAG

Dedico a Deus, aos meus pais Terezinha Mota Carneiro e Joaquim Pedro Carneiro, irmãos e ao meu namorado Edison Linhares Serpa Neto por todo apoio prestado e a todos aqueles que despertarem interesse por esta pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Chegando ao fim do meu Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração Produção Vegetal, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, quero deixar meus sinceros agradecimentos às pessoas que fizeram parte dessa minha trajetória acadêmica. Sem dúvida não teria chegado aonde cheguei sem o apoio incondicional dessas pessoas, a quem sou muito grata.

Primeiramente agradeço a Deus por ter me concedido essa oportunidade e atender meu pedido de cursar meu mestrado em uma Instituição de Ensino Pública.

Agradeço de todo meu coração, meus pais Terezinha e Joaquim Pedro por sempre estarem ao meu lado, por acreditarem em mim sempre. Muito obrigada amo muito vocês! Agradeço ainda meus irmãos e meu namorado Edison Linhares Serpa Neto por todo o apoio e incentivo durante esses dois anos de estudo.

As minhas amigas/irmãs Flavia, Deia, Kerry e Naty pelas palavras de apoio e incentivo, obrigada vocês foram essenciais para essa conquista.

Durante esses dois anos contei com a ajuda de um amigo muito especial que tive o prazer de conhecer durante o mestrado, Helter Carlos Pereira muito obrigada pelo seu apoio. Agradeço também a Eliane Carneiro por me auxiliar durante a análise enzimática, sem sua ajuda não teria conseguido.

Agradeço de coração ao Victor M. L. Bohn por sua ajuda durante a parte prática do meu experimento. Agradeço ainda a uma grande amiga, Debora de Mello por todo apoio e companheirismo durante esse período.

Ao Prof^o Jorge Jamhour por todo seu esforço e tempo dedicado a mim, muito obrigada.

À minha coorientadora Prof.^a Adriana P. D. Contreiras-Rodrigues por sua paciência e apoio, por estar sempre disposta a me auxiliar todas as vezes que precisei, meu muito obrigada.

Ao meu orientador Prof. Gilberto Santos Andrade por ter me guiado durante esses dois anos de trabalho, por toda confiança depositada em mim, e por acreditar no meu esforço e dedicação.

Muito obrigada a todos, sem vocês, com certeza não teria conseguido realizar esse sonho!!!

“Na natureza nada se cria, nada se perde, tudo se transforma”

Antoine Lavoisier

RESUMO

CARNEIRO, Zenilda de Fatima. Resistência de variedades de milho crioulo ao gorgulho-do-milho *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). 73 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2019.

O milho é um cereal produzido mundialmente e com ampla versatilidade de uso. A cultura do milho sofre com ataque de insetos-praga, e *Sitophilus zeamais* Motschulsky destaca-se como uma das principais pragas dos grãos armazenados de milho. O cereal pode expressar resistência do tipo não-preferência, antibiose ou tolerância ao inseto. Esta pesquisa foi desenvolvida com o objetivo de identificar variedades de milho crioulo quanto a resposta a *Sitophilus zeamais* por meio de análises da composição química dos grãos e alterações biológicas dos insetos. Adultos de *S. zeamais* foram expostos a amostras de grãos, de oito variedades de milho: Asteca, Colorado, Palha roxa, Oaxacan, Maisena, Caiano, Rajado e 8 Carreira por dez dias para cópula e oviposição, em seguida os adultos de *S. zeamais* foram retirados, após trinta dias, a cada dois dias foram realizadas as seguintes avaliações: ciclo biológico e índice de suscetibilidade por meio de uma fórmula matemática, além da emergência dos insetos, peso dos insetos e perda de peso dos grãos. Foi realizado ainda uma análise da composição química, a fim de identificar a concentração de proteínas, carboidratos, lipídeos, cinzas e fibras presentes nas variedades testadas. Uma análise da atividade da enzima amilase de *S. zeamais* foi realizada, para verificar a presença de inibidores da enzima nas variedades de milho em estudo. As variedades Colorado e 8 Carreira se mostraram resistentes ao ataque de *S. zeamais*, enquanto Palha roxa e Maisena foram as mais suscetíveis. Os resultados mostraram que Colorado apresentou resistência do tipo antibiose, pois proporcionou reduzida emergência de adultos indicando morte larval, e Oaxacan apresentou resistência do tipo não-preferência, mostrando que essa variedade foi menos utilizada pelos insetos em relação as outras variedades em estudo. A composição química dos grãos não influenciou na resistência, exceto pelo conteúdo de lipídeo. Colorado, 8 Carreira, Rajado e Asteca apresentaram médias elevadas para inibição da enzima, e Palha roxa e Maisena as variedades suscetíveis apresentaram baixa inibição de amilase. Sugere-se que os inibidores contribuem para a resistência das variedades ao ataque de *S. zeamais*. As variedades em que houve menor emergência de insetos, apresentaram maior resistência ao ataque do inseto. Colorado, 8 Carreira e Oaxacan foram as variedades mais resistentes e Palha roxa e Maisena as mais suscetíveis ao ataque de *S. zeamais*.

Palavras-chave: Alimentos. Armazenamento. Pragas.

ABSTRACT

CARNEIRO, Zenilda de Fatima. Resistance of landrace maize varieties to corn weevil *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). 73 f. Dissertation (Masters in Agronomy) - Graduate Program in Agronomy (Concentration Area: Crop protection), Federal University of Technology Paraná. Pato Branco, 2018.

Corn is a cereal produced worldwide and with wide versatility of use. Maize culture suffers from insect-pest attack, and *Sitophilus zeamais* Motschulsky stands out as one of the main pests of stored maize grains. The cereal may express resistance of the non-preference type, antibiosis or insect tolerance. This research was developed with the objective of identifying varieties of Creole maize in relation to the response to *Sitophilus zeamais* by analyzing the chemical composition of the grains and biological changes of the insects. Adults of *S. zeamais* were exposed to grain samples of eight maize varieties: Asteca, Colorado, Palha Roxa, Oaxacan, Maisena, Caiano, Rajado and 8 Carreira for 10 days for copulation and oviposition, followed by adults of *S. zeamais* were removed, after 30 days, every two days the following evaluations were carried out: biological cycle and index of susceptibility by means of a mathematical formula, in addition to insect emergence, insect weight and grain weight loss. An analysis of the chemical composition was carried out to identify the concentration of proteins, carbohydrates, lipids, ashes and fibers present in the tested varieties. An analysis of *S. zeamais* amylase enzyme activity was performed to verify the presence of enzyme inhibitors in the maize varieties under study. The Colorado and 8 Carreira varieties were resistant to *S. zeamais* attack, while Palha Roxa and Maisena were the most susceptible. The results showed that Colorado presented resistance of the antibiosis type, because it provided reduced emergence of adults indicating larval death, and Oaxacan showed non-preference resistance, showing that this variety was less used by insects in relation to the other varieties under study. The chemical composition of the grains did not influence the resistance, except for the lipid content. Colorado, 8 Carreira, Rajado and Asteca showed high averages for inhibition of the enzyme, and Palha Roxa and Maisena the susceptible varieties showed low inhibition of amylase. It is suggested that the inhibitors contribute to the resistance of the varieties to *S. zeamais* attack. The varieties with the least emergence of insects presented higher resistance to insect attack. Colorado, 8 Carreira and Oaxacan were the most resistant varieties and Palha Roxa and Maisena the most susceptible to the attack of *S. zeamais*.

Keywords: Food. Storage. Pests.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – *Sitophilus zeamais*. A, Larva e B, Larva tamanho real; C, Adulto e D, Adulto tamanho real. Fotos Zenilda F. Carneiro..... 34
- Figura 2 – Criação de *Sitophilus zeamais*. Laboratório de Entomologia, Zoologia e Apicultura - UTFPR, Campus Pato Branco. Foto: Zenilda F. Carneiro.....37
- Figura 3 – Variedades de milho crioulo expostas ao ataque de adultos de *S. zeamais* em condições de laboratório. Laboratório de Entomologia, Zoologia e Apicultura - UTFPR, Campus Pato Branco. Foto: Zenilda F. Carneiro..... 38

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Resumo da análise de variância para quatro das cinco variáveis utilizadas para testar a resistência de oito genótipos de milho à *Sitophilus zeamais*. UTFPR, Pato Branco - PR, 2018..... 41
- Tabela 2 – Médias do índice de suscetibilidade, número de *S. zeamais* emergidos, peso dos adultos (mg) e perda de peso de matéria seca dos grãos (g), obtidos para oito variedades de milho crioulo em condições de laboratório. 27 ± 1 °C, UR: $75 \pm 5\%$, fotofase: 12 h.....42
- Tabela 3 – Médias de inibição da enzima Amilase de *Sitophilus zeamais*, alimentados com oito variedades de milho. UTFPR, Pato Branco- PR, 2019.....44
- Tabela 4 – Análise simples de característica físico-químicas dados em (%) de oito variedades de milho crioulo. UTFPR, Pato Branco-PR, 2019.....45

LISTA DE UNIDADES, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

CB	Ciclo biológico
EI	Emergência de insetos
IS	Índice de suscetibilidade
MIP	Manejo integrado de pragas
PP	Perda de peso do grão
PI	Peso do inseto
α	Alfa
Σ	Somatório
μ	Micro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 HIPÓTESES.....	15
3 OBJETIVOS.....	15
3.1 Objetivo Geral.....	15
3.2 Objetivos Específicos.....	15
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
4.1 A CULTURA DO MILHO.....	17
4.2 MILHO CRIOULO.....	19
4.3 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E FISIOLÓGICAS DO MILHO.....	21
4.4 DESENVOLVIMENTO DA CULTURA DO MILHO.....	24
4.5 ARMAZENAMENTO DOS GRÃOS DE MILHO.....	27
5 RESISTÊNCIA DE PLANTAS A INSETOS.....	31
6. <i>Sitophilus zeamais</i>.....	34
7 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
7.1 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE INIBIDORES DE AMILASE.....	39
8. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	41
9 CONCLUSÕES.....	47
10 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	48
REFERÊNCIAS.....	49

1 INTRODUÇÃO

O milho *Zea mays* L. é uma planta que pertence à família Poaceae (BARROS; CALADO, 2014). É um cereal amplamente cultivado a nível mundial, com produtividade prevista de 1,1 bilhão de toneladas para safra de 2018/19 (FIESP, 2019), ficando atrás somente da cultura do trigo e do arroz. O milho é utilizado para ração animal, consumo humano (farinha, grãos). O cereal abrange cultivares tradicionais (crioulas), que são as variedades de polinização aberta e cultivares melhoradas que inclui as variedades híbridas (SULEIMAN *et al.*, 2015; LANGNER *et al.*, 2016).

Os grãos de milho podem ser armazenados por um longo período de tempo após a colheita, principalmente nas pequenas propriedades, o que torna essa fase extremamente importante com relação aos problemas fitossanitários durante o armazenamento, especialmente com relação ao manejo das pragas que danificam os grãos (ANTONELLO *et al.*, 2009). Os insetos-praga de grãos armazenados tem ocupado posição de destaque na redução da qualidade dos grãos, ocasionado relevantes perdas econômicas durante o armazenamento (PROCÓPIO *et al.*, 2015), em alguns casos essas perdas podem atingir a ordem de 30 a 50% da produção (ANTUNES *et al.*, 2011; GARCIA LARA; BERGVINSON, 2013; SULEIMAN *et al.*, 2015; NORAMBUENA *et al.*, 2016). Estes insetos atacam o embrião e o endosperma, reduzindo o valor nutricional, taxa de germinação, vigor, peso e valor comercial de sementes e grãos, tornando ainda, a massa de grãos suscetível à ação de microrganismos, como fungos (TREMATERRA *et al.*, 2013; JAIROCE *et al.*, 2016).

Dentre as pragas de grãos de milho durante o armazenamento se destacam as espécies *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 e *Sitophilus oryzae* Linné, 1763 (Coleoptera: Curculionidae). São considerados pragas importantes para a cultura e *S. zeamais* destaca-se como a principal praga que danifica os grãos, com capacidade de atacar e sobreviver em grandes profundidades na massa do grão durante o armazenamento (PAIXÃO *et al.*, 2009). Essa importância se acentua ainda mais pela capacidade da espécie e sobreviver em diferentes grãos; infestação cruzada, capaz de ocorrer ainda no campo, principalmente quando observa-se

atrasos na colheita e alto potencial biótico, ou seja, uma ampla capacidade de reprodução em curto período de tempo (GALLO *et al.*, 2002; RIBEIRO *et al.*, 2012; COPATTI; MARCON; MACHADO, 2013).

O manejo desses insetos nos silos de armazenamento vêm sendo realizado com aplicação de produtos químicos. No entanto, a utilização de moléculas com o mesmo princípio ativo de forma contínua tem favorecido a seleção de diversas populações com diferentes níveis de resistência aos mecanismos de ação dos inseticidas empregados no controle de *S. zeamais* assim como, outras pragas primárias e secundárias comuns durante o armazenamento de grãos. A constatação da resistência de populações de *S. zeamais* a alguns produtos químicos no Brasil vem sendo alertada desde a década de 90 (Guedes *et al.*, 1994), e mais tarde corroborada pelos estudos de Ribeiro *et al.* (2003) e Fragozo *et al.* (2005).

Não há dúvidas que *S. zeamais* é uma praga chave durante o armazenamento dos grãos de milho, e é sobre esta espécie que devemos dedicar maior atenção para as medidas de manejo e controle. Neste sentido, este estudo busca alternativas de fontes de resistência em variedades convencionais de milho que podem auxiliar na supressão desses insetos, através do uso dessas sementes como alternativa às variedades comerciais e, dependendo do nível tecnológico do produtor ou empresas como componentes importantes de fonte de genes e alelos de resistência para o desenvolvimento de novas cultivares convencionais e/ou comerciais. Neste estudo avaliamos oito variedades de milho convencionais quanto à resistência à *S. zeamais*, principal praga de grãos armazenados de milho no Brasil.

Neste sentido e, considerando o custo de lançamento de novas moléculas inseticidas, alternativas de fontes de resistência em variedades podem auxiliar na supressão desses insetos diretamente, através do uso dessas sementes como alternativa às comerciais, dependendo do nível tecnológico do produtor ou indiretamente como componentes importantes como fonte de genes e alelos de resistência para cultivares comerciais.

Devido aos resultados promissores em estudos e muitas hipóteses em relação à resistência de milho ao ataque do gorgulho, a pesquisa propôs o estudo de oito variedades de milho quanto à resistência à principal praga de grãos armazenados no Brasil.

2 HIPÓTESES

- As diferenças nos grãos de milho se devem à antibiose e não-preferência apresentadas, principalmente nos cultivares convencionais (crioulos) dado à não simplificação da diversidade genética destes materiais;
- A resistência das variedades de milho é em virtude do material genético;
- A resistência ao *S. zeamais* pode estar relacionada com a composição química de grãos de cada variedade.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Identificar variedades de milho crioulo quanto a resposta a *Sitophilus zeamais* por meio de análises da composição química dos grãos e alterações biológicas dos insetos

3.2 Objetivos Específicos

- Quantificar os danos de *Sitophilus zeamais* em grãos armazenados de milho;
- Determinar o grau de resistência entre as variedades;
- Fazer análise da composição química das variedades de milho;
- Avaliar o tipo de resistência apresentada pelas variedades de milho, se é do tipo não-preferência, antibiose ou tolerante;
- Fazer análise enzimática para a enzima amilase de *S. zeamais*, a fim de identificar quais variedades apresentam inibidores capazes de inibir a atividade dessa enzima.

- Apontar quais variedades poderiam ser utilizadas em um possível cruzamento, para obter uma variedade resistente ao ataque de *S. zeamais*.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 A CULTURA DO MILHO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos principais cereais cultivados no mundo ficando atrás somente do trigo e do arroz. Fornece produtos para alimentação humana e animal, além de ser matéria-prima para a indústria (NUNES *et al.*, 2013). Isso faz com que o milho tenha grande importância no meio agrícola. Além disso, há fortes indícios de que sua produção se expanda para atender a demanda de alimento e combustível nas próximas décadas (NEGRI *et al.*, 2012).

A grande variabilidade genética permite sua produção desde o Equador até as terras temperadas, do nível do mar até altitudes superiores a 3600 metros, dessa forma, podendo ser encontrado em climas tropicais, subtropicais e temperado (BARROS; CALADO, 2014). No entanto, apesar de o milho ser cultivado mundialmente a América do Norte é responsável por quase metade de sua produção, seguido da China, União Europeia, Brasil e Argentina (SULEIMAN *et al.*, 2015).

A cultura do milho é produzida em duas safras. A safra de verão considerada a principal em relação a produtividade, com plantio variando entre as regiões de acordo com o zoneamento agrícola de cada uma, principalmente devido ao clima. O zoneamento agroclimático é extremamente importante às atividades que dependem direta, ou indiretamente do meio ambiente, possibilitando o conhecimento de áreas com potencial climático para o estabelecimento de culturas agrícolas, e para reduzir possíveis riscos por adversidades climáticas. A safrinha ou segunda safra é realizada entre os meses de janeiro e abril, após a cultura de verão, geralmente após a soja precoce. Esse termo “safrinha” foi dado, em virtude da baixa produtividade comparada a safra de verão nos primeiros cultivos do cereal, embora a expressão não comporte mais a realidade, observando o excelente nível de produtividade com o passar dos anos em algumas lavouras e sua dimensão no cenário nacional (MALUF; MATZENAUER; CAIAFFO, 2000; CRUZ *et al.*, 2010;

CRUZ *et al.*, 2011).

O milho é o principal cereal produzido no Brasil, classificado como terceiro país em produção de milho e segundo em exportação. A estimativa que na safra de 2017/2018 seja colhido 25,6 milhões de toneladas na primeira safra e 63 milhões na segunda safra, totalizando 88,6 milhões de toneladas (CONAB, 2018). A importância desse cereal no país é notória, pois o cultivo ocorre desde pequenas propriedades de caráter familiar, cuja finalidade é o próprio consumo, até extensas áreas, especialmente no Brasil central, faixa entre o Mato Grosso, Goiás e oeste da Bahia que suprem as necessidades do mercado interno do país e as exportações (PAVÃO; FERREIRA FILHO, 2011).

Apesar de ser utilizada para o consumo humano, a maior parte da produção de milho é destinada à silagem para alimentação animal, devido sua alta densidade energética em virtude da presença de amido e baixa concentração de carboidratos fibrosos, que a destacam das demais fontes de alimentos dos animais (NEUMANN *et al.*, 2017; NEUMANN *et al.*, 2018).

O milho apresenta variedades de polinização aberta e crioulas, aquelas adaptadas as condições locais do ambiente, e que permitem ao produtor guardar a semente colhida para ser usada na próxima safra. No entanto, as cultivares melhoradas são criadas através de um programa de melhoramento e, então comercializadas perante nomes registrados sob proteção de propriedade por meio de um sistema de patentes (BERG, 2009; LANGNER *et al.*, 2016).

Devido ao desenvolvimento de variedades com alta capacidade de produção e com tecnologias inovadoras, como por exemplo, os transgênicos, as variedades crioulas caíram praticamente em desuso, sendo mantidas em pequenas propriedades de caráter familiar. Mesmo com técnicas mais acessíveis, incluindo processos mais naturais, como adubação orgânica, aplicação de caldas oriundas de produtos naturais para o manejo fitossanitário, agricultores acreditam que terão um retorno econômico com o uso dessas técnicas, somente se usarem as variedades mais modernas do mercado (ARAÚJO *et al.*, 2013). No entanto, alguns autores como Meneguetti, Girardi e Reginatto (2002) defende a ideia que as variedades crioulas podem ter desempenho de produtividade tanto quanto as variedades comerciais e híbridas.

4.2 MILHO CRIOULO

As variedades crioulas chegaram ao conhecimento dos agricultores através de observações e seleção, expandindo-se através de sucessivas gerações desses agricultores familiares, por meio do cruzamento de materiais adaptando-os a tipos de solo, clima e locais. O milho crioulo possui combinações alélicas extremamente importantes, garantindo elevada variabilidade genética, dando possibilidade de adaptação dessas variedades em lugares rústicos de cultivos, como por exemplo, ambientes com deficit hídrico, escassez de nutrientes no solo, excesso de acidez ou alcalinidade (FERREIRA; MOREIRA; HIDALGO, 2009).

Todavia, desde a década de 1950 as combinações alélicas vêm sofrendo o processo de erosão genética, devido a substituição dessas variedades por cultivares modernos. Essas alterações também ameaçam o conhecimento dos agricultores por essas variedades tradicionais peculiares (ARAÚJO *et al.*, 2013).

Muitas mudanças ocorreram na vida dos agricultores e na agricultura. O surgimento do melhoramento genético talvez tenha sido a principal causa desta mudança e a que mais afetou a agricultura. As variedades crioulas foram gradativamente sendo substituídas pelos agricultores por cultivares melhoradas, visando obter maiores produtividades e maiores lucros. Ainda assim, alguns produtores preservam as variedades tradicionais, mantendo esses materiais de enorme variabilidade genética, sendo a melhor forma de conservar a agrobiodiversidade, além de possibilitar o melhoramento genético da espécie (CATÃO *et al.*, 2010; ARAÚJO *et al.*, 2013).

O melhoramento genético de plantas visa o desenvolvimento de cultivares que apresentem conjuntos de caracteres adequados, ou seja, que expressem elevado potencial de adaptação para condições endofoclimáticas específicas, fornecendo a planta condições favoráveis de desenvolvimento nos diversos sistemas produtivos. Dessa forma, conhecer as correlações genéticas entre caracteres é essencial, possibilitando saber qual influência uma seleção em um caractere, terá sobre um conjunto de caractere independente (SOUZA *et al.*, 2008).

As variedades crioulas exigem baixo custo na produção, diferente das cultivares modernas que carecem de investimentos maiores, levando a agricultura a

problemas econômicos. Isto por que, surgiu a dependência de tratamentos tecnológicos, os chamados “pacotes agro-tecnológico” fornecidos pelas multinacionais com custos elevados. As sementes geneticamente modificadas são dependentes de insumos como herbicidas, levando o agricultor adquirir além da semente, esses insumos, elevando o custo de produção. A cultura do milho é um ramo da agricultura, em que mais se observa insatisfações por parte dos agricultores, devido sua baixa lucratividade (SANDRI; TOFANLLI, 2008; COIMBRA *et al.*, 2010).

No Brasil, a maior parte da agricultura é realizada utilizando o método tido como convencional, envolvendo sementes híbridas comerciais e adubos sintéticos como fonte de nutrientes às plantas, fazendo do país um grande consumidor de adubos minerais do mundo. O alto custo das sementes e a enorme demanda energética na obtenção desses fertilizantes sintéticos, elevam o custo da produção, tornando-a inviável aos pequenos produtores. O resgate das variedades crioulas seria uma alternativa para reduzir o custo de produção, além de tornar os pequenos agricultores mais sustentáveis, pela adoção de um sistema de cultivo menos oneroso (ARAÚJO JUNIOR *et al.*, 2015).

O milho crioulo além da sua importância em virtude da variabilidade genética, o uso dessas cultivares apresenta outras vantagens relacionadas à sustentabilidade no processo de produção agrícola, bem como, resistência a fatores bióticos e abióticos. As sementes podem ser armazenadas e utilizadas nas safras seguintes reduzindo o custo de produção (CARPENTIERI-PÍPOLO *et al.*, 2010).

As variedades de milho crioulas são muito cultivadas por povos indígenas e também agricultores familiares, e a cada safra são selecionadas características relacionadas a produção, as quais oferecem bom desempenho levando em consideração as condições ambientais que foram submetidas (SILVEIRA *et al.*, 2015). Isso vem sendo abordado desde a década de 1990 em estudos realizados por alguns autores como Ceccarelli (1996) que relata ser possível obter ótimas produtividades, utilizando poucos insumos e condições climáticas marginais, desde que use materiais adaptados para tal ambiente. Em Carpentieri-Pípulo *et al.* (2010) as variedades comerciais cultivadas em áreas com baixas tecnologias de cultivo podem apresentar desempenho semelhante ou até mesmo inferior as variedades crioulas.

Estudos de Abreu *et al.* (2007) apontam que o uso de variedades crioulas seria uma alternativa para a sustentabilidade dos pequenos agricultores, pois além de conferir baixo custo de produção, o melhoramento destas variedades pode ser feito nas propriedades pelos próprios agricultores que demandem de conhecimentos referente aos materiais crioulos em questão.

Além das variedades crioulas as variedades de polinização aberta também são cultivadas em pequenas propriedades, pois proporcionam inúmeros benefícios, como adaptação às condições climáticas e demais práticas culturais. Além de apresentarem resistências a pragas e doenças, também requer baixo número de insumos químicos durante o cultivo. Apesar das vantagens, ainda se tem poucas informações sobre as variedades de polinização aberta, tais variedades são praticamente inexistentes no mercado (FONSECA; PARIZOTTO; MERGENER, 2015; EICHOLZ *et al.*, 2016)

As variedades crioulas estão em constante processo evolutivo e de adaptação às condições ambientais e sistemas de cultivo, e sua diversidade genética possibilita transformações e melhoramento de suas características. Todavia, propaga-se o resgate e multiplicação dessas variedades, além do uso de sementes crioulas (CUNHA, 2013).

4.3 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E FISIOLÓGICAS DO MILHO

O milho é um cereal altamente energético com elevado potencial produtivo. Uma semente de milho de 0,1 g dará origem a uma planta com cerca de 2 m de altura em poucas semanas, a qual produzirá em torno de 1.000 sementes (PEREIRA FILHO; MAGALHÃES; SOUZA, 2015).

A semente de milho é formada por quatro principais estruturas físicas: pericarpo, endosperma, embrião ou germe e pedicelo ou ponta, cada uma com características químicas específicas. Essas propriedades podem sofrer variações, dependendo do tipo de solo, adubação, condições climáticas, estágio de maturação, além do material genético de cada planta. As camadas do pericarpo servem de proteção ao germe e endosperma, essas contêm altas concentrações de lignina que são impedimentos adicionais ao ataque de insetos-praga e absorção de água. A

maior parte do grão corresponde ao endosperma, estrutura formada por amido e outros carboidratos que determina a forma e a textura do grão. A parte mais externa do endosperma chama-se aleurona, rica em proteínas e enzimas, e seu papel no processo de germinação é determinante. O embrião está ao lado do endosperma, e contém primórdios de todas as partes da planta desenvolvida, sendo a própria planta em miniatura e o pedicelo constitui a menor parte do grão (SANTOS, 2015; SULEIMAN *et al.*, 2015).

O potencial fisiológico das sementes de milho é avaliado utilizando o resultado dos testes de germinação (PINTO *et al.*, 2015), a fim de garantir sementes de qualidade para o plantio. A germinação das sementes define-se com o número de processos metabólicos e morfogenética, responsáveis por transformar o embrião em uma plântula que pode ser convertida em uma planta madura. Já o vigor é definido pela soma das propriedades das sementes, que por sua vez, determinam o nível de atividade e a resposta durante a germinação e emergência da plântula (ROSENTAL; NONOGAKI; FAIT, 2014; NAVARRO, 2015 in: LA CRUZ *et al.*, 2018).

O processo de germinação da semente exige solos que apresentam condições de temperatura adequada. Temperaturas entre 10 °C e 15 °C são consideradas ótimas, nessas condições a semente pode demorar de 5 a 6 dias para germinar. No período vegetativo e floração a temperatura favorável pode variar de 24 °C a 30 °C, e temperatura superior a 40 °C é prejudicial à cultura (BARROS; CALADO, 2014).

As sementes dão origem as raízes seminais, quais são responsáveis pela sustentação da plântula durante o período inicial. Tal sistema radicular é temporário e assim que começa a surgir as primeiras raízes adventícias, inicia-se sua degeneração. As raízes adventícias surgem dos nós do colmo, abaixo da superfície do solo e constitui o principal mecanismo de extração de água e nutrientes, além de fixar a planta ao solo durante o processo de desenvolvimento. As raízes do milho crescem superficialmente, pois a maior parte delas encontra-se nos primeiros 30 cm de solo. Isso faz com que a planta de milho contenha uma tolerância à seca reduzida. O comprimento do sistema radicular é variável, podendo atingir até 3 m, porém alguns fatores como o pH, umidade do solo e compactação podem influenciar no crescimento das raízes. Além do mais, o baixo pH do solo

somado a deficiência de N, P, K, Ca e Mg pode causar alterações da permeabilidade das células do sistema radicular (MAGALHÃES *et al.*, 2002; EMYGDIO; ROSA; TEIXEIRA, 2013; BARROS; CALADO, 2014).

A planta de milho pode chegar até 2 m de altura, no entanto, ao atingir 15 cm o caule já está formado. A altura da planta pode variar em função da variedade, condições climáticas, disponibilidade hídrica, fertilidade do solo e disponibilidade de nutrientes. O caule é do tipo ereto, esponjoso e rico em açúcar, além de conter ramificações com a presença de nós e entrenós chamados de meritalos (MAGALHÃES *et al.*, 2002; BARROS; CALADO, 2014).

As folhas são estruturas estreitas, apresentando comprimento muito superior à sua largura, constituídas de uma bainha invaginante, pilosa de cor verde clara e limbo verde-escuro. Além de ser o principal órgão responsável pela fotossíntese, as folhas não perderam sua habilidade para absorção de água e nutrientes. Ao atingir o estágio de duas folhas completamente desenvolvidas, a planta começa realizar o processo de fotossíntese, o qual fornecerá alimento a mesma. A perda da área foliar, causada por deficiência hídrica, injúrias por insetos e doenças, além de diversos outros fatores, pode interferir na produtividade biológica do milho, pois altera suas características fisiológicas. Uma desfolha próximo ao florescimento, especialmente das folhas superiores da planta, significa queda na produção, pois afetará o espigamento, deixando claro a importância das folhas do ápice da planta no rendimento final (PEREIRA *et al.*, 2012; RESENDE *et al.*, 2015).

O milho apresenta órgãos reprodutivos femininos e masculinos em uma mesma planta, porém em inflorescências diferentes, devido ser uma planta monóica. Os órgãos masculinos aparecem antes dos femininos e encontra-se na panícula, situada na porção mais elevada do colmo e os femininos em espigas axilares. As flores masculinas são constituídas de três estames e estão situadas na panícula, qual é responsável pela produção de cerca de 50 milhões de grãos de pólen. E a inflorescência feminina, é constituída por um eixo, local em que se encontra os alvéolos, onde se desenvolvem as espiguetas aos pares. As espiguetas são formadas por duas flores, sendo uma fértil e outra estéril. Em cada flor um ovário, contendo um único óvulo e a partir desse ovário irá se desenvolver o estilo estigma, estrutura extremamente importante na concretização da fecundação. Para que esse

processo ocorra é importante a planta estar bem nutrida, e sem estresse hídrico, para evitar sua dessecação o que prejudicaria a fecundação da planta. Depois da polinização, que nada mais é do que a transferência do grão de pólen da antera da flor masculina para o estigma da flor feminina, ocorre a fecundação propriamente dita, levando ao surgimento do grão e/ou semente (BARROS; CALADO, 2014).

4.4 DESENVOLVIMENTO DA CULTURA DO MILHO

O ciclo da cultura compreende dois períodos, um vegetativo e outro reprodutivo, referindo-se aos estados; germinação, emergência, emissão de folhas, aparecimento da panícula, floração masculina, floração feminina, formação do grão, granação e maturação (PAES *et al.*, 2011).

Segundo a escala de Hanway e Benson (1993) a letra V compreende aos estádios vegetativos: VE emergência; V1 primeira folha; V2 segunda folha; V3 terceira folha; V(n) enésima folha; VT pendoamento, e a letra R indicam os estádios reprodutivos: R1 espigamento (polinização); R2 grão em bolha; R3 grão leitoso; R4 grão pastoso; R5 grão dentado e R6 maturação fisiológica. Sendo que o ciclo da cultura se completa entre 70-155 dias. Um ciclo de até 85 dias é considerado ultra-precoce, todavia, se o ciclo alcançar 150 dias é classificado como ultra-tardio. Durante seu ciclo a planta de milho está sujeita a intervenções tanto bióticas como abióticas, que poderão afetar seu potencial produtivo (WEISMANN, 2008; PAES *et al.*, 2011; BERGAMASCHI; MATZENAUER, 2014).

O período de crescimento e desenvolvimento da cultura do milho pode ser limitado pela disponibilidade hídrica, temperatura e fotoperíodo. A temperatura constitui um dos fatores climático mais importante e decisivo na produção e desenvolvimento da cultura, no entanto, a água e outros componentes climáticos também exercem sua influência no processo. Uma temperatura situada por volta de 25 °C e 30 °C seria a temperatura ideal, propiciando as melhores condições para o desempenho do referido processo. O plantio da espécie não é indicado para aquelas regiões que apresentem temperaturas médias diárias inferiores a 19 °C e com temperaturas médias abaixo de 12 °C durante a noite (ESALQ, 2015; LANGNER *et*

al., 2016). A temperatura do solo exerce grande influência no crescimento da planta, no surgimento de novas folhas, número de folhas e tempo para emissão do pendão (BERGAMASCHI; MATZENAUER, 2014). No entanto, temperaturas do solo inferiores a 10 °C e superiores 42 °C são extremamente prejudiciais à germinação das sementes.

Embora o milho seja cultivado em diferentes tipos de solo, a cultura obtém maior sucesso em solos bem estruturados, com circulação de água e ar adequada e com boa disponibilidade de nutrientes. Esse cereal apresenta preferência por solos de textura mediana, de franco a franco-limoso no horizonte superficial (A) e pH entre 5 a 8 é tolerado pela planta, tão pouco, solo de pH muito próximo de 5 podem apresentar teores tóxicos de alumínio e ferro para a planta (BATISTA *et al.*, 2013; BARROS; CALADO, 2014).

Mesmo sendo uma cultura exigente em água, o milho pode ser cultivado em regiões com baixa precipitação. Em um clima quente e seco, o consumo de água pela planta em seu estágio inicial de crescimento é de cerca de 2 a 2,5 mm/dia. No entanto, durante o período de espigamento e maturação esse consumo pode chegar a 7,5 mm diários. E ainda quando a temperatura estiver muito alta e a umidade do ar muito baixa, a planta pode consumir até 10 mm/dia (CRUZ *et al.*, 2010).

A absorção de água pela planta ocorre em virtude da necessidade dos nutrientes que são transportados com a água e para controlar a sua temperatura através da transpiração. Quando se tem baixa disponibilidade hídrica, a planta tem a capacidade de reduzir a perda de água, através de mecanismos fisiológicos desenvolvidos pela mesma. Como por exemplo, o fechamento dos estômatos e alteração do ângulo foliar, que reduzirá a incidência dos raios solares. No entanto, a produção de biomassa será afetada, pois com o fechamento dos estômatos a planta deixará de transpirar, não havendo também a entrada de dióxido de carbono nas células e conseqüentemente não ocorrendo a fotossíntese (BARROS; CALADO, 2014).

Todas as fases da cultura do milho podem ser afetadas pela ocorrência de déficit hídrico. Desde a fase de crescimento vegetativo até a fase de enchimento dos grãos, onde o metabolismo da planta será afetado e os estômatos serão

fechados, reduzindo a taxa fotossintética, a produção de fotoassimilados e a translocação para os grãos. Todavia, as maiores exigências de água pela planta se concentram na fase de emergência, florescimento e formação do grão (ESALQ, 2015; CRUZ *et al.*, 2010).

Do ponto de vista qualitativo e quantitativo, embora a temperatura, fotoperíodo e a água sejam os principais fatores climáticos que atuam sobre o desenvolvimento vegetal (SILVA *et al.*, 2016), a planta precisa de luz para melhor expressar seu máximo potencial produtivo. A radiação solar estimula o processo fotossintético, o qual é essencial para planta realizar suas funções. O milho pertence ao grupo C4, e cerca de 90% da matéria seca do milho, vem da fixação de CO₂ pelo processo fotossintético. Devido sua eficiência na utilização da luz, uma redução de 30% a 40% da intensidade luminosa, por períodos longos, além de atrasar a maturação dos grãos, pode acarretar queda na produção (CRUZ *et al.*, 2010; FERREIRA JUNIOR *et al.*, 2014)

Sendo uma planta C4, o milho responde com bons rendimentos a crescentes intensidades luminosas, obtendo alta produtividade biológica. Consideravelmente, é uma cultura de dias curtos, porém o número de horas de luz não seja igual para todos os genótipos. Dependendo dos genótipos e das condições regionais, bem como, latitude e época, a fenologia do milho pode ser influenciada pelo fotoperíodo. Um encurtamento do fotoperíodo pode acarretar naqueles genótipos, que respondem a dias curtos, uma redução das necessidades térmicas, que por sua vez, é responsável por induzir o pendoamento. Embora, dias muito longos com fotoperíodo prolongado também causam alteração no ciclo da planta, ocasionando atraso no florescimento. No entanto, alguns autores apontam que o milho apresenta resposta ao fotoperíodo quando cultivados em latitudes superiores a 33 graus (ESALQ, 2015; BERGAMASCHI; MATZENAUER, 2014).

Além dos componentes climáticos, a cultura do milho enfrenta problemas oriundos de fatores bióticos. A agricultura no geral afeta substancialmente as comunidades de artrópodes e seus inimigos naturais. A ausência de seu habitat, leva os insetos buscarem alimento nas plantas cultivadas, fazendo dessas, seu hospedeiro. O uso intensivo e repetidamente de inseticidas para seu controle, além de afetar os inimigos naturais desses insetos-praga, acaba selecionando populações

resistentes, as quais causam enormes prejuízos, não somente à cultura do milho mais também em outras culturas (SCHMIDT JEFFRIS; NAULT, 2018; LUDWICK *et al.*, 2018).

A época de semeadura também deve ser levada em consideração para se ter boa produtividade. Segundo Emygdio, Rosa, Teixeira (2013), o mês de outubro seria a melhor época para semeadura do milho, pois coincide com a boa disponibilidade de radiação solar, e com os dias mais longos do ano, onde não ocorre limitação hídrica.

4.5 ARMAZENAMENTO DOS GRÃOS DE MILHO

As safras de milho colhidas no Brasil resultaram em um montante de 81,3 milhões de toneladas no ano de 2018 segundo dados da CONAB, grande parte desse milho é armazenado para ser utilizado em outro momento. Ficando sujeito a deterioração por diversos fatores, como a umidade, temperatura, atmosfera de armazenamento, presença de microrganismos, insetos-praga, ácaros e diversos outros componentes, fato que exige um armazenamento adequado. Todavia, em condições inadequadas de armazenamento os grãos perdem qualidade nutricional, sofrem descoloração, desenvolvem odores, ocorrem mudanças químicas, as sementes perdem vigor e potencial de germinação (QUIRINO *et al.*, 2013; DOMENICO *et al.*, 2016).

O sucesso do milho durante o armazenamento depende muito também da semente em si, questões que já foram abordadas em estudos antigos, como em Stein *et al.* (1974) que mostra que o desempenho das sementes durante o armazenamento, além de outros fatores, depende do genótipo, tipo de semente, estágio de maturação, viabilidade e teor de água inicial das sementes e do tratamento realizado antes da estocagem dos grãos.

O estudo de Andrade e Borba (1993) relatou que cultivares da mesma espécie podem apresentar diferenças quanto ao vigor e potencial de armazenamento.

Durante o armazenamento a temperatura e o teor de umidade da semente são responsáveis por manter a qualidade da semente, baixas temperaturas

reduzem a atividade enzimática do processo respiratório, conseqüentemente a velocidade de declínio da viabilidade das sementes ortodoxas durante o período de armazenamento também sofrem redução. É difícil evitar que ocorra a deterioração durante a estocagem, no entanto, esse processo pode ser minimizado sob condições apropriadas. Altas temperaturas e umidade relativa contribuem com os danos nas sementes, promovendo mudanças que causam a desestabilização em atividades enzimáticas e desestruturação nos sistemas de membranas celulares, devido a peroxidação lipídicas causadas pelo aumento de formas reativas de oxigênio (TIMÓTEO; MARCOS FILHO, 2013; STEFANELLO *et al.*, 2015).

Ao estudar o envelhecimento das sementes através de determinação das alterações enzimáticas, foi possível identificar os pontos de partida dos danos que ocorrem, além de obter informações mais confiáveis sobre as causas da deterioração das sementes e suas conseqüências. Investigações mais precisas sobre o início da deterioração das sementes envolve a atividade de enzimas, as responsáveis pela biossíntese dos novos tecidos, pois com a deterioração, as enzimas perdem sua eficiência ao exercer sua atividade catalítica (ARAGÃO *et al.*, 2003; COUTINHO *et al.*, 2007; TIMÓTEO; MARCOS FILHO, 2013).

O armazenamento é extremamente importante na preservação das qualidades físicas, fisiológicas e sanitárias das sementes, além de fornecer sementes para pesquisa científica e agricultura. O processo de envelhecimento da semente durante a estocagem é natural, porém, se as condições de armazenamento não forem adequadas, a qualidade fisiológica dos lotes de sementes serão afetadas. Em geral as sementes permanecem armazenadas no mínimo seis meses até chegar a próxima safra, e os grãos permanecem até o uso (BAUDET, 2012; DEUNER *et al.*, 2014).

Com os avanços devido as modificações advindas de processos de modernização e tecnologia na agricultura nas últimas décadas, houve um aumento na produção de grãos como milho, soja, arroz e cevada. O aumento na produção fez crescer a demanda por lugares adequados para realizar o armazenamento desses produtos, por um período longo de tempo, porém que conserve as propriedades dos grãos colhidos. No entanto, o aumento de locais adequados para estocagem não cresce no mesmo ritmo que a produção gerando alguns problemas durante o

armazenamento (BARONI; BENEDETI; SEIDEL, 2017).

O armazenamento geralmente é feito a granel em graneleiros ou silos, esse último pode ser uma construção metálica, madeira, alvenaria ou concreto. Os graneleiros são compridos e largos, com fundo plano, em semi V ou em V, e internamente são divididos em células, que permitem a estocagem de produtos diferentes. A capacidade estática desse ambiente pode variar de 35.000 a 150.000 toneladas de produtos. Os silos metálicos são para grandes quantidades de armazenagem. No Brasil esse tipo de construção teve expansão em meados dos anos noventa, onde começou ser fabricado no mercado nacional as chapas metálicas. A capacidade estática dos silos é de 18.000 a 35.000 toneladas de grãos. Os silos de alvenaria são ideais para fazendas, e os de madeira são indicados para o armazenamento de café, já os silos de concreto são geralmente encontrados em portos. Os silos de concreto contém vantagens sobre as outras arquiteturas de silos por estabelecer um ambiente de armazenagem estável em relação a variação de temperatura, sendo que as paredes servem como isolante térmico (SILVA, 2010; VIEBRANTZ; RADUNZ; DIONELLO, 2016).

Nas pequenas propriedades muitos agricultores armazenam o milho ainda na espiga com palha em paióis de madeira. Cerca de 30 a 40% do milho colhido permanece nessas propriedades armazenados na espiga (CRUZ *et al.*, 2011). Uma alternativa aos métodos tradicionais de armazenamento é em bolsas seladas hermeticamente, tecnologia que está chamando atenção e sendo alvo de pesquisas em países como o Brasil e Argentina (COSTA *et al.*, 2010)

Durante o armazenamento o milho está sujeito a interferências, contudo, o ataque de insetos-praga é a principal causa de perda dos grãos durante esta fase, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais, onde as altas temperaturas e umidade relativa favorecem o desenvolvimento de pragas, que causam perdas quantitativas e qualitativas nos grãos, bem como, redução de peso/volume, e redução nutricional dos grãos. Temperaturas entre 27 °C e 34 °C é o ideal para o desenvolvimento desses insetos-praga, e temperaturas baixas por volta de 16 °C paralisa ou retarda seu desenvolvimento da maioria das espécies. As principais pragas de armazenamento pertencem a ordem Coleoptera e Lepidoptera, responsáveis por perdas totais em armazéns quando não controladas e em altas

infestações (QUIRINO *et al.*, 2013; PROCÓPIO *et al.*, 2015)

O gênero *Sitophilus* spp. contém três espécies consideradas importantes pragas de grãos armazenados, *S. zeamais*, *S. oryzae* e *S. granarius*. No Brasil *S. zeamais* é a principal praga de cereais armazenados, principalmente do milho. Dados indicam que cerca de 10% dos grãos já vem infestado da lavoura, agravando a infestação durante o armazenamento, resultando em perdas de até 50% da produção (SILVA *et al.*, 2013; SULEIMAN *et al.*, 2015; NORAMBUENA *et al.*, 2016).

O controle desses insetos envolve uma série de medidas, como limpeza e secagem dos grãos, aeração, controle de temperatura e aplicação de produtos químicos que causem efeitos sobre os insetos. Em alguns países como Europa, Austrália e Japão o resfriamento artificial tem sido uma importante técnica no controle dessas pragas. A resistência de plantas também tem sido indicada como alternativa para o controle desses insetos, buscando minimizar as perdas de grãos armazenados (QUIRINO *et al.*, 2013; PROCÓPIO *et al.*, 2015; NWOSU, 2016)

5 RESISTÊNCIA DE PLANTAS A INSETOS

A resistência de plantas a insetos-praga tem sido alvo de muitos estudos, apontado como um dos métodos alternativos de controle, adequando-se ao Manejo Integrado de Pragas (MIP). Plantas resistentes são aquelas que por combinação genética, expressam características morfológicas, fisiológicas ou químicas, que permitem serem menos afetadas pelos insetos que outras plantas, em igualdade de condições. Essas plantas contribuem positivamente com agricultura, reduzem a contaminação ambiental e não oferecem riscos à saúde. Por outro lado, pode haver a redução de espécies benéficas e aumento de pragas não alvo (NWOSU, 2016; NOGUEIRA, 2015; SOUSA, 2016).

Segundo Gallo *et al.* (2002) a resistência de plantas é classificada em três categorias: Não-preferência ou antixenose, antibiose e tolerância.

- Não-preferência ou antixenose: quando uma planta é menos utilizada pelo inseto seja para alimentação, oviposição ou somente para abrigo, que outras plantas em igualdade de condições. Essas plantas podem apresentar características que as leve a suportar o inseto, como a presença de compostos repelentes, tricomas ou superfície cerosa. Antibiiose: quando a planta apresenta e exerce um efeito adverso sobre a biologia do inseto, causando alterações nas fases de desenvolvimento, podendo levar a morte do inseto. Tolerância: ocorre quando mesmo a planta sofrendo infestações pelos insetos semelhantes a outros materiais confrontados essa não apresenta reduções quantitativas ou qualitativas em sua produção. Isso porque a planta possui capacidade de regeneração (LARA, 1979; SOUSA, 2016).

A resistência de plantas a pragas também pode ser adquirida pelo método de indução de resistência. Uma das alternativas utilizadas é adubação com fontes parcialmente solúvel de silício, esse age como uma barreira mecânica em defesa da planta contra ao ataque de insetos, pois se acumula nas paredes das células foliares. No milho já foi feito aplicação desse elemento obtendo bons resultados, sendo observada a mortalidade de pragas (NOGUEIRA, 2015).

As plantas geneticamente modificadas são desenvolvidas para resistir

o ataque de insetos-praga, refletindo positivamente para agricultura e meio ambiente, pois reduz a demanda por inseticidas nas culturas, trazendo benefícios como diminuição de resíduos tóxicos no ambiente que causam poluição, e possivelmente aumento do controle biológico natural (MENDES *et al.*, 2011).

A busca por esses métodos ecologicamente corretos cresceu nas últimas décadas na tentativa de minimizar as perdas durante o armazenamento. O uso de cultivares resistentes seria um dos principais, pois a resistência é um mecanismo de defesa que as plantas utilizam contra o ataque das pragas. Existem proteínas que participam desses mecanismos, como a arcelina, lectina e inibidores de protease e amilase. Dessa forma, os estudos para identificar a presença dessas proteínas tem sido intensificado e auxiliam no processo de seleção de cultivares resistentes (NAPOLEÃO *et al.*, 2013; FRASÃO *et al.*, 2018).

As proteínas são elementos essenciais no desenvolvimento dos insetos e muitos deles usam proteínas proteolíticas como a tripsina para decompor as proteínas. A tripsina encontra-se no trato digestivo dos insetos, o bloqueio da atividade dessa enzima pode afetar o crescimento e desenvolvimento, além de, prejudicar os processos fisiológicos levando o inseto a morte (LAZAREVIC; JANKOVIC TOMANIC, 2015).

As lectinas são proteínas ligantes de carboidratos que desempenham diversos papéis fisiológicos, que podem estar relacionados com o processo de defesa da planta contra o inseto. São proteínas que estão em muitas partes da planta, como casca, raiz, semente, flor, cerne e rizoma. O mecanismo de ação das lectinas não é muito bem conhecido ainda, no entanto acredita-se que envolva resistência à proteólise no intestino médio do inseto, interação com glicoproteínas da matriz peritrófica, e interferência no processo digestivo (NAPOLEÃO *et al.*, 2011; NAPOLEÃO *et al.*, 2013).

Na cultura do milho a resistência dos grãos em respostas aos danos de *S. zeamais* vem sendo relacionado com proteínas, lipídios, compostos fenólicos e inibidores de enzimas digestivas. Esses provocam efeitos adversos ao inseto, o teor de proteína afeta negativamente o número de ovos nos grãos e a progênie produzida. O teor de lipídio age sobre índice de suscetibilidade de forma negativa, e os compostos fenólicos correlacionam negativamente com a progênie produzida e

positivamente com o ciclo biológico (MARSARO JÚNIOR *et al.*, 2005; MARSARO JÚNIOR *et al.*, 2008).

O uso indiscriminado de inseticidas selecionou populações de insetos resistentes, esses causam enormes prejuízos principalmente durante o armazenamento dos grãos. Estudos relatam que a presença de inibidores de amilase tem papel importante na resistência de cultivares de milho frente ao ataque do gorgulho, uma vez que as larvas do inseto obtiveram melhor desempenho nos milhos que expressaram menores níveis de inibidores de amilase (MARSARO JUNIOR *et al.*, 2005).

Sabe-se que as plantas possuem um certo grau de resistência a insetos, devido a compostos químicos, e a biossíntese e regulação desses compostos vem sendo estudadas (FRANCO *et al.*, 1999; NAPOLEÃO *et al.*, 2013; (LAZAREVIC; JANKOVIC-TOMANIC, 2015).

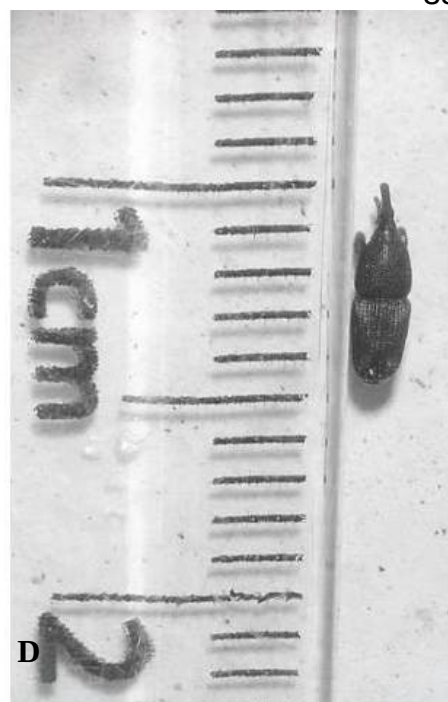
6. *Sitophilus zeamais*

O *gorgulho-do-milho* (Figura 1) trata-se de um pequeno besouro de corpo compacto, pertencente à família Curculionidae. É um inseto cosmopolita conhecido por atacar grãos, principalmente cereais, como trigo, arroz, aveia, cevada e milho. Além dos danos físicos, por ser uma espécie primária permite infestações secundárias, devido as injúrias feitas nos grãos, facilitando a entrada de organismos oportunistas, como fungos e bactérias (PROCÓPIO *et al.*, 2015; NORAMBUENA *et al.*, 2016), sendo considerada uma das principais pragas de grãos armazenados mundialmente. No Brasil é a principal praga de grãos de milho armazenado, apesar de atacar os outros cereais, no milho sua fecundidade média é maior, caracterizando consideráveis perdas econômicas (FRASÃO *et al.*, 2018).

Figura 1 – *Sitophilus zeamais*. A, Larva e B, Larva tamanho real; C, Adulto e D, Adulto tamanho real.

Fotos Zenilda F. Carneiro





As características biológicas como o elevado potencial biótico e a capacidade de sobreviver em grandes profundidades na massa dos grãos favorecem seu desenvolvimento e adaptação. Além disso, apresentam infestação cruzada, atacam a planta ainda em campo e durante o armazenamento (ANTUNES *et al.*, 2011).

As fêmeas perfuram os grãos para depositar seus ovos, cerca 150 ovos por fêmea. Após a eclosão as larvas se desenvolvem até a fase adulta, em um período de 25 a 30 dias. Os adultos possui um prolongamento cefálico em forma de tromba, chamada de rostró, contendo as peças bucais na parte distal. O comprimento é 3 a 4 mm, facilitando o acesso até as partes mais profundas dos grãos (PAIXÃO *et al.*, 2009; COPATTI; MARCON; MACHADO, 2013; SILVA *et al.*, 2013; BORSONARO *et al.*, 2013; PROCÓPIO *et al.*, 2015).

Tanto as larvas nos seus diferentes instares como os adultos de *S. zeamais* causam danos irreversíveis a cultura do milho, podendo destruir os grãos por completo. O fato de o inseto apresentar infestação cruzada agrava o caso, pois os grãos podem vir infestados do campo para o armazém, onde o inseto encontrará condições altamente favoráveis à expressão de seu potencial biótico. Santos *et al.* (1990) demonstram uma linha do tempo dos danos causados por *S. zeamais* desde a forma jovem até o adulto. Na fase de ovo, 0 a 4 dias de idade as perdas ficaram

em torno de 13%, e variou de 23% com larvas de 1º instar, 5 a 10 dias de idade a 60% com larvas de 4º instar com 23 a 28 dias de idade. Com 29 dias de idade na fase adulta os danos chegaram a 70 % (PEDOTTI STRIQUER; BERVIAN; FAVERO, 2006).

O passar dos anos trouxe prejuízos ainda maiores devido ao ataque do gorgulho, não somente na cultura do milho, mais em outros cereais de modo geral. A forma de controle mais simples, rápida e econômica de controle é o uso de inseticidas, como piretroides, organofosforados e fumigantes de fosfina. Porém, níveis de resistência a inseticidas com diferentes modos de ação tem sido apresentada por diferentes populações desse inseto (SILVA *et al.*, 2013; PINTO *et al.*, 2016).

A integração de métodos alternativos de controle, além de reduzir a contaminação em alimentos, auxilia na redução da resistência pelo uso excessivo desses produtos. Pós inertes, como a terra de diatomácea são exemplos de métodos promissores para o manejo integrado dessa praga. A terra de diatomácea controla efetivamente o gorgulho e outras espécies de pragas de grãos armazenados. O produto atua em larvas e adultos, fixando sobre seu corpo, pois ficam na superfície ou dentro da massa dos grãos. Todavia, em grandes escalas essa alternativa perde um pouco sua eficiência (SOUZA *et al.*, 2013).

As variedades resistentes podem ser uma alternativa no controle dessas pragas como é o caso de *S. zeamais*, devido sua facilidade de uso, redução do impacto ambiental, além de apresentar compatibilidade com as outras formas de controle. Para desenvolver variedades resistentes, é necessário o estudo da cultura e das pragas de insetos, para detectar genótipos que servirão como fonte de resistência. Vários fatores podem influenciar na resistência das cultivares de milho, a dureza, cor do grão e genótipo são alguns deles (NASCIMENTO *et al.*, 2014).

Em variedades de milho a presença de inibidores das enzimas α -amilases, pode ser uma importante ferramenta para o controle de pragas de grãos armazenados. Essas enzimas catalisam a hidrólise de ligações glicosídicas α -1,4 de carboidratos como o amido. E tais enzimas são essenciais para o desenvolvimento e sobrevivência de insetos que se alimentam de grãos ricos em amido, como é o caso de *S. zeamais* (MARSARO JÚNIOR *et al.*, 2005).

7 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Entomologia, Zoologia e Apicultura da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Pato Branco (UTFPR). Oito variedades de milho foram utilizadas: Asteca, Caiano, 8 Carreira, Colorado, Maisena, Oaxacan, Palha Roxa e Rajado.

Adultos de *Sitophilus zeamais* foram obtidos em propriedades rurais, junto a paióis onde os milhos se encontravam armazenados ainda na espiga, na região de Pato Branco e Mangueirinha-PR(25°58'21.6"S 52°08'53.2"W). Esses foram mantidos em potes plásticos com grãos de milho em laboratório. O recipiente foi tampado com tecido voil permitindo a ventilação no interior (Figura 2). Os insetos foram mantidos em uma temperatura de 36 °C (± 2 °C) com 45 a 50% de umidade.

Figura 2 – Criação de *Sitophilus zeamais*. Laboratório de Entomologia, Zoologia e Apicultura - UTFPR, Câmpus Pato Branco. Foto: Zenilda F. Carneiro.



Para retirar as impurezas os grãos foram colocados separadamente em sacos plásticos, em seguida armazenados no freezer em uma temperatura de -10 °C, a fim de eliminar qualquer infestação de insetos provenientes do campo, permanecendo por 10 dias. Após esse período, os grãos foram retirados do freezer e mantidos em temperatura ambiente no laboratório.

Potes plásticos de 250 mL foram usados como parcela experimental, em cada pote foram colocados 60 g de grão de cada variedade, sendo infestado

com 15 adultos de *S. zeamais*, não sexados e idade entre 7 e 14 dias, permanecendo por 10 dias, para cópula e oviposição (Figura 3). Passado esse período os adultos foram removidos, e cada uma das amostras foram armazenadas e mantidas em câmeras tipo B.O.D ($27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR = 55%, sem luz) por trinta dias

Figura 3 – Variedades de milho crioulo expostas ao ataque de adultos de *S. zeamais* em condições de laboratório. Laboratório de Entomologia, Zoologia e Apicultura - UTFPR, Campus Pato Branco. Foto: Zenilda F. Carneiro.



Após os trinta dias de incubação foram avaliados a cada dois dias o número de adultos emergidos, esses descartados após a contagem. O procedimento foi repetido até o momento, em que não houve mais emergências e, depois de três avaliações consecutivas sem a ocorrência de gorgulhos adultos. Em cada avaliação, as amostras de milho e os insetos adultos emergidos foram pesados simultaneamente em balança de precisão modelo AY220, marca Marte. Os insetos emergidos de cada repetição, foram pesados todos juntos (DOBIE 1977; in MARSARO JUNIOR *et al.*, 2005). A perda de peso da matéria seca dos grãos, sofrida pelo ataque dos insetos adultos, foram determinados pela diferença entre o peso da matéria seca inicial e o peso da matéria seca final conforme método descrito por TOCASNO *et al.* (1999).

A resistência das cultivares de milho foi avaliada pelo índice de suscetibilidade (IS) (DOBIE 1977), tal índice foi determinado pela equação 1.

$$IS = \left[\frac{\ln \sum X}{CB} \right] \cdot 100 \quad (1)$$

Sendo: IS= Índice de suscetibilidade, ln= logaritmo neperiano, $\sum X$ = somatório do número de gorgulho emergido em cada variedade e CB= Ciclo biológico médio.

O ciclo biológico do gorgulho-do-milho foi determinado pela equação abaixo 2:

$$CB = \frac{\sum XY}{\sum X} \quad (2)$$

Sendo: X= Número de gorgulhos emergidos, y = número de dias desde a infestação até a emergência e xy= resultado da multiplicação de número de adultos emergidos e número de dias após infestação. Os dez cultivares foram estudados em delineamento inteiramente casualizado, com dez repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, havendo diferença significativa pelo teste F, às médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro, utilizando o programa estatístico GENES. A variável Ciclo biológico (CB) devido não atender aos pressupostos de homogeneidade da variância e normalidade, foi submetida a uma análise não paramétrica, sendo realizado o teste de Kruskal Wallis usando o software BioEstat versão 5.3.

7.1 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE INIBIDORES DE AMILASE

Preparo da amostra

Esta etapa foi realizada no Laboratório de Fisiologia de Plantas da UTFPR, Câmpus Pato Branco e seguiu metodologia de Silva *et al.* (2015), utilizando para o ensaio de amilase o kit Bioclin (Quibasa-Química Básica Ltda., Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil (Figura 4). Foram utilizados quinze gorgulhos adultos não sexados de cada tratamento; primeiramente foram lavados em cloreto de potássio (KCl) 1,5%, em seguida, colocados em recipiente com 5 mL de água pH3 HCL, macerados e filtrados em gaze de algodão. Por fim, centrifugados em 10.000 g_{máx} por 15 min. Para atingir o pH desejado foi usado o aparelho regulador e medidor de pH modelo MPA-210. As alíquotas do sobrenadante foram removidas para determinar a concentração de proteínas e o pellet foi descartado.

Reagente 1: substrato (Amido) e Reagente 2: iodo (reagente de

trabalho) foram utilizados nessa segunda etapa.

O reagente 2 foi transferido para o frasco vazio do kit em seguida adicionado 45 mL de água destilada ou deionizada e homogenizada. Foi adicionado no controle e na amostra 100 µL do reagente 1, levado as amostras em banho-maria à 37 °C por 2 min. Passado o tempo as amostras foram retiradas e somente na amostra foi adicionado 2 µL do reagente 2 (reagente de trabalho), homogenizada e incubada novamente à 37 °C por exatamente 7 min e 30s cronometrados. Em seguida adicionado 100 µL no controle e na amostra e 1 mL de água deionizada tanto no controle como na amostra. A cinética parâmetros da amilase foi analisada em um comprimento de onda de 660 nm, zerando o aparelho com água deionizada.

Os dados obtidos foram calculados usando a fórmula 3:

$$\text{Amilase} = \frac{A_c - A_a}{A_c} \times 800 \dots \dots \dots (3)$$

Onde: A_c = Absorbância do controle e A_a = Absorbância da amostra.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade de erro, utilizando o programa estatístico SASM-Agri Versão 8.2 (demo).

8. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O resultado do teste de Kruskal Wallis para a variável Ciclo biológico (CB) obteve (p) Kruskal-Wallis= 0,0859 e H= 12,4778 onde ($p=0,0859 > \alpha$), indicando que não houve significância, ou seja, a variável CB não diferiu estatisticamente entre os genótipos.

De acordo com a Tabela 1 podemos observar que o quadrado médio mostra que a variável que apresentou maior variação tanto entre os genótipos, como dentro de cada genótipo, em relação as outras variáveis foi o Índice de suscetibilidade (IS), com 78,07 e 6,60 respectivamente. A variável Perda de massa dos grãos (PP) apresentou as menores médias de variação, 0,49 entre os tratamentos e 0,04 dentro de cada tratamento. E a variável Emergência de inseto (EI) apresentou variação entre os tratamentos de 45,91 e dentro de cada tratamento de 2,46, e a variável Peso do inseto (PI) ficou com 19,21 e 1,18 de variação entre e dentro de cada tratamento respectivamente. O coeficiente de variação (CV%) foi de 46,81, 36,14, 54,11 e 15,61 para as variáveis EI, PI, IS e PP na devida ordem (Tabela 1).

Tabela 1 – Resumo da análise de variância para quatro das cinco variáveis utilizadas para testar a resistência de oito genótipos de milho à *Sitophilus zeamais*. UTFPR, Pato Branco - PR, 2018.

Causas de Variações	GL	Quadrado médio			
		Emergência de Insetos*	Peso do Inseto* (mg)	Índice de Suscetibilidade	Perda de Peso dos grãos* (g)
Tratamentos	7	45,91	19,21	78,07	0,49
Erro	72	2,46	1,18	6,60	0,04
Total	79	48,37	20,39	84,67	0,53
Média geral		3,35	3,01	4,75	1,28
CV %		46,81	36,14	54,11	15,61

* Dados transformados pela Raiz ($x+ k$) para atingir a normalidade.

As cultivares com maiores índices de suscetibilidade foram Palha roxa e Maisena, ou seja, enquanto que a variedade Colorado e 8 Carreira foram as mais resistentes, comparadas com as outras variedades em estudo (Tabela 2). Isso indica que as variedades Palha roxa e Maisena proporcionaram melhores condições de

oviposição e desenvolvimento para as larvas. O Palha roxa apresentou a maior média para insetos emergidos (64,6), e, conseqüentemente, obteve maior perda de massa de matéria seca do grão. As variedades Colorado, Caiano, Oaxacan, 8 Carreira, Rajado e Asteca apresentaram número de insetos emergidos estatisticamente iguais. No entanto, considerando em grupo as quatro variáveis, Colorado e 8 Carreira, destacando-se entre os grupos.

Tabela 2 – Médias do índice de suscetibilidade, número de *S. zeamais* emergidos, peso dos adultos (mg) e perda de peso de matéria seca dos grãos (g), obtidos para oito variedades de milho crioulo em condições de laboratório. 27 ± 1 °C, UR: 75 ± 5%, fotofase: 12 h.

Variedades de milho	Variáveis			
	Emergência de Inseto (EI)* (n°)	Peso do Inseto (PI)* (mg)	Índice de Suscetibilidade (IS)	Perda de Peso do grão (PP)* (g)
Colorado	1,6 c	5,2 d	0,88 d	1,02 d
Caiano	7,9 c	21,2 c	4,36 c	1,99 b
Oaxacan	4,5 c	15,4 d	2,65 d	1,42 c
8 Carreira	5,7 c	19,2 d	2,86 d	0,97 d
Rajado	14,6 c	51 c	5,71 b	1,73 b
Asteca	6,4 c	19,6 c	4,37 c	2,11 b
Palha Roxa	64,6 a	205,5 a	9,4 a	2,64 a
Maisena	30,6 b	94,2 b	7,73 a	1,91 b

As médias de cada variável seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott a 5%; * Dados transformados por Raiz ($x+k$).

O baixo número de *S. zeamais* adultos emergidos em Colorado e 8 Carreira sugere que houve morte larval. Segundo Guzzo *et al.* (2002) o baixo número de insetos adultos emergidos refere-se a resistência do tipo antibiose, onde o principal fator envolvido é justamente a morte larval. O estudo de Frasão *et al.* (2018) também encontrou resultado semelhante entre as cultivares de milho e *S. zeamais*. Ao expressar antibiose uma planta causa um efeito sobre a biologia do inseto, que pode afetar o potencial reprodutivo do indivíduo, causando a morte do inseto ainda no estágio imaturo, resultando no baixo número de adultos e à redução no tamanho e no peso dos insetos, características apresentadas na variedade Colorado. Apesar de não ter sido investigado os compostos da planta, no caso, das variedades de milho, devido as evidências apresentadas acredita-se que foi esse tipo de resistência apresentada por Colorado.

Esse mecanismo também pode causar o alongamento do ciclo (MIKAMI et al 2012), fato que não ocorreu nessa investigação, pois o ciclo biológico dos insetos nas variedades avaliadas não teve diferença significativa. Em relação a análise enzimática, Colorado e 8 Carreira apresentaram inibidores, os quais inibiram atividade da enzima amilase de *S. zeamais* (Tabela 3).

A variedade Oaxacan apresentou certo grau de resistência, observando as médias obtidas para as variáveis em questão. Para as variáveis PI e IS se mostrou muito resistente, e em EI e PP destaca-se por apresentar médias baixas, indicando nível de resistência intermediário. No entanto, o resultado encontrado para atividade enzimática, sugere baixa concentração de inibidores da enzima amilase. Nesse caso, acredita-se que possa ter ocorrido a resistência por não preferência, tais evidências indicam que a variedade foi menos preferida por *S. zeamais* para alimentação, ou até mesmo para permanência desses insetos nos grãos.

A variedade de milho Caiano apresentou nível de suscetibilidade intermediário. Embora Maisena tenha apresentado a segunda maior média para insetos emergidos (30,6), Asteca seguida de Caiano demonstraram a segunda maior média para perda de peso da matéria seca do grão, de 2.1g e 1,9 g respectivamente (Tabela 2). Esse resultado, foi semelhante aos encontrados por Mikami *et al.* (2012), onde Asteca e Caiano sugeriram níveis elevados de suscetibilidade ao gorgulho, sendo considerados os mais suscetíveis comparados as outras variedades em estudo. No estudo de Hermann *et al.* (2009) com *Sitophilus* sp. também demonstrou resultados semelhantes para duas cultivares, Brancão e Ipanema mostraram níveis elevados de suscetibilidade em relação a outras cultivares em estudo. Porém neste estudo, a variedade Asteca foi a variedade que apresentou maior média para a inibição da enzima, ou seja, foi a variedade que mais inibiu a atividade dessa enzima, sugerindo que essa variedade tenha apresentado resistência ao ataque de *S. zeamais*.

A variação de insetos emergidos foi 1,6 a 64,6 indicando que houve importantes diferenças entre as variedades de milho avaliadas. No estudo realizado por Marsaro-Junior (2005) houve uma variação de $58,3 \pm 5,84$ a $169,3 \pm 4,26$ entre os onze híbridos de milho testados, já Mikami *et al.* (2012) encontrou uma variação

de 23 ± 8 e $84,6 \pm 7$ na imergência de insetos de treze genótipos de milho, ambos os estudos testaram a resistência de milho a espécie *Sitophilus zeamais*.

Para a variável peso dos insetos as médias ficaram entre 5,2 e 205,5 para Colorado e Palha roxa respectivamente. Colorado, Oaxacan e 8 Carreira apresentaram a menor média de peso em virtude do baixo número de emergência de adultos, as mesmas variedades também apresentaram médias baixas para o índice de suscetibilidade. Estes resultados concordam com os encontrados nos estudos de Hermann *et al.* (2009), onde a variedade 8 Carreira obteve baixa infestação (5,2 insetos) e menor peso, caracterizando resistência à *Sitophilus sp.*. No entanto, essa variedade teve o ciclo biológico prolongado diferente da variedade 8 Carreira desse estudo, que o ciclo biológico não foi afetado. Também é possível observar que (Tabela 2) a variedade Rajado apresentou um nível intermediário de suscetibilidade, com médias de 5, 7 e 1,7 para IS e PP respectivamente.

Tabela 3 – Médias de inibição da enzima Amilase de *Sitophilus zeamais*, alimentados com oito variedades de milho. UTFPR, Pato Branco- PR, 2019.

Variedades	Inibição da Amilase (U/dL)
Colorado	66.2 b
Caiano	19.3 c
Oaxacan	32.1 c
8 Carreira	67.8 b
Rajado	63.1 b
Asteca	147.4 a
Palha Roxa	40.0 c
Maisena	0 c

As médias de cada variável seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

A tabela 3 mostra que Asteca apresentou a maior média (147.4 U/dL) para a inibição da enzima amilase de *S. zeamais*, indicando a presença de inibidores da enzima nessa variedade. As variedades Rajado, Colorado e 8 Carreira demonstraram médias elevadas para a inibição da atividade enzimática assim como Asteca. E as variedades Palha roxa, Maisena, Caiano e Oaxacan foram as variedades com as médias mais baixas para inibição, indicando que houve maior atividade da enzima, facilitando o desenvolvimento do gorgulho.

Os resultados encontrados nessa pesquisa são semelhantes aos

encontrados por Marsaro Junior *et al.* (2005) para as variedades AG 1051, CD 303, CD 3121, Dina 766, DOW 8480, 97 HT 129 QPM, BRS 1001, IPT 9/202, IPS G/58, Pioneer 30 F 98 e P 30 F 33, indicando que a medida em que aumenta as unidades inibidoras de amilase, aumenta também a resistência dos híbridos de milho. Resultado semelhante as variedades Colorado e 8 Carreira, consideradas resistentes, apontando a presença de inibidores, os quais interromperam a atividade da enzima amilase em *S. zeamais*, sugerindo que esses inibidores contribuem para a resistência dessas variedades de milho ao ataque de *S. zeamais*.

As α -amilases refere-se a uma família de endoamilases que catalisam a hidrólise de ligações glicosídicas α -1,4 de carboidratos como o amido e glicogênio. São enzimas extremamente importantes para o desenvolvimento e sobrevivência de larvas e adultos de *S. zeamais* e outros insetos, principalmente para aqueles que se desenvolvem em grãos ricos em amido, como o milho. Nas variedades palha roxa e Maisena especialmente, o processo de hidrólise das ligações glicosídicas dos carboidratos não foi interrompido, caracterizando a atividade de amilase, diferente das variedades Asteca, Colorado e 8 Carreira onde houve a interrupção do processo de hidrólise. (MARSARO-JÚNIOR; LAZZARI; PINTO-JÚNIOR, 2006; SILVA *et al.*, 2015).

Santos e Foster (1981) in: Nascimento *et al.* (2014) relatam que o gorgulho-do-milho tem habilidades que permite reconhecer o grão resistente e o suscetível, mesmo se for em um teste de livre escolha. Segundo esses autores seria possível usar o gorgulho como agente de seleção para a resistência em milho com a presença de variabilidade genética.

Tabela 4 – Análise simples de característica físico-químicas dados em (%) de oito variedades de milho crioulo. UTFPR, Pato Branco-PR, 2019.

Variedades	Carboidratos	Proteínas	Lípídeos	Cinzas	Fibra Bruta	Umidade
Colorado	53,10	8,55	4,76	1,30	23,58	8,71
Caiano	56,67	10,30	4,73	0,84	18,54	8,92
Oaxacan	55,81	7,83	3,89	1,56	18,51	12,40
8 Carreira	67,08	9,93	4,47	1,30	4,43	12,79
Rajado	53,24	5,07	3,60	1,75	23,84	12,49
Asteca	54,77	8,38	3,74	1,08	18,50	13,53
Palha Roxa	50,07	11,47	1,50	0,52	20,59	15,85

Maisena	57,71	8,81	4,67	1,30	14,51	13
----------------	-------	------	------	------	-------	----

Metodologias Utilizadas: LANARA, 1981, 1. ed. Instituto Adolfo Lutz, Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 2008, 4ª edição.

Em relação as características físico-químicas dos grãos, percebe-se que os níveis de carboidratos ficaram entre 50,07% e 67,08% em Palha roxa e 8 Carreira, respectivamente. Colorado conteve 53,10% de carboidrato e está entre as variedades resistentes ao ataque do inseto. Sobre o conteúdo de proteínas as maiores médias ocorreram nas variedades Palha roxa (11,47%), Caiano (10,3%) e 8 Carreira (9,93%) e as menores por Rajado (5,07%) e Oaxacan (7,83%) (Tabela 4). Dessa forma, acredita-se que o conteúdo de carboidratos e proteínas não interferiu na resistência à *S. zeamais*, como no estudo de Marsaro-Junior *et al.* (2005), em que o nível de carboidratos e proteínas não interferiram na resistência dos genótipos testados ao gorgulho. Antunes *et al.* (2011) estudando os danos físicos e químicos causados por *S. zeamais* sob condições controladas em grãos de híbridos de milho, durante tempos diferentes de armazenamento, percebeu que a proteína não apresentou variações significativas ao longo do tempo de armazenamento, concluindo que o teor de gordura é um dos constituintes químicos que mais sofre deterioração pelos insetos.

A variedade Colorado apresentou elevado conteúdo lipídico, sugerindo que esse fator tenha contribuído com a resistência dessa variedade de milho. Marsaro-Junior *et al.* (2005), encontrou em seus estudos resultados semelhantes, onde o alto teor lipídico e a presença de inibidores de amilase contribuíram para a resistência de genótipos de milho. Segundo Alencar *et al.* (2011) o ataque por *S. zeamais* afeta a qualidade fisiológica dos grãos armazenados, além das características químicas, nutricionais dos grãos e seus derivados, bem como, as proteínas, carboidratos, lipídeos e valor biológico.

O teor de cinzas ficou entre 0,54% para Palha roxa e 1,75% para Rajado, indicando que a variedade Rajado contém maior nível de minerais em relação ao Palha roxa. No estudo de Marsaro-Junior *et al.* (2005) não houve diferença significativa para o teor de cinzas demonstrando a ausência de diferença no conteúdo de minerais dos híbridos estudados. O conteúdo de fibra bruta teve média 4,43% em 8 Carreira e 23,84% para Rajado (Tabela 4).

9 CONCLUSÕES

As variedades Colorado e 8 Carreira foram as mais resistentes, enquanto que Palha roxa e Maisena foram as variedades mais suscetíveis ao ataque de *S. zeamais*. A análise enzimática confirmou esses resultados, indicando a presença de possíveis inibidores da enzima amilase de *S. zeamais* nos grãos das variedades de milho resistentes.

Os maiores danos foram encontrados nos grãos das variedades Palha roxa e Maisena.

As variedades apresentaram diferentes tipos de resistência. Para a variedade Colorado a resistência foi do tipo antibiose, devido ao baixo número de emergência de adulto, sugerindo morte larval. E para Oaxacan a resistência foi do tipo não-preferencia.

A análise da composição química das variedades de milho, mostrou que o conteúdo de carboidratos e proteínas não influenciou para a resistência das variedades em estudo, exceto o conteúdo de lipídeo, que contribuiu para a resistência de Colorado.

O ciclo biológico não foi alterado quando alimentados com grãos das oito variedades de milho.

As variedades Colorado, 8 Carreira e Oaxacan são indicadas para um possível cruzamento, a fim de obter uma variedade resistente ao ataque de *S. zeamais* apresentando condições de permanecer por mais tempo armazenada, pois foram as variedades que se mostraram resistentes ao gorgulho, baseados nos fatores abordados nesse estudo.

10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante o desenvolvimento da pesquisa ficou claro a necessidade de mais estudos envolvendo variedades de milho, pois essas são a base para o melhoramento genético.

Estudar essas variedades possibilitou compreender a importância das mesmas para a preservação da agrobiodiversidade, pois são materiais com elevada variabilidade genética. Podendo ser usadas no melhoramento genético, a fim de criar variedades resistentes aos insetos-praga.

Durante o armazenamento dos grãos e/ou sementes ocorrem muitas perdas, principalmente devido ação dos insetos-praga, ficando evidente a necessidade de estudos como as investigações realizadas nesta pesquisa, para buscar métodos de controles adequados que minimizem essas perdas. E a resistência de planta promete ser um dos métodos de controle mais eficientes para o futuro, apresentando inúmeros benefícios, tanto para o meio ambiente como para a saúde do homem.

REFERÊNCIAS

ABREU, Lucilene de; CANSI, Edmar; JURIATTI, Cleber. Avaliação do rendimento socio-econômico de variedades crioulas e híbridos comerciais de milho na microregião de Chapecó. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 1, p. 1230–1233, 2007. ISSN 1980-9735. Disponível em: <<http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/rbagroecologia/article/view/6524>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

ALENCAR, Ernandes Rodrigues de *et al.* Qualidade de milho armazenado e infestado por *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*. **Engenharia na agricultura**, v. 9, n.1, p.09–18, fev 2011. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication-/273661159> Qualidade de Milho Armazenado e Infestado por *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*>. Acesso em: 03 fev. 2019.

ANDRADE, RV; BORBA, CS. Fatores que afetam a qualidade das sementes. **EMBRAPA, Centro Nacional de Milho e Sorgo. Tecnologia para produção de sementes de milho**, p. 7–10, 1993.

ANTONELLO, Leonardo Magalhães *et al.* Qualidade de sementes de milho armazenadas em diferentes embalagens. **Revista Ciência Rural**, v. 39, n. 7, p. 2191–2194, agosto 2009. ISSN 0103-8478. Disponível em: <http://www.scielo-.br/scielo.php?pid=S0103-84782009000700036script=sci_abstractlng=pt>. Acesso em: 02 fev. 2019.

ANTUNUES, Luidi. E. G *et al.* Características físico-químicas de grãos de milho atacados por *Sitophilus zeamais* durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 6, p. 615–620, 2011.

ARAGÃO, CARLOS ALBERTO *et al.* Atividade amilolítica e qualidade fisiológica de sementes armazenadas de milho super doce tratadas com Ácido giberélico. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 1, p.43–48, 2003. ISSN 0101-3122. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo-.php?pid=S0101-31222003000100008script=sci_abstractlng=pt>. Acesso em: 02 fev. 2019.

ARAÚJO JÚNIOR, Bernardo Bezerra *et al.* Avaliação de variedades crioulas de milho para produção orgânica no semi-árido potiguar. **Holos**, v. 3, p. 102–108, jun 2015. ISSN 1807-1600. Disponível em: <<http://www2-ifrn.edu.br/ojs/index.php/HOLOS/article/view/2277>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

ARAUJO, Alisson Vinicius de *et al.* Desempenho agrônômico de variedades crioulas e híbridos de milho cultivados em diferentes sistemas de manejo. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 4, p. 885–892, 2013. ISSN 1806-6690. Disponível em: <<http://>

ccarevista.ufc.br/seer/index.php/-ccarevista/article/view/2520>. Acesso em: 01 fev. 2019.

BARONI, Gabriel Debarba; BENEDETI, Pedro Henrique; SEIDEL, Denílson José. Cenários prospectivos da produção e armazenagem de grãos no Brasil. **Revista Thema**, v. 14, n. 4, p. 55–64, 2017. Disponível em: <<http://revistathema.ifsul.edu.br/index.php/thema/article/view/452>>. Acesso em: 02 fev. 2019.

BARROS, José F. C; CALADO, José Manuel Godinho. A cultura do milho. 2014. Disponível em: <file:///C:/Users/Zenilda/Downloads/Sebenta-milho%20(4).pdf>. Acesso em: 24 out. 2018.

BARROS, Luciane Bertoletti; MOREIRA, Rosângela Maria Pinto; FERREIRA, Josué Maldonado. Phenotypic, additive genetic and environment correlations of maize landraces populations in family farm systems. **Scientia Agricola**, v. 67, n. 6, p. 685–691, dez 2010. ISSN 1678-992X. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo-.php?script=sciarttextpid=S0103-90162010000600010>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

BATISTA, Michelli Fernandes *et al.* Aluminum in corn plants: influence on growth and morpho-anatomy of root and leaf. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 37, n. 1, p. 177–187, 2013. ISSN 1806-9657. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo-.php?script=sciarttextpid=S0100-06832013000100018>>. Acesso em: 25 out. 2018.

BAUDET L.M.L. IN: PESKE, S.T; VILLELA F.A.; MENEGHELLO, G.E. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**, p. 370–418, 2012.

BERG, Trygve. Landraces and folk varieties: a conceptual reappraisal of terminology. **Euphytica**, v. 166, n. 3, p. 423–430, set 2009. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s10681-008-9829-8>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

BERGAMASCHI, Homero; MATZENAUER, Ronaldo. O milho e o clima. **Emater/RS-Ascar**, p. 84, 2014. ISSN ISBN: 978-85 98842-11-0. Disponível em: <http://www.emater.tche.br/site/arquivos/milho/O_Milho_e_o_Clima-.pdf>. Acesso em: 24 out. 2018.

BORSONARO, Marcelo Toller *et al.* Extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica* A. Juss no controle de *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae) em milho armazenado. **Nucleus**, v. 10, n. 1, 2013.

CARPENTIERI PÍPOLO, Valéria *et al.* Avaliação de cultivares de milho crioulo em sistema de baixo nível tecnológico. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, n. 2, p. 229–233, 2010. ISSN 1807-8621. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAgron/article/view/430>>. Acesso em:

01 fev. 2019.

CANTERI, M. G., ALTHAUS, R. A., VIRGENS FILHO, J. S., GIGLIOTI, E. A., GODOY, C. V. SASM - Agri : Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott - Knott, Tukey e Duncan. *Revista Brasileira de Agrocomputação*, V.1, N.2, p.18-24. 2001.

CATÃO, Hugo Cesar Rodrigues Moreira *et al.* Qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de milho crioulo produzidas no norte de minas gerais. **Ciência Rural**, v. 40, n. 10, p. 2060–2066, out 2010. ISSN 0103-8478. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782010001000002script=sciabstract&lng=pt>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

CECCARELLI, Salvatore. Adaptation to low/high input cultivation. **Euphytica**, v. 92, p. 203–214, jan 1996. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF00022846>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

COIMBRA, Ronaldo Rodrigues *et al.* Caracterização e divergência genética de populações de milho resgatadas do sudeste de minas gerais. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 1, p. 159–166, mar 2010. ISSN 1806-6690. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rca/v41n1/1806-6690-rca-41-01-0159.pdf>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

COLARES, Tatiane; DIONELLO, Rafael G.; RADUNZ, Lauri L. Susceptibility of different genotypes of rice to *Sitophilus zeamais* Motschulsky 1885 attack (Coleoptera: Curculionidae). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, n. 3, p. 275–279, 2016. ISSN 1807-1929. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo-.php?script=sciarttext&pid=S1415-43662016000300275>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira. v. 5, n. 7, 2018. ISSN- 2318-6852. Disponível em: <[file:///C:/Users/Zenilda/Downloads/BoletimZGraosZabrilZ2018%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/Zenilda/Downloads/BoletimZGraosZabrilZ2018%20(2).pdf)>. Acesso em: 24 out. 2018.

COPATTI, Carlos E.; MARCON, Roberta K.; MACHADO, Monaliza B. Avaliação de dano de *Sitophilus zeamais*, *Oryzaephilus surinamensis* e *Laemophloeus minutus* em grãos de arroz armazenados. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 8, p. 855–860, mai 2013. ISSN 1415-4366. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo-.php?pid=S1415-43662013000800009script=sciabstract&lng=pt>>. Acesso em: 31 jan. 2019.

COSTA, André Rodrigues da *et al.* Qualidade de grãos de milho armazenados em silos bolsa. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2, p. 200–207, jun 2010. ISSN 1806-6690. Disponível em: <<http://ccarevista-.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/643>>. Acesso em: 02 fev.

2019.

COUTINHO, Wirton M. *et al.* Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho submetidas a termoterapia e condicionamento fisiológico. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 6, p. 458–464, nov 2007. ISSN 1678-4677. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-41582007000600002script=sciabstracttlng=pt>>. Acesso em: 02 fev. 2019.

Cruz, C.D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. *Acta Scientiarum*. v.38, n.4, p.547-552, 2016.

CRUZ, José Carlos *et al.* Cultivo do milho. **Embrapa Milho e Sorgo**, p. 10, 2010. ISSN 1679-012X. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/27037/1/Plantio.pdf>>. Acesso em: 24 out. 2018.

CRUZ, JOSE CARLOS *et al.* Sistema de produção de milho safrinha de alta produtividade: Safras 2008 e 2009. **Embrapa**, p. 1–10, nov 2011. ISSN 1679-1150. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/-/handle/doc/906702>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

CRUZ, Pedro Guillen-de la *et al.* Germinación y vigor de semillas de poblaciones de maíz con diferente proporción de endospermo vítreo. **Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences**, v. 34, n. 2, p. 108-117, 2011.

CUNHA, Adriany Alves da *et al.* Níveis de resistência de populações de milho de alta qualidade proteica ao *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 29, n. 1, p. 43–47, 1999. Disponível em: <<https://repositorio.bc.ufg.br/xmlui/handle/ri/12869>>. Acesso em: 03 fev. 2019.

DEUNER, Cristiane *et al.* Physiological performance during storage of corn seed treated with insecticides and fungicide. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 2, p. 204–212, 2014. ISSN 2317-1537. Disponível em: <<http://www.scielo-br/scielo.php?pid=S2317-15372014000200009script=sciarttexttlng=pt>>. Acesso em: 03 fev. 2019.

DOBIE P: IN: MARSARO JUNIO, Alberto L *et al.* The contribution of the tropical stored products centre to the study of insect resistance in stored maize. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 3, p. 443–450, 2005.

DOMENICO, Adriana Sbardelotto Di *et al.* Occurrence of *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., and aflatoxins in corn hybrids with different systems of storage. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 38, n. 1, p. 111–121, 2016. ISSN 1807-8621. Disponível em: <<http://www.scielo-br/scielo-.php?script=sciarttextpid=S1807-86212016000100111>>. Acesso em: 02 fev. 2019.

EICHOLZ, Eberson Diedrich *et al.* Produtividade de variedades de milho de polinização aberta no RS. **XXXI Congresso Nacional de Milho e Sorgo**, p. 1436-1439, 2016.

EMYGDIO, Beatriz Marti; ROSA, Ana Paula Schneid Afonso da; TEIXEIRA, Mauro Cesar Celaro. Indicações técnicas para o cultivo de milho e de sorgo no rio grande do sul – safras 2013/2014 e 2014/2015. **Embrapa**, p. 1–125, 2013. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/clima-temperado/busca-de-publicacoes/-/publicacao/981266/indicacoes-tecnicas-para-o-cultivo-de-milho-e-de-sorgo-no-rio-grande-do-sul-safras-20132014-e-20142015>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

ESALQ. Visão agrícola. v. 13, 2015. ISSN 1806-6402. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/Esalq-VA13-Milho.pdf>>. Acesso em: 24 out. 2018.

FERREIRA-JÚNIOR, Ricardo Araújo; SOUZA, José L. de; TEODORO, Iêdo; LYRA, Gustavo B; SOUZA, Renan C. de; ARAÚJO-NETO, Renato A. de. Eficiência do uso da radiação em cultivos de milho em Alagoas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 3, p. 322–328, 2014. ISSN 1807-1929. Disponível em: <http://www.scielo.br/-/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-43662014000300012>. Acesso em: 24 out. 2018.

FERREIRA, Josué Maldonado; MOREIRA, Rosângela Maria Pinto; HIDALGO, José Antônio Fernandes. Capacidade combinatória e heterose em populações de milho crioulo. **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 332–339, out 2009. ISSN 1678-4596. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo-.php?pid=S0103-84782009000200004script=sci_abstract&lng=pt>. Acesso em: 01 fev. 2019.

FIESP. Safra brasileira de grãos 2018/19. Disponível em: <<https://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra-de-graos-brasil/attachment/file-20190510123239-safra-graos-brasil-2018-198-levantamento/>>. Acesso em: 12 mar. 2019.

FILHO, Israel Alexandre Pereira; CESAR, Magalhaes Paulo; SOUZA, Thiago Corrêa de. Cultivo do milho. **Embrapa Milho e Sorgo**, v. 9, 2015. ISSN 1679-012X. Disponível em: <https://www.spo.cnptia.embrapa.br/-/conteudo?p_p=id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducao&_1ga1ceportletp_lifecycle=0p_p_stat=1p_p_col_count=1p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=7905p_r_p_-996514994_topicId=8662>. Acesso em: 24 out. 2019.

FONSECA, David Jose da; PARIZOTTO, Cirio; MERGENER, Rafael André. Cultivo agroecológico de cinco variedades de polinização aberta de milho no município de campos novos, sc. **Unoesc & Ciência**, v. 6, n. 1, p. 19–24, 2015. ISSN 2178-342X. Disponível em: <<https://editora-.unoesc.edu.br/index.php/acet/article/view/5038>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

FRAGOSO, Daniel B.; GUEDES, Raul Narciso C.; PETERNELLI, Luiz A.

Developmental rates and population growth of insecticide resistant and susceptible populations of *Sitophilus zeamais*. **Journal of Stored Products Research**, v. 41, n. 3, p. 271–281, mar 2005. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022474X0400030X>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

FRANCO, Octávio Luiz *et al.* Resistência de agricultura plantas a insetos. **Agricultura**, p. 36–40, 1999. Disponível em: <<https://repositorio.ucb.br/jspui/bitstream/123456789/7742/1-/Resist%C3%A2ncia%20de%20plantas%20a%20insetos.pdf>>. Acesso em: 02 fev. 2019.

FRAZÃO, Carlos Aydano Virgínio *et al.* Scientific article plant parasitology resistance of maize cultivars to *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 85, p. 1–8, nov 2018. ISSN 1808-1657. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sciarttextpid=S180816572018000100239&lng=pt&lng=en>>. Acesso em: 02 fev. 2019.

GARCIA LARA, Silverio; BERGVINSON, David J. Identification of maize landraces with high level of resistance to storage pests *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Prostephanus truncatus* Horn in latin america. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 36, n. 3-A, p. 347–356, out 2013. ISSN 0187-7380. Disponível em: <<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61029263010>>. Acesso em: 31 jan. 2019.

GUZZO, Elio Cesar *et al.* Identificação de materiais de milho resistentes ao ataque de gorgulho *Sitophilus zeamais* (Mots., 1855) (Coleoptera: Curculionidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 2, p. 69–73, 2002. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication-/257173731> Identificacao de Materiais de Milho Resistentes ao Ataque de Gorgulho Sitophilus zeama Acesso em: 02 fev. 2019.

HERRMANN, Daniela da Rocha *et al.* Avaliação da resistência de cultivares de milho ao ataque de *Sitophilus* sp. em grãos armazenados. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 4290–4293, 2009.

JAIROCE, Carlos F. *et al.* Insecticide activity of clove essential oil on bean weevil and maize weevil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, n. 1, p. 72–77, 2016. ISSN 1807- 1929. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-43662016000100072&script=sci_abstract>. Acesso em: 31 jan. 2019.

LANGNER, Josana Andreia *et al.* Estimating the development of landrace and improved maize cultivars as a function of air temperature. **Ciência Rural**, v. 46, n. 10, p. 1737–1742, 2016. ISSN 1678-4596. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v46n10/1678-4596-cr-46-10-01737.pdf>>. Acesso em: 24 out. 2018.

LARA, Fernando Mesquita. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. Ed. Livroceres, Piracicaba, 1978.

LAZAREVI, Jelica; TOMANIC, Milena Jankovic. Dietary and phylogenetic correlates of digestive trypsin activity in insect pests. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, p. 123–151, set 2015. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/eea.12349>>. Acesso em: 02 fev. 2019.

LUDWICK, Dalton C. *et al.* A new artificial diet for western corn rootworm larvae is compatible with and detects resistance to all current bt toxins. **Scientific Reports**, p. 1–10, mar 2018. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-018-23738-z>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

MAGALHÃES, Paulo César *et al.* Fisiologia do milho. **Embrapa**, p. 1–23, dez 2002. ISSN 1679-1150. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/478294>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

MALUP, jaimé ricardo tavares; MATZENAUEW, ronaldo; CAIAFFO, márcia rodrigues. Zoneamento agroclimático da cultura de milho por épocas de semeadura, no estado do Rio Grande do Sul. **Revista Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 6, n. 1, p. 39–54, jan 2000. Disponível em: <http://www.fepagro.rs.gov.br/upload/1398890898_art_04.pdf>. Acesso em: 01 fev. 2019.

MARSARO JUNIOR, Alberto *et al.* Inibidores de amilase em híbridos de milho como fator de resistência a *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 3, p. 443–450, 2005.

MARSARO JUNIOR, Alerto Luiz *et al.* Resistência de híbridos de milho ao ataque de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) em condições de armazenamento. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 6, n. 1, p. 45-50, 2008.

MENDES, Simone Martins *et al.* Respostas da lagarta-do-cartucho a milho geneticamente modificado expressando a toxina cry 1a(b). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 239–244, mar 2011. ISSN 1678-3921. Disponível em: <<http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab-/article/view/9582>>. Acesso em: 02 fev. 2019.

MENEGUETTI, G. A; GIRARDI, J. L.; REGINATTO, J. C. Milho crioulo: tecnologia viável e sustentável. **Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 3, n. 1, p. 12–17, 2002. Acesso em: 03 fev. 2019.

MIKAMI, A.Y; CARPENTIERI-PÍPOLO, V; VENTURA, M.U. Resistance of maize landraces to the maize weevil *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**, v. 41, n. 5, p. 404–408, 2012. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s13744-012-0054-8>>. Acesso em: 03 fev. 2019.

NAPOLEÃO, Thiago H. *et al.* Termiticidal activity of lectins from myracrodruon urundeuva against nasutitermes corniger and its mechanisms. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65, n. 1, p. 52–59, dez 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096483051000106X>>. Acesso em: 02 fev. 2019.

NASCIMENTO, Rejane Teixeira do *et al.* Resistance of two maize landraces in breeding stage to the attack of *Sitophilus zeamais*. **American Journal of Plant Sciences**, v. 5, p. 2929–2934, ago 2014. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication-/266080891> Resistance of Two Maize Landraces in Breeding Stage to the Attack of Sitophilus zeamai Acesso em: 02 fev. 2019.

NEGRI, Bárbara França *et al.* Análise de linhagens recombinantes endogâmicas de milho visando à relação entre a eficiência da aquisição de fósforo e a morfologia do sistema radicular. **Congresso Nacional de Milho e Sorgo**, n. 29, 2012. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa-.br/bitstream/doc/933000/1/Analiselinhagens.pdf>> . Acesso em: 09 out. 2018.

NEUMANN, Mikael *et al.* Características agronômicas do milho para silagem sob níveis de adubação nitrogenada e potássica em cobertura. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 16, n. 1, p. 69–77, 2017. ISSN 1983-1471.

NEUMANN, Mikael *et al.* Desempenho de híbridos de milho para silagem cultivados em diferentes locais com três densidades populacionais. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 17, n. 1, p. 49–62, 2018. ISSN 1980-6477.

NOGUEIRA, Luciano. Dissertação: Categorias e níveis de resistência de genótipos de milho crioulo a *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA- UNESP**, p. 101, 2015. Acesso em: 02 fev. 2019.

NORAMBUENA, Carolina *et al.* Insecticidal activity of *Laureliopsis philippiana* (Looser) schodde (atherospermataceae) essential oil against *Sitophilus* spp. (coleoptera curculionidae). **Chilean journal of agricultural research**, v. 76, n. 3, set 2016. ISSN 0718-5839. Disponível em: <<https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sciarttextpid=S0718-58392016000300010>>. Acesso em: 31 jan. 2019.

NUNES, Ernane Nogueira *et al.* Análise de crescimento e assimilação de nitrogênio em plantas de milho (*Zea mays* L.). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 4, p. 72 – 76, 2013. ISSN 1981-8203. Disponível em: <<https://www.gvaa.com.br-/revista/index.php/RVADS/article/view/1977/1945>>. Acesso em: 13 out. 2018.

NWOSU, L.C. Chemical bases for maize grain resistance to infestation and damage by the maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky. **Journal of Stored Products Research**, v. 69, p. 41–50, jun 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022474X16300662>>. Acesso em: 02 fev. 2019.

OLIVEIRA, eugênio E. *et al.* Resistência vs susceptibilidade a piretróides em *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae): Há vencedor? **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 6, p. 981–990, dez 2005. ISSN1519-566X. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1519-566X2005000600015script=sciabstractlng=pt>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

PAES, Vasco Maria Tareco Brito. Análise da variabilidade espaço-temporal da produtividade de milho numa parcela na região da golegã. **Dissertação(Mestrado em Agronomia)- Setor de Ciências Agrárias, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa**, p. 96, 2011. Disponível em: <https://www.repository.utl.pt/bitstream-/10400.5/5351/1/TESE%20v5_2_correcoes%20ap%C3%B3s%20defesa.pdf>. Acesso em: 23 out. 2018.

PAIXÃO, Magda Fernanda *et al.* Controle alternativo do gorgulho-do-milho, *Sitophilus zeamais*, em armazenamento com subprodutos do processamento do xisto, no paraná, brasil. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 3, p. 67–75, jun 2009. ISSN 1980-9735. Disponível em: <<http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/rbagroecologia/article/view/7825>>. Acesso em: 31 jan. 2019.

PAVÃO, andressa rodrigues; FERREIRA-FILHO, Joaquim Bento de Souza. Impactos econômicos da introdução do milho Bt11 no Brasil: uma abordagem de equilíbrio geral inter-regional. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 49, n. 1, p. 81–108, 2011. ISSN 0103-2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttextpid=S0103-20032011000100004>. Acesso em: 22 out. 2018.

PEDOTTI STRIQUER, Lara; BERVIAN, Cleberson Inacio Baungaertner; FAVERO, Silvio. Ação repelente de plantas medicinais e aromáticas sobre *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 10, n. 1, p. 55–62, 2006. ISSN 1415-6938. Disponível em: <<https://www.redalyc.org/pdf/260/26012756006.pdf>>. Acesso em: 02 fev. 2019.

PEREIRA FILHO, Israel Alexandre; MAGALHÃES, Paulo Cesar; SOUZA, Thiago Corrêa de. Cultivo do milho. **Embrapa**, ed. 9º, ISSN 1679-012X.

PEREIRA, Marcel José Roma *et al.* Características morfoagronômicas do milho submetido a diferentes níveis de desfolha manual. **Revista Ceres**, v. 59, n. 2, mar 2012. ISSN 0034-737X. Disponível em: <http://www.scielo-br/scielo.php?script=sci_arttextpid=S0034-737X2012000200008>. Acesso em: 01 fev. 2019.

PINTO, Crislaine Aparecida Gomes *et al.* Image analysis in the evaluation of the physiological potential of maize seeds. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 2, p. 319–328, 2015. ISSN 1806-6690. Disponível em: <<http://ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/3503>>. Acesso em: 23 out. 2018.

PIOVESAN, Vanessa; OLIVEIRA, Vladimir de; GEWEHR, Clóvis Eliseu. Milhos com diferentes texturas de endosperma e adição de alfa-amilase na dieta de leitões. **Ciência Rural**, v. 41, n. 11, p. 2014–2019, out 2011. ISSN 0103-8478. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo-.php?pid=S0103-84782011001100027script=sciabstracttlng=pt>>. Acesso em: 03 fev. 2019.

PROCÓPIO, Tamara Figueredo *et al.* Interferência do extrato aquoso de folhas de *Tradescantia spathacea* na fisiologia nutricional do gorgulho-do-milho, *Sitophilus zeamais*. **Revista Arrudea**, v. 1, n. 1, p. 023–027, 2015. Disponível em: <<http://arrudea.recife.pe.gov.br/arrudea/index.php/-Arrudea/article/view/5/5>>. Acesso em: 31 jan. 2019.

QUIRINO, José Ronaldo *et al.* Resfriamento artificial na conservação da qualidade comercial de grãos de milho armazenados. **Bragantia**, v. 72, n. 4, p. 378–386, nov 2013. ISSN 1678-449. Disponível em: <<http://www.scielo-.br/scielo.php?pid=S0006-87052013000400009script=sciabstracttlng=pt>>. Acesso em: 02 fev. 2019.

REZENDE, Wender Santos *et al.* Desenvolvimento e produtividade de grãos de milho submetido a níveis de desfolha. **Pesquisa Agro- pecuária Brasileira**, v. 50, n. 3, p. 203–209, mar 2015. ISSN 0100-204X. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-204X2015000300203script=sciabstracttlng=pt>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

RIBEIRO, B.M. *et al.* Insecticide resistance and synergism in brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 39, p. 21–31, dez 2003. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022474X02000140>>. Acesso em: 31 jan. 2019.

RIBEIRO, carla sibere nogueira *et al.* Resistência de genótipos de arroz a pragas de grãos armazenados. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 1, p. 183–187, mar 2012. ISSN 1983-2125. Disponível em: <<https://periodicos-.ufersa.edu.br/index.php/caatinga/article/view/2127>>. Acesso em: 31 jan. 2019.

ROSENTAL, Leah; NONOGAKI, Hiroyuki; FAIT, Aaron. Activation and regulation of primary metabolism during seed germination. **Seed Science Research**, v. 24, n. 1, p. 1–15, fev 2014. Disponível em: <<https://www.cambridge.org/core/journals/seed-science-research/article-/activation-and-regulation-of-primary-metabolism-during-seed-germination-/842961A5F291BA33D377B2C48A7B382A>>. Acesso em: 01 fev.

2019.

SANDRI, César Augusto; TOFANELLI, Mauro Brasil Dias. Milho crioulo: Uma alternativa para rentabilidade no campo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 38, n. 1, p. 59–61, mar 2008. ISSN 1517-6398. Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/pat/article/view/3629>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

SANTOS, J. P; FOSTER, J. E. Preferência e reprodutividade do gorgulho do milho como fator de resistência em algumas populações e linhagens de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 16, n. 6, p. 769–775, dez 1981.

SANTOS, J.P; FONTES, R.A; SANTOS, J.P. Armazenamento e controle de insetos no milho estocado na propriedade agrícola. **Informe Agropecuário**, v. 14, n. 165, p. 40–45, 1990.

SCHMIDTJEFFRIS, Rebecca A.; NAULT, Brian A. Crop spatiotemporal dominance is a better predictor of pest and predator abundance than traditional partial approaches. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 265, n. 1, p. 331–339, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167880918302512>>. Acesso em: 03 fev. 2019.

SILVA, Luciana Barboza *et al.* Comportamento do gorgulho-do-milho frente às doses de permetrina. **Comunicata Scientiae**, v. 4, n. 1, p. 26–34, 2013. Disponível em: . Acesso em: 02 fev. 2019.

SILVA, Luís César da. Estruturas para armazenagem de grãos a granel. **Boletim Técnico**, 2010. Disponível em: <<http://www.agais-.com/manuscript/ag0210armazenagemgranel.pdf>>. Acesso em: 02 fev. 2019.

SILVA, Marcos A. V. *et al.* Influência das condições microclimáticas no crescimento do milho br 106, cultivado sob sementeira direta. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 39, n. 3, p. 1–12, 2016. ISSN 0871-018X. Disponível em: <<http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sciarttextpid=S0871-018X2016000300007>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

SILVEIRA, Diógenes Cecchin *et al.* Produtividade e características de variedades de milho crioulo cultivadas na região noroeste do rio grande do sul. **AGRARIAN ACADEMY**, v. 2, n. 4, p. 60–69, dez 2015. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/Agrarian%20Academy/2015b-/produtividade.pdf>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

SOUSA, Adalberto H. *et al.* Bioactivity of diatomaceous earth to *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in different application conditions. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 9, p. 982–986, 2013. Disponível em:

<<https://www.researchgate.net/publication-/260764331> Bioactivity of diatomaceous earth to *Sitophilus zeamais* Coleoptera Curculionidae in diff >. Acesso em: 02 fev. 2019.

SOUSA, Alberto H. *et al.* Bioactivity of diatomaceous earth to *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in different application conditions. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, n.9, p.982–986, 2013.

SOUSA, jessica gonçalves. Monografia: Resistência por antibiose de genótipos de milho ao ataque do gorgulho-do-milho. **Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária**, p. 1–31, 2016. Disponível em: <http://bdm.unb.br/bitstream/10483/14945-1/2016_JessicaGon%C3%A7alvesSousa.tcc.pdf>. Acesso em: 03 fev. 2019.

SOUZA, Ana Raquel Ribeiro e *et al.* Correlação de caracteres de uma população crioula de milho para sistema tradicional de cultivo. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 4, p. 183–190, dez 2008. ISSN 0100-316X. Disponível em: <<https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/caatinga/article/view-/424>>. Acesso em: 01 fev. 2019.

STEFANELLO, Raquel *et al.* Physiological and sanitary qualities of maize landrace seeds stored under two conditions. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 39, n. 4, p. 339–347, 2015. ISSN 1981-1829. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttextpid=S1413-70542015000400339>. Acesso em: 02 fev. 2019.

STEIN, WL; SLABAUCH, PE; PLUMER, AP. Ap colheita, processamento e armazenamento de sementes de frutos. em: sementes de plantas lenhosas nos estados unidos. **Agricultural Handbook**, n. 450, p. 98–125, 1974.

SULEIMAN, Rashid. Is flint corn naturally resistant to *Sitophilus zeamais* infestation? **Journal of Stored Products Research**, n. 60, p. 19–24, 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022474X1400109X>>. Acesso em: 23 ago. 2017.

TIMÓTEO, Tathiana Silva; MARCOS-FILHO, Julio. Seed performance of different corn genotypes during storage. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 2, 2013. ISSN 2317-1537. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo-.php?script=sci_arttextpid=S2317-15372013000200010>. Acesso em: 02 fev. 2019.

TOSCANO, Luciana C *et al.* Resistência e mecanismos envolvidos em genótipos de milho em relação ao ataque do gorgulho, *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **An. Soc. Entomol. Brasil**, v. 28, n. 1, p. 141–146, fev 1999. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/handle-/11449/2012>>. Acesso em: 03 fev. 2019.

TREMATERRA, Pasquale *et al.* Behavioral responses of *Sitophilus zeamais* Motschulsky adults to conditioned grain kernels. **Journal of Stored Products Research**, v. 53, p. 77–81, fev 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022474X13000258>>. Acesso em: 31 jan. 2019.

VIEBRANTZ, Priscila C.; RADUNZ, Lauri L.; DIONELLO, Rafael G. Mortality of insects and quality of maize grains in hermetic and non-hermetic storage. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, n. 5, p. 1807–1929, 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo-.php?script=sci_arttextpid=S1415-43662016000500487>. Acesso em: 02 fev. 2019.

WEISMANN, Martin. Fases de desenvolvimento da cultura do milho. **Tecnologia e produção: Milho safrinha e culturas de inverno.**, 2008. Disponível em: <<http://atividaderural.com.br/artigos/4fb3e56aa8c56.pdf>>. Acesso em: 22 out. 2018.

ÍNDICE DE APÊNDICES E ANEXO

APÊNDICE A – Variedades de milho utilizadas no experimento: A- Oaxacan, B- 8 Carreira, C- Rajado, D- Palha roxa, E- Asteca, F- Maisena, G- Colorado e H- Caiano.....	64
Fonte: Zenilda F. Carneiro.....	64
APÊNDICE B – Criação de <i>Sitophilus zeamais</i>.....	65
APÊNDICE C – Experimento montado.....	66
Fonte: Zenilda F. Carneiro.....	66
APÊNDICE D – Variedade Colorado e 8 Carreira ao final do experimento: A- Colorado e B- 8 Carreira.....	67
Fonte: Zenilda F. Carneiro.....	67
APÊNDICE E – Variedade Palha roxa e Maisena ao final do experimento: A-C Palha roxa e B-D Maisena.....	68
Fonte: Zenilda F. Carneiro.....	68
APÊNDICE F – A, B, C e D preparo da amostra enzima amilase.....	69
Fonte: Zenilda F. Carneiro.....	69
ANEXO.....	70
ANEXO A – Protocolo para enzima amilase.....	71

APÊNDICES

APÊNDICE A – Variedades de milho utilizadas no experimento: A- Oaxacan, B- 8 Carreira, C- Rajado, D- Palha roxa, E- Asteca, F- Maisena, G- Colorado e H- Caiano.



Fonte: Zenilda F. Carneiro

APÊNDICE B – Criação de *Sitophilus zeamais*.

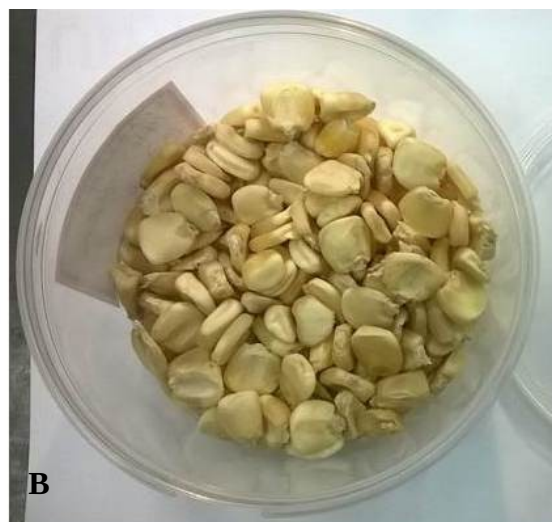
Fonte: Zenilda F. Carneiro

APÊNDICE C – Experimento montado.



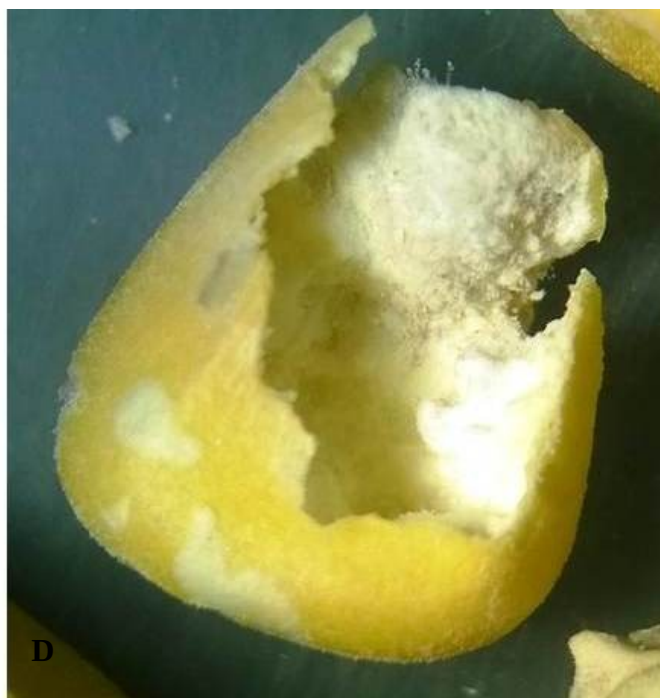
Fonte: Zenilda F. Carneiro

APÊNDICE D – Variedade Colorado e 8 Carreira ao final do experimento: A- Colorado e B- 8 Carreira.



Fonte: Zenilda F. Carneiro

APÊNDICE E – Variedade Palha roxa e Maisena ao final do experimento: A-C Palha roxa e B-D Maisena.



Fonte: Zenilda F. Carneiro

APENDICE F – A, B, C e D preparo da amostra enzima amilase.



Fonte: Zenilda F. Carneiro

ANEXO

ANEXO A – Protocolo para enzima amilase.

HOMOGENADO DO INSETO (*Sitophilus zeamais*) PARA AMILASE (660nm):

- Lavar os insetos em KCl 1,5%,
- Colocar em um recipiente 5,0 mL de água pH3 HCL, com 20 insetos e macerar,
- Filtrar em gaze de algodão,
- Centrifugar em 10.000 g_{máx} por 15 min.

PROTOCOLO PARA AMILASE (KIT):

- Reagente 1: Substrato (Amido)
- Reagente 2: Iodo

Preparo:

Transferir o Reag. 2 para o frasco vazio do kit. Adicionar 45 mL de água destilada ou deionizada e homogeneizar.

	Controle	Amostra
Reag.1	100µL	100µL
Colocar em banho-maria à 37° C por 2 min.		
Amostra	-----	2µL
Homogeneizar e incubar a 37° C por exatamente 7 min. e 30s cronometrados.		
Reag. de trabalho	100µL	100µL
Água dest. ou deioniz.	1mL	1mL

Unidade de amilase: µmol/min

Se a Unid. > 400, diluir a amostra do inseto.

Fonte: SILVA *et al.*, 2015