

AUTORES
AUTHORS

✉ **Ivânia ATHIÉ**

Pesquisador do Centro de Informação em Alimentos do Instituto de Tecnologia de Alimentos-ITAL
Avenida Brasil, 2880, Campinas, São Paulo-Brasil
CEP 13073-001 - Fone: (0**19) 3743 1739
email: ivathie@ital.org.br

Jorge José do Vale OLIVEIRA

Pesquisador do Centro de Química de Alimentos e Nutrição Aplicada do Instituto de Tecnologia de Alimentos-ITAL
Avenida Brasil, 2880, Campinas, São Paulo-Brasil
CEP 13073-001 - Fone: (0**19) 3743 1787
email: jorgejvo@ital.org.br

Maria Fernanda P. M. de CASTRO

Pesquisador do Núcleo de Microbiologia de Alimentos do Instituto de Tecnologia de Alimentos-ITAL
Avenida Brasil, 2880, Campinas, São Paulo-Brasil
CEP 13073-001 - Fone: (0**19) 3743 1813
email: fernanda@ital.org.br

Margarida Kikuta BARBIERI

Pesquisador do Núcleo de Análises Físicas, Sensoriais e Estatística do Instituto de Tecnologia de Alimentos-ITAL
Avenida Brasil, 2880, Campinas, São Paulo-Brasil
CEP 13073-001 - Fone: (0**19) 3743 1811
email: mkbarbier@ital.org.br

RESUMO

Os objetivos deste trabalho foram padronizar um método de quantificação de fosfina por cromatografia gasosa e avaliar a resistência à fosfina em populações de insetos de grãos armazenados. Uma curva-padrão de fosfina foi obtida na faixa de 0,2 a 4,0mg/L. Essas concentrações foram obtidas, diluindo-se a fosfina obtida de um gerador em dessecadores adaptados para essa finalidade. Calculou-se a massa de 1mL de fosfina nas CNTP, empregando-se a equação de Clapeyron e considerando-se a concentração de fosfina obtida no gerador como sendo de 86%. Calculou-se o volume de fosfina a ser aplicado nos testes de resistência e as concentrações efetivamente aplicadas. Testes de resistência à fosfina foram realizados em 04 populações de *R. dominica* e 06 de *T. castaneum*, coletadas no Estado de São Paulo. Todas as populações das duas espécies apresentaram resistência à fosfina, sendo que a frequência de indivíduos resistentes foi maior em *R. dominica*, variando de 82,3% a 100%, enquanto nas populações de *T. castaneum* essa frequência variou de 48,9% a 97,1%. A metodologia empregada para dosagem de fosfina mostrou-se de fácil aplicação, quando se avalia a resistência de insetos a este gás. Devido ao problema de resistência verificado neste estudo, conclui-se que se deve determinar a concentração de fosfina que causa mortalidade nas espécies a serem estudadas, de modo a possibilitar o uso da dosagem correta na fumigação.

SUMMARY

The objectives of this paper were to standardize a method to quantify phosphine concentrations by gas chromatography and evaluate the resistance to phosphine in populations of grain storage insects. A phosphine standard curve was obtained in the range from 0.2 to 4.0mg/L. These concentrations were obtained by diluting the phosphine obtained from a generator, in dessicators adapted for this purpose. The weight of 1mL of phosphine was calculated by the Clapeyron equation, considering the gas obtained in the generator as being 86% phosphine. These data allowed for the calculation of the gas volume to be applied in the resistance tests (nominal concentration), and the effective concentration obtained. Resistance tests to phosphine were carried out with 04 populations of *Rhyzopertha dominica* and *Tribolium castaneum* collected in São Paulo State. All populations showed resistance to phosphine, the frequency of resistant insects being greater for *R. dominica* (82.3% to 100%) than for *T. castaneum* (48.9 to 97.1%). The methodology applied to dose phosphine was shown to be easy to apply in this case. Due to the problem of resistance verified in this study, the phosphine concentration that causes insect mortality must be established for the different species studied, in order to apply the correct dose in fumigation procedures.

PALAVRAS-CHAVE
KEY WORDS

Insetos-grãos-armazenados; Fosfina; Resistência à fosfina; Cromatografia a gás / Grain-storage-insects; Phosphine; Resistance to phosphine; Gas chromatography.

1. INTRODUÇÃO

O controle de insetos no armazenamento de grãos é realizado principalmente pelo uso de produtos químicos, utilizando-se fumigantes para eliminar infestações e inseticidas líquidos para prevenir reinfestações dos produtos. Os fumigantes permitidos para uso em grãos armazenados no Brasil são o fosfeto de hidrogênio (PH₃), também conhecido como fosfina e o brometo de metila (CH₃Br). A aplicação de fosfina no Brasil não segue os padrões estabelecidos internacionalmente.

O uso contínuo de fosfina por mais de 30 anos, com a vedação inadequada das estruturas de estocagem resultou em baixas concentrações do fumigante na atmosfera de expurgo que, associado ao emprego em períodos de exposição insuficientes para o controle efetivo das espécies-alvo, tem causado a seleção de insetos resistentes. Como o brometo de metila foi banido pelo protocolo de Montreal em função deste fumigante destruir a camada de ozônio, haverá uma tendência ao aumento do uso de fosfina que, muitas vezes de qualidade dúbia, poderá causar agravamento da situação de resistência (MILLS, 2000).

A fosfina é um gás sob condições normais, de densidade 1,2 em relação ao ar atmosférico. Possui a habilidade de se difundir rapidamente através de produtos, tais como grãos e farinhas armazenadas e de ser adsorvido em pequena quantidade comparada com outros fumigantes, o que o torna excelente para produtos estocados. É obtido pela hidrólise do fosfeto de alumínio ou magnésio. Estes fosfetos são disponíveis comercialmente na forma de pastilhas de 0,6g e tabletes de 3,0g, sendo que o fosfeto de alumínio é também encontrado na formulação sachet, de 34g (HESELTINE, 1973).

Desde o levantamento mundial de resistência de insetos de grãos armazenados à fosfina realizado pela FAO, em 1972-1973 (CHAMP, DYTE, 1976), quando detectou-se resistência em 33 dos 82 países amostrados, vários autores têm confirmado a resistência a esse fumigante em várias partes do mundo (SRIVASTAVA, 1980, MILLS, 1983, MILLS, 1986, TYLER *et al.*, 1983, TAYLOR, 1986, TAYLOR, 1989, ZETLER, 1990, NAYAK, COLLINS, 2000, COLLINS, DAGLISH, 2000).

Nesse levantamento, não foi detectada resistência à fosfina em insetos-praga coletados em grãos armazenados no Brasil. No entanto, em levantamentos e experimentos realizados utilizando-se método da FAO nº16 (ANON., 1975), detectou-se resistência na maioria das populações testadas de *Sitophilus oryzae* (L.), *Rhizopertha dominica* (Fabr.) *Tribolium castaneum* (Herbst), *Cryptolestes spp.* e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) com indícios de elevados níveis de resistência em algumas populações (PACHECO *et al.* 1990, SARTORI *et al.*, 1990, MILLS, ATHIÉ, 2000, SAWIDOU *et al.*, 1994).

Métodos de determinação de concentração de fosfina, como o Harris (HARRIS, 1986), MIRAN e outros, têm sido usados para detecção de populações resistentes (PACHECO *et al.*, 1990, SARTORI *et al.*, 1990). Embora bastante úteis para determinar concentrações no campo, esses métodos não oferecem a sensibilidade exigida em pesquisas com o fumigante.

O objetivo do presente trabalho foi padronizar um método de quantificação de fosfina por cromatografia a gás com detector de fotometria de chama e avaliar a situação de resistência à fosfina em populações de *Rhizopertha dominica* (Fabr.) e *Tribolium castaneum* (Herbst), coletados em unidades armazenadoras do Estado de S. Paulo.

2. METODOLOGIA

2.1 Curva de calibração

Para preparação da curva-padrão na faixa de concentração de 0,2 a 4,0mg/L foi utilizada a fosfina gerada de pastilha de fosfeto de alumínio de 0,6g marca Gastoxin, segundo o sistema da Figura 1.

Para coleta do gás foi utilizado tubo coletor de fosfina (TCF) de 40cm de comprimento e 4cm de diâmetro com tampa de rosca, fechado com silicone e completamente cheio de ácido sulfúrico (5%). O tubo coletor de fosfina invertido foi mergulhado verticalmente em um béquer com esta solução. Na parte inferior do tubo coletor, foi colocada a pastilha de fosfeto de alumínio sob um funil invertido. O gás gerado pela pastilha foi recolhido pela parte inferior do tubo coletor depositando-se na parte superior, onde se localizava o septo de borracha. Com seringa apropriada para gases foram retirados volumes do gás fosfina do TCF, através da vedação de silicone, e introduzidos em dessecadores de 6 litros pelo orifício da tampa fechado com silicone. O dessecador foi utilizado como sistema para diluição da fosfina no preparo da curva-padrão deste gás.

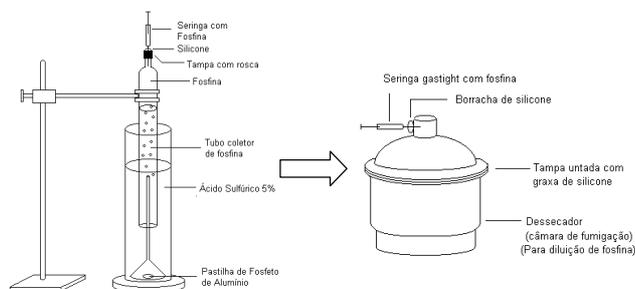


FIGURA 1. Esquema de diluição de fosfina a partir da pastilha de fosfeto de alumínio.

2.2 Concentração de fosfina

Para cálculo da massa de 1mL de fosfina (100%) nas CNTP (Condições Normais de Temperatura) (25°C) e Pressão (1 atm), retirado do TCF foi empregada a equação de Clapeyron (PV=nRT). Sendo P, pressão em atm; V, volume em litros; n, número de mol equivalente a m (massa)/MM (massa molar); R, constante de Clapeyron (0,082 atm. L°K); T temperatura em graus Kelvin. Desdobrando a equação de Clapeyron: m=P.V.MM/RT. Como a massa molar da fosfina é 34, calculando-se a massa de PH₃ em 1 mL obtêm-se 1,39mg. Como a pastilha

de fosfeto de alumínio gera uma mistura de gás com 86% de fosfina, no volume de 1 ml proveniente das pastilhas há 1,19mg de fosfina.

Para obtenção da curva-padrão, volumes da fosfina do TCF foram diluídos em dessecadores e volumes da fosfina diluída foram injetados em cromatógrafo, gerando uma relação entre áreas e concentrações na faixa de 0,2 a 0,4mg/L.

2.3 Análises cromatográficas

As análises foram realizadas em cromatógrafo gasoso HP 6890, acoplado a computador, com detector de fotometria de chama (FPD) e filtro para fósforo de 525nm. As condições analíticas foram: injetor a 150°C no modo split (50:1), pressão de 8,41 psi, vazão de 34,4mL/min, purga 29,8mL/min, gas saver a 20mL/min; coluna capilar modelo HP-5 com 5% de Fenil Metil Siloxano (30m x 320µm x 0,25µm), temperatura isotérmica de 150°C, vazão de N₂ constante de 2,0mL/min na pressão de 8,48 psi; detector a 150°C, H₂ a 150mL/min, ar 110mL/min, make up 60mL/min, injeção de 100µL.

2.4 Testes de resistência em *R. dominica* e *T. castaneum*

Testes de resistência foram realizados em 04 populações de *R. dominica* e em 06 de *T. castaneum*, coletadas em Unidades Armazenadoras do Estado de São Paulo. Essas populações foram mantidas e multiplicadas em dieta específica (MILLER et al., 1969) em laboratório.

2.5 Delineamento experimental

Os testes foram realizados utilizando-se a metodologia da FAO nº 16 (ANON., 1975), usando 2 repetições de 50 insetos de cada população testada e duas repetições da testemunha, a qual consistiu de uma população comprovadamente suscetível ao fumigante da espécie em teste. Os insetos devidamente contados foram confinados em béqueres de 100mL e transferidos para as câmaras de fumigação. Nos testes com *R. dominica*, os insetos foram colocados juntamente com pequena quantidade de grãos de trigo grosseiramente moído e nos testes com *T. castaneum* adicionou-se pequena quantidade de farinha de milho branca. Os testes com *R. dominica* incluíram telas de malha fina colocadas no topo dos béqueres, com o propósito de evitar a fuga dos insetos pelo vôo. Baseando-se no cálculo da concentração de fosfina (item 2.2), calculou-se o volume de gás a ser aplicado em cada dessecador, para a obtenção da concentração discriminante para a espécie (0,03mg/L para *R. dominica* e 0,04mg/L para *T. castaneum*), que é a concentração que elimina 99,9% dos insetos suscetíveis. As doses necessárias foram retiradas do gerador, utilizando-se seringas para gases, e injetadas no dessecador, através dos septos de silicone. Logo após a aplicação e 20 horas de exposição, mediu-se a concentração no interior dos dessecadores, comparando-se a área gerada pelo volume de fosfina retirado da câmara de fumigação e injetado em um cromatógrafo a gás com detector fotométrico de chama.

Fez-se a contagem de insetos vivos e mortos após a abertura dos dessecadores e após 14 dias, corrigindo-se a mortalidade por ABBOTT (1925).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Fosfina

O cromatograma típico e a curva-padrão de fosfina encontram-se na Figura 2. Conforme pode ser verificado, com o tempo de retenção da fosfina de 1,2 minutos pode-se realizar um grande número de análise em tempo reduzido. Entretanto, recomenda-se que entre as injeções seja obedecido um intervalo de dois minutos para evitar que ocorra saturação do detector, ocasionando leituras de áreas fora da sua faixa de linearidade.

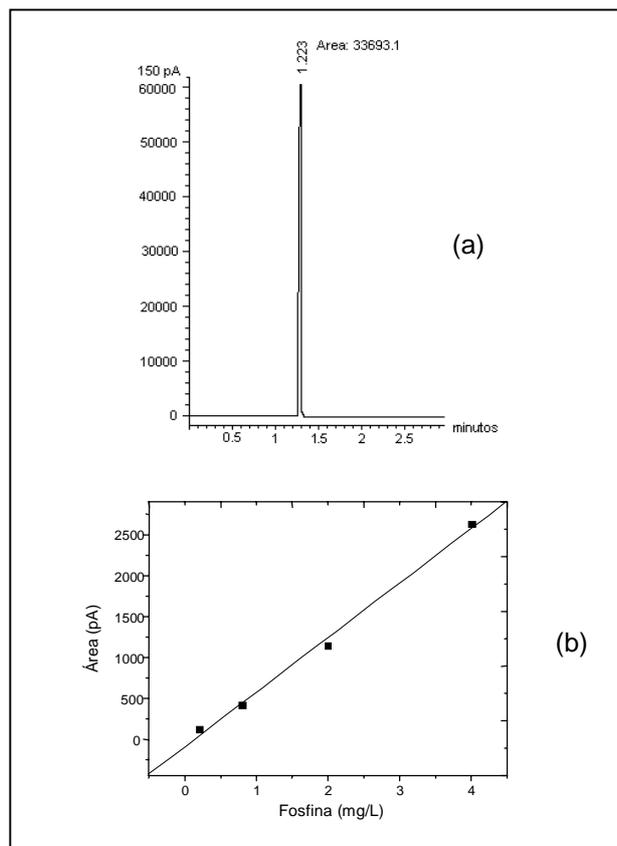


FIGURA 2. Cromatograma (a) e curva-padrão (b) de fosfina.

A diluição da fosfina foi realizada com a mistura deste gás com o ar confinado no dessecador. A injeção do ar atmosférico confinado no dessecador, utilizado como branco sem a presença de fosfina, não produziu pico interferente no cromatograma, durante o período de análise de 4 minutos. Assim, devido à seletividade do detector de fotometria de chama (FPD), apenas o pico da fosfina foi registrado quando esta foi diluída com ar atmosférico. Este aspecto é relevante, uma vez que picos interferentes podem se sobrepor ao pico da substância estudada ocasionando erro na sua dosagem. DUMAS (1969), utilizando metodologia de microdeterminação de fosfina na presença de ar, constatou a presença de pico interferente de oxigênio oito segundos após o tempo de retenção da fosfina, a partir de níveis acima de 15µg.

O gás fosfina em mistura com o ar atmosférico pode ser quantificado por várias metodologias. Em um destes métodos a fosfina, recolhida em solução alcoólica com cloreto de mercúrio, reage com esta substância produzindo ácido clorídrico que é titulado potenciometricamente com solução-padrão de hidróxido de sódio (BERCK, 1968). Em reação com solução de água de bromo ou permanganato de potássio, a fosfina é oxidada a fosfato, o qual é quantificado colorimetricamente como fosfomolibdato (MÜLLER, 1943, BRUCE et al., 1962). Estas metodologias são amplamente utilizadas, porém a fosfina é dosada indiretamente através de reações químicas com outras substâncias, envolvendo etapas demoradas e com menor sensibilidade, o que não ocorre com a metodologia empregada no presente trabalho. A quantificação direta da concentração de fosfina do presente ensaio, através da cromatografia gasosa com detector de fotometria de chama, é operacionalmente mais fácil e mais adequada para a detecção de resistência de insetos. Isto porque sendo o dessecador utilizado como câmara de fumigação e também como sistema de diluição da fosfina, as análises são realizadas com mais precisão.

Durante os processos de coleta e diluição do gás, devem-se verificar as vedações com borracha de silicone no tubo coletor, na tampa do dessecador e nas seringas *gastight*, porque são pontos do sistema susceptíveis de ocorrer vazamento. Na transferência de determinado volume de fosfina do tubo coletor para o dessecador, deve-se fazer a injeção neste recipiente com o embolo acionado lentamente para evitar pequenas faíscas desencadeadas pela pressão exercida sobre a fosfina inflamável.

3.2 Determinação da resistência dos insetos

Os dados de concentrações de fosfina logo após a aplicação do fumigante no final dos testes de resistência estão apresentados na Tabela 1. Os resultados de mortalidade obtidos das populações de *R. dominica* e *T. castaneum*, corrigidos, estão apresentados na Tabela 2.

TABELA 1. Concentrações de fosfina obtidas em testes com *R. dominica* e *T. castaneum*, logo após a aplicação (T_0) e após 20h de exposição (T_{20}).

Fosfina	Fosfina (mg/L) ^(a) /Espécies de Insetos			
	<i>R. dominica</i>	<i>R. dominica</i>	<i>T. castaneum</i>	<i>T. castaneum</i>
T_0	0,030 ± 0,001	0,030 ± 0,000	0,040 ± 0,000	0,040 ± 0,000
T_{20}	0,024 ± 0,000	0,027 ± 0,000	0,038 ± 0,000	0,036 ± 0,000

^(a) Os resultados são média de três determinações com desvio-padrão.

Verifica-se que nos experimentos realizados com *R. dominica* houve decréscimos de 20% e 10% nas concentrações finais de fosfina, em relação às concentrações iniciais aplicadas, enquanto nos testes com *T. castaneum* essas diferenças foram de 5% e 10%. Essas diferenças foram provavelmente ocasionadas pela adsorção física e química de fosfina pelo material colocado no interior dos béqueres inseridos nos dessecadores (alimento, insetos, telas de *nylon*) e/ou por

vazamentos ocorridos. Esses dados estão em conformidade com DUMAS (1980), que verificou para várias concentrações de fosfina, aplicada em trigo, que cerca de 10% foram adsorvidos e a quantidade de fosfina sorvida fisicamente aumentou com a quantidade do fumigante aplicado e com o tempo de exposição. Possivelmente a maior perda de concentração nos testes com *R. dominica* se deveu à adsorção pelas telas de *nylon*, que não foram usadas nos testes com *T. castaneum*.

Nota-se que todas as populações das duas espécies apresentaram resistência à fosfina, sendo que a frequência de indivíduos resistentes foi maior em *R. dominica*, cuja sobrevivência variou entre 82,3% e 100%, enquanto nas populações de *T. castaneum* essa frequência variou de 48,9% a 97,1%.

TABELA 2. Percentagens de mortalidades corrigidas de *R. dominica* e *T. castaneum* provenientes de diferentes localidades, obtidas em testes de resistência com concentrações discriminantes de PH_3 .

Espécie	Procedência	Substrato	Mortalidade (%)
<i>R. dominica</i>	Palmital	Arroz	0,00
<i>R. dominica</i>	Tatuí	Milho	17,71
<i>R. dominica</i>	S. J. Rio Preto	Milho	15,31
<i>R. dominica</i>	Tupã	Milho	0,00
<i>T. castaneum</i>	Palmital	Arroz	2,90
<i>T. castaneum</i>	Tatuí	Milho	51,14
<i>T. castaneum</i>	Tupã	Milho	3,30
<i>T. castaneum</i>	Tatuí	Trigo	47,24
<i>T. castaneum</i>	S. Joaquim Barra	Milho	34,02
<i>T. castaneum</i>	Goiânia	milho	6,59

Observando-se os dados do relatório anterior e dos levantamentos realizados por PACHECO et al. (1990) e SARTORI et al. (1990), nota-se presença de resistência em todas as populações já testadas de *R. dominica*, *S. oryzae*, *T. castaneum*, *Oryzaephilus surinamensis* e *Cryptolestes* spp, provenientes de diferentes Estados do Brasil. Apenas na espécie *S. oryzae* não se observou resistência à fosfina, não se conhecendo dados da literatura que indiquem resistência à fosfina nessa espécie.

4. CONCLUSÕES

A metodologia empregada para dosagem de fosfina mostrou-se de fácil aplicação quando se avalia a resistência de insetos a este gás.

Devido ao problema de resistência verificado neste estudo, conclui-se que se deve determinar a concentração de fosfina que causa mortalidade nas espécies a serem estudadas, de modo a possibilitar o uso da dosagem correta na fumigação.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP pelo financiamento do projeto (proc. 96/12687-3).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, Washington, **18**(2):265-267, 1925.
- ANON. Recommended methods for the detection and measurement of agricultural pests to pesticides. Tentative method for adults of some major beetle pests of stored cereals with methyl bromide and phosphine. FAO method n° 16. **FAO Plant Protection Bulletin**, **23**(1):12-24, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1975.
- BERCK, B. Potentiometric determination of phosphine. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, **16**(3):415-418, 1968.
- BRUCE, R.B., ROBBINS, A.J., TUFT, T.O. Phosphine residues from phostoxin-treated grains. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, **10**(1):18-21, 1962.
- CHAMP, B.R., DYTE, C.E. **Report of the FAO global survey of pesticide susceptibility of stored pests**. Rome, FAO, 297p., 1976.
- COLLINS, P.J., DAGLISH, G.J. Combating the evolution of strong resistance to phosphine in Australia. Abstracts of the **International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products**, Fresno, California, 2000, p.129.
- DUMAS, T. Microdetermination of phosphine in air by gas chromatography. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, **17**(6):1164-1165, 1969.
- DUMAS, T. Phosphine sorption and desorption by stored wheat and corn. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, **28**(2):337-339, 1980.
- HARRIS, A.H. A conductimetric method for determining the concentration of phosphine during fumigation, **Proceedings of the Gasga Seminar on Fumigation Technology, in Developing Countries**, Slough, London, TDRI, 1986, p.56-65.
- HESELTINE, H.K. A guide to fumigation with phosphine in the tropics. **Trop. Stored Prod. Inf.**, **24**:25-36, 1973.
- MILLER, A., PHILLIPS, R., CLINE, L.D. **Rearing Manual of Stored-product Insects Used by USDA Stored-product Research and Development Laboratory**. Savannah, **Stored Product Insect Research and Development Laboratory**, 1969, 36p.
- MILLS, K.A. Resistance to the fumigant hydrogen phosphide in some stored-product species associated with repeated inadequate treatments. **Communications of the German Association of General and Applied Entomology Meeting**, **4**:96-101, 1983.
- MILLS, K.A. Phosphine dosages for the control of resistant strains of insects, **Proceedings of the Gasga Seminar on Fumigation Technology in Developing Countries**, p.119-131, Slough, UK, 1986.
- MILLS, K. A. Phosphine-resistance-Where to now? Abstracts of the **International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products**, Fresno, California, 2000, p.128.
- MILLS, K.A., ATHIÉ, I. The development of a same-day test for the detection of resistance to phosphine in *Sitophilus oryzae* (L.) and *Oryzaephilus surinamensis* (L) and findings on the genetics of the resistance related to a strategy to prevent its increase, **Proceedings of the 7th International Working Conference on Stored-product Protection**, Beijing, China, 1998, **1**:594-602, 2000.
- MILLS, K.A., ATHIÉ, I. Control of immature stages of *Sitophilus oryzae* (L.) susceptible and resistant to phosphine, by phosphine fumigation. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, SP, **3**:171-176, 2000.
- MÜLLER, W. Arch. Hy. Bakteriol. 129, 286, 1943. Apud. BERCK, B. Potentiometric determination of phosphine. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, **16**(3):415-418, 1968.
- NAYAK, M.K., COLLINS, P.J. High level phosphine resistance in *Liposcelis bostrychophila*. Abstracts of the **International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products**, Fresno, California, 2000, p.130.
- PACHECO, I.A., SARTORI, M.R., TAYLOR, R.W.D. Levantamento de resistência de insetos-praga de grãos armazenados à fosfina no Estado de São Paulo. **Coletânea do ITAL**, Campinas, SP, **20**(2):144-154, 1990.
- SARTORI, M.R., PACHECO, I.A., VILAR, R.M.G. Resistance to phosphine in stored grain insects in Brazil I., **International Working Conference On Stored-Product Protection**, 5, Bordeaux, France, 1990. Proceedings... Bordeaux, France, 1990, 5, p.1041-1050.
- SAVVIDOU, N., MILLS, K.A., BELL, C.H., PACHECO, I.A. The development of a same-day test for detecting resistance to phosphine and its application to fumigation strategies, **Brighton Crop Protection Conference - Pests and Diseases**, Brighton, England 1994, p.449-456.
- SRIVASTAVA, J.L. Pesticide residue in food grains and pest resistance to pesticides. **Bulletin of Grain Technology**, **18**:65-76, 1980.
- TAYLOR, R.W.D. Response to phosphine of field strains of some insect pests of stored products, **Proceedings of the Gasga Seminar on Fumigation Technology in Developing Countries**, p.132-140, Slough, UK, 1986.
- TAYLOR, R.W.D. Phosphine: a major fumigant at risk International Pest Control, **Middlesex**, **31**(1):10-14, 1989.
- TYLER, P.S., TAYLOR, R.W., REES, D.P. Insect resistance to phosphine fumigation in food warehouses in Bangladesh. **International Pest Control**, **25**:10-13, 1983.
- ZETTLER, J.L. Phosphine resistance in stored product insects in the United States, **Proceedings of the 5th International Working Conference on Stored-Product Protection** (Edited by Fleurat-Lessar F. e Ducom P.), p.1041-1049. Bourdeaux, France, 1990.