

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**LUCAS COUTO DUARTE**

**NANOPARTÍCULAS E TERAPIA FOTODINÂMICA NO TRATAMENTO DE  
SEMENTES DE TRIGO**

**UBERLÂNDIA – MG  
FEVEREIRO – 2022**

**LUCAS COUTO DUARTE**

**NANOPARTÍCULAS E TERAPIA FOTODINÂMICA NO TRATAMENTO DE  
SEMENTES DE TRIGO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia,  
como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em  
Agronomia – Mestrado, para obtenção do título de “mestre” em  
Produção Vegetal.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Nilvanira Donizete Tebaldi

Coorientador: Prof. Dr. Hugo César Rodrigues Moreira Catão

**UBERLÂNDIA – MG  
FEVEREIRO – 2022**

**LUCAS COUTO DUARTE**

**NANOPARTÍCULAS E TERAPIA FOTODINÂMICA NO TRATAMENTO DE  
SEMENTES DE TRIGO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia,  
como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em  
Agronomia – Mestrado, para obtenção do título de “mestre” em  
Produção Vegetal.

Uberlândia, 23 de Fevereiro de 2022

Banca examinadora:

Presidente da Banca: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Nilvanira Donizete Tebaldi – UFU

Prof. Dr. Hugo César Rodrigues Moreira Catão – UFU

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Flavia Andrea Nery Silva – UFU

Dr.<sup>a</sup> Alessandra Keiko Nakasone - Embrapa Amazonia Oriental

**UBERLÂNDIA – MG  
FEVEREIRO – 2022**

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

D812 2022	<p>Duarte, Lucas Couto, 1995- Nanopartículas e terapia fotodinâmica no tratamento de sementes de trigo [recurso eletrônico] / Lucas Couto Duarte. - 2022.</p> <p>Orientadora: Nilvanira Donizete Tebaldi . Coorientador: Hugo César Rodrigues Moreira Catão. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Agronomia. Modo de acesso: Internet. Disponível em: <a href="http://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.142">http://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.142</a> Inclui bibliografia. Inclui ilustrações.</p> <p>1. Agronomia. I. , Nilvanira Donizete Tebaldi, 1970-, (Orient.). II. Catão, Hugo César Rodrigues Moreira, - , (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Agronomia. IV. Título.</p> <p>CDU: 631</p>
--------------	--

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
 Secretaria da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia  
 Rodovia BR 050, Km 78, Bloco 1CCG, Sala 206 - Bairro Glória, Uberlândia-MG, CEP 38400-902  
 Telefone: (34) 2512-6715/6716 - www.ppga.iciag.ufu.br - posagro@ufu.br



### ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Agronomia				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 006/2022, PPGAGRO				
Data:	Vinte e três de fevereiro de dois mil e vinte e dois	Hora de início:	08:30	Hora de encerramento:	11:10
Matrícula do Discente:	12012AGR012				
Nome do Discente:	Lucas Couto Duarte				
Título do Trabalho:	Nanopartículas e terapia fotodinâmica no tratamento de sementes de trigo				
Área de concentração:	Produção Vegetal				
Linha de pesquisa:	Controle e Manejo Integrado de Doenças				

Reuniu-se por videoconferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Agronomia, assim composta: Professores Doutores: Hugo Cesar Rodrigues Moreira Catão - UFU; Flavia Andrea Nery Silva - UFU; Alessandra Keiko Nakasone - EMBRAPA; Nilvanira Donizete Tebaldi - UFU orientadora do candidato.

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dra. Nilvanira Donizete Tebaldi, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Nilvanira Donizete Tebaldi, Professor(a) do Magistério Superior**, em 23/02/2022, às 11:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Flávia Andrea Nery Silva, Professor(a) do Magistério Superior**, em 23/02/2022, às 11:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Hugo Cesar Rodrigues Moreira Catão, Professor(a) do Magistério Superior**, em 23/02/2022, às 11:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alessandra Keiko Nakasone, Usuário Externo**, em 23/02/2022, às 11:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **3324793** e o código CRC **1E03D91B**.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela minha vida, e por me permitir ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo da realização deste trabalho.

Aos meus pais e minha noiva, por todo o apoio e pela ajuda, que muito contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos professores e aos técnicos de laboratório, por todos os conselhos, pela ajuda e pela paciência com a qual guiaram o meu aprendizado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos, que possibilitou a realização da pesquisa.

Aos meus colegas de turma, por compartilharem comigo tantos momentos de descobertas e aprendizado e por todo o companheirismo ao longo deste percurso.

A empresa FisioPlant na pessoa do Dr. Fernando Bacillieri, que contribuiu com insumos que foram fundamentais para o desenvolvimento da pesquisa que possibilitou a realização deste trabalho.

A todos que participaram, direta ou indiretamente do desenvolvimento deste trabalho de pesquisa, enriquecendo o meu processo de aprendizado.

“A ciência é muito mais do que um corpo de conhecimento. É uma maneira de pensar. E isso é fundamental para o nosso sucesso. A ciência nos convida a aceitar os fatos, mesmo quando eles não estão de acordo com nossos preconceitos. É uma ferramenta essencial para uma democracia, em uma era de mudança. Nossa tarefa não é apenas treinar mais cientistas, mas também aprofundar a compreensão pública da ciência.”

(Carl Sagan, 1990)



## RESUMO

DUARTE, L. C. **Nanopartículas e terapia fotodinâmica no tratamento de sementes de trigo**. 2022. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

O avanço do trigo (*Triticum* spp.) no cerrado brasileiro demonstra a importância da cultura, evidenciando a importância da utilização de sementes livres de patógenos. A nanotecnologia e a terapia fotodinâmica surgem como uma inovação tecnológica no controle de doenças de plantas. O presente trabalho teve como o objetivo avaliar a eficácia de nanopartículas e da terapia fotodinâmica na inibição do crescimento de *Alternaria alternata in vitro* e no tratamento de sementes de trigo, e na qualidade fisiológica e sanitária das sementes. O teste de fitossanidade realizado constatou a presença de muitos fungos que infectam as sementes, porém apenas *Alternaria alternata* se encontrou em níveis de incidência suficientes para avaliação efetiva do tratamento de sementes proposto para determinar a eficiência das nanopartículas (ZnOCl; ZnOCl 1Cu; ZnOCl 0,1Ag; ZnO 1Cu; ZnO; ZnO 1Ag) e dos corantes (azul de metileno e azul de toluidina) na inibição do crescimento micelial de *Alternaria alternata in vitro*. Discos de micélio de *A. alternata*, provenientes de sementes naturalmente infestadas, foram multiplicados em placas de Petri contendo o meio BDA e posteriormente transferidas para placas de Petri com os seus respectivos tratamentos. Para mensurar a eficiência das nanopartículas aplicadas diretamente sob as sementes, as mesmas foram tratadas com suas respectivas nanopartículas nas concentrações de 2,5 e 5 mg mL<sup>-1</sup>, carboxin + thiram e água salina (NaCl 0,45%). Na terapia fotodinâmica as sementes foram tratadas com os corantes azul de toluidina, azul de metileno e sua combinação, nas concentrações de 50 e 100 µmol L<sup>-1</sup> e irradiadas com luz LED, carboxin + thiram e água salina. Os aspectos fisiológicos avaliados foram germinação, emergência, IVG, IVE, envelhecimento acelerado e plântulas normais fortes, e a sanidade das sementes. Em todos os testes fisiológicos foram utilizadas 400 sementes de trigo por tratamento e 200 sementes no teste de sanidade. Os mesmos tratamentos, tanto para as nanopartículas como para a terapia fotodinâmica, foram realizados *in vitro* para mensurar a inibição do crescimento micelial de *A. alternata*. O uso de nanopartículas de ZnO:1Ag e da terapia fotodinâmica com a combinação do corante azul de toluidina + azul de metileno 100 µmol L<sup>-1</sup> foram eficientes na inibição do crescimento micelial de *Alternaria alternata in vitro*. Os tratamentos com nanopartículas e terapia fotodinâmica

não apresentaram toxicidade para as sementes de trigo, não afetando negativamente a qualidade fisiológica das sementes. A terapia fotodinâmica e as nanopartículas demonstraram enorme potencial de uso para o controle de patógenos em sementes.

**Palavras-chave:** Azul de metileno, azul de toluidina, nanopartículas de prata.

## ABSTRACT

DUARTE, L. C. **Nanoparticles and photodynamic therapy in the treatment of wheat seeds.** 2022. Dissertation (Master Degree in Crop Production) – Federal University of Uberlândia, Uberlândia.

The advance of wheat (*Triticum* spp.) in the Brazilian cerrado demonstrates the importance of the crop, evidencing the importance of using pathogen-free seeds. Nanotechnology and photodynamic therapy emerge as a technological innovation in the control of plant diseases. The present work aimed to evaluate the efficacy of nanoparticles and photodynamic therapy in inhibiting the growth of *Alternaria alternata* in vitro and the treatment of wheat seeds, on the physiological and sanitary quality of the seeds. The phytosanitary test performed verified the presence of many fungi that infect the seeds, but only *Alternaria alternata* was found at sufficient incidence levels for an effective evaluation for the proposed seed treatment to determine the efficiency of the nanoparticles (ZnOCl; ZnOCl 1Cu; ZnOCl 0.1Ag; ZnO 1Cu; ZnO; ZnO 1Ag) and dyes (methylene blue and toluidine blue) in the inhibition of mycelial growth of *Alternaria alternata* in vitro. *A. alternata* mycelium discs, from naturally infested seeds, were multiplied in Petri dishes containing PDA medium and later transferred to Petri dishes with their respective treatments. To measure the efficiency of the nanoparticles applied directly to the seeds, they were treated with their respective nanoparticles, at concentrations of 2.5 and 5 mg mL<sup>-1</sup>, carboxin + thi-ram and saline water (NaCl 0.45%). In photodynamic therapy the seeds were treated with toluidine blue, methylene blue and their combination, at concentrations of 50 and 100 µmol L<sup>-1</sup> and irradiated with LED light, carboxin + thi-ram and saline water. The physiological aspects evaluated were germination, emergence, IVG, IVE, accelerated aging and strong normal seedlings, and seed health. In all physiological tests 400 wheat seeds were used per treatment and 200 seeds in the sanity test. The same treatments for both nanoparticles and photodynamic therapy were performed in vitro to measure the inhibition of mycelial growth of *A. alternata*. The use of ZnO:1Ag nanoparticles and photodynamic therapy with the combination of toluidine blue + 100 µmol L<sup>-1</sup> methylene blue dye were efficient in inhibiting the mycelial growth of *Alternaria alternata* in vitro. The treatments with nanoparticles and photodynamic therapy showed no toxicity to the wheat seeds, not negatively affecting the physiological quality of the seeds. Photodynamic therapy and nanoparticles have shown enormous potential for use in controlling pathogens in seeds.

**Keywords:** Methylene blue, toluidine blue, silver nanoparticles.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
NPs	Nanopartículas
NPs ZnOCl	Nanopartículas de Oxido Cloreto de Zinco
NPs ZnO	Nanopartículas de Oxido de Zinco
NPs ZnO: 1 Ag	Nanopartículas de Oxido de Zinco dopadas com prata
NPs ZnOCl: 1Cu	Nanopartículas de Oxido Cloreto de Zinco dopadas com cobre
μmol	Micromol

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 A cultura do Trigo .....	13
2.2 Controle químico de patógenos em sementes.....	14
2.3 Nanopartículas e suas aplicações.....	16
2.4 Terapia fotodinâmica e suas aplicações .....	17
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	19
3.1 Avaliação da qualidade sanitária inicial de sementes de trigo .....	19
3.2 Inibição do crescimento micelial de <i>Alternaria alternata in vitro</i> com nanopartículas e terapia fotodinâmica .....	20
3.3 Tratamento das sementes de trigo com nanopartículas.....	21
3.3.1 Avaliação da qualidade fisiológica das sementes de trigo .....	22
3.4 Tratamento das sementes de trigo com azul de metileno e azul de toluidina - terapia fotodinâmica.....	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	23
4.1 Avaliação da qualidade sanitária inicial de sementes de trigo .....	23
4.2 Inibição do crescimento micelial de <i>Alternaria alternata in vitro</i> com nanopartículas e terapia fotodinâmica .....	24
4.3 Sementes de trigo tratadas com nanopartículas e terapia fotodinâmica no controle de <i>Alternaria alternata</i> .....	27
4.4 Tratamento das sementes de trigo com nanopartículas, azul de metileno e azul de toluidina, na qualidade fisiológicas das sementes.....	29
5. CONCLUSÕES .....	31
REFERÊNCIAS .....	32

## 1. INTRODUÇÃO

A cultura do trigo (*Triticum* spp.) é uma das mais antigas plantas cultiváveis, estando fortemente atrelada ao desenvolvimento da sociedade moderna (Abbate *et al.*, 2017). A demanda brasileira pelo consumo do trigo tende a crescer até o ano de 2028, chegando a 14,3 milhões de toneladas, com a necessidade de realizar a importação de aproximadamente 50% da demanda (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, 2019).

Em vista deste grande desafio de garantir a segurança alimentar brasileira, o cerrado se apresenta como área de expansão e adaptação da cultura do trigo. Este avanço sob o cerrado implica em muitos desafios produtivos, os quais serão contornados com o uso de tecnologias agrícolas de ponta (SOUZA; VIEIRA, 2020).

A perda produtiva do trigo ocasionada por doenças pode superar 60% nas condições climáticas da região Sul do Brasil (MACIEL *et al.* 2020). Uma das principais vias de disseminação de patógenos é por meio de sementes, sendo possível introduzir ou aumentar a quantidade de inóculo nas áreas de cultivo. Sementes livres de patógenos são fundamentais para alcançar uma grande produtividade (CORREA *et al.*, 2008).

As sementes são os meios eficientes de transmissão de patógenos, propiciando maiores chances de o patógeno causar doença nas plantas após a emergência e de se estabelecer na área produtiva. Em vista deste desafio, existe a necessidade dos produtores em utilizar sementes com boa qualidade sanitária (MENTEN *et al.*, 2005).

Quando não se tem acesso a sementes com alta qualidade fisiológica ou quando a semeadura é em áreas com grande quantidade de inóculo, o tratamento de sementes é a ferramenta de suma importância para a preservação do potencial produtivo da cultura. A principal forma de tratamento de sementes é por meio de produtos químicos, que possuem alta toxicidade tanto para o agricultor quanto para o meio ambiente (MENTEN; MORAIS, 2010). Em busca de alternativas viáveis e ambientalmente seguras para o tratamento de sementes, estudos com nanopartículas e terapia fotodinâmica tem ganhado relevância na última década, sendo tecnologias emergentes e com grande potencial de aplicação na agricultura (MATTOSO *et al.*, 2005).

A nanotecnologia é a ciência focada no desenvolvimento de estruturas em escala nanométrica, ou seja, de tamanho inferior a 100 micrometros ( $\mu\text{m}$ ). Estruturas nanométricas têm como principais características: alta tolerância as variações de

temperatura, de alterações em sua composição química e possui facilidade em interagir com membranas de microrganismos (SILVA et al., 2017). As nanopartículas possuem tais propriedades e são especialmente úteis no controle de microrganismos patogênicos, pois raramente geram resistência, permitindo uma maior longevidade de produtos que as contenham (BOTELHO et al., 2020).

A terapia fotodinâmica é um procedimento de longa data utilizado na área médica, no tratamento de doenças de pele, principalmente de câncer, utilizando corantes foto reativos entre os quais se destacam o azul de metileno e o azul de toluidina (ISSA; MANELA-AZULAY, 2010). Sua grande vantagem é a baixa quantidade de corante, representando baixo risco de toxicidade (KÜBLER, 2005). Sua capacidade de inativação é pouco específica, tendo capacidade de inativar uma ampla gama espécie microrganismos, ocasionando pouca ou nenhuma resistência, pois os corantes quando irradiados produzem oxigênio reativo que tem alta capacidade de desintegrar membranas e DNA (PERUSSI, 2007).

Tratamentos com nanopartículas e terapia fotodinâmica já demonstraram sua eficiência para algumas culturas e alvos biológicos conforme Mamede *et al.* (2022), Zancan e Tebaldi no controle de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* *in vitro* utilizando os corantes azul de metileno e azul de toluidina (2020) e Fraga *et al.* utilizando nanopartículas de óxido de zinco dopadas no controle de *Xanthomonas gardneri* em sementes de tomate (2021).

Diante do desafio de encontrar novas alternativas para o tratamento de sementes de trigo, o presente trabalho teve como o objetivo avaliar a eficácia de nanopartículas e da terapia fotodinâmica com o uso dos corantes azul de metileno e azul toluidina no tratamento de sementes, na qualidade fisiológica e sanitária das sementes de trigo.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 A cultura do Trigo**

A cultura do trigo (*Triticum* spp.) foi de máxima importância para o crescimento da sociedade. A partir de seu cultivo, foi possível produzir alimentos em grandes quantidades e consequentemente o aumento da população e a rápida evolução tecnológica (FEDERIZZI et al., 2005). O centro de origem do trigo é provavelmente nas proximidades dos rios Tigres e Eufrates no continente asiático há cerca de 10 mil anos a.C. (SCHEEREN et al., 2015).



O maior produtor de trigo do mundo é a União Europeia (154 milhões de toneladas), seguido pela China (133,5 milhões de toneladas) e em 3º lugar pela Índia (103,6 milhões de toneladas). O Brasil ocupa apenas a 16º lugar dentre os produtores mundiais, com uma produção de 5,4 milhões de toneladas (Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB, 2020).

A produção brasileira de trigo não é suficiente para suprir sua demanda interna de 12,2 milhões de toneladas, por conta disso o Brasil importou aproximadamente 4,9 milhões de toneladas em 2019. (ABITRIGO, 2020). A produtividade média dos últimos dez anos (2011-2021) foi de aproximadamente 2600 Kg ha<sup>-1</sup>e, sendo considerada uma baixa produtividade quando comparada ao potencial produtivo da cultura (CONAB, 2021).

A demanda interna brasileira por trigo tende a crescer até 2028 ao patamar de 14,3 milhões de toneladas, entretanto, a produção brasileira de trigo atingirá somente 7,2 milhões de toneladas. A franca expansão da cultura do trigo brasileiro ocorrerá no cerrado brasileiro, local onde a cultura se adaptou muito bem, porém enfrentará grandes desafios para o seu estabelecimento (SOUZA; VIEIRA, 2020).

Muitos são os fatores que podem ser apontados como os responsáveis pela baixa produtividade da cultura do trigo, como por exemplo: pragas, doenças, baixa nutrição da planta, plantas invasoras e zoneamento climático (SILVA, 2018). Porém as doenças que afetam a cultura do trigo têm se destacado como um grande desafio para a expansão da cultura, pois afetam tanto a produtividade como a qualidade dos grãos de trigo, representando uma perda de até 44,6% no rendimento dos grãos. (PICININI; FERNANDES, 2003).

Existem inúmeros patógenos que são transmitidos pelas sementes de trigo com potencial de causar severos danos para a cultura. Os principais fungos contaminantes das sementes de trigo são: *Bipolaris sorokiniana*, *Drechslera tritici-repentis*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium graminearum*, *Alternaria alternata* e *Cladosporium cladosporioides*. (KOBAYASTI; PIRES, 2011). Sendo assim, é primordial o uso de sementes isentas de patógenos.

## **2.2 Controle químico de patógenos em sementes**

Os fungicidas representaram uma verdadeira revolução na agricultura, permitindo o controle de doenças que tinham capacidade de destruir todo o potencial produtivo da lavoura (REIS et al, 2019).

Quando o agricultor não possui acesso a sementes isentas de patógenos ou quando existe muito inóculo primário na área de plantio, o tratamento de sementes é a principal ferramenta para proteção contra os patógenos. O tratamento de sementes representa um dos menores custos produtivos, sendo altamente recomendado para se obter maior proteção contra patógenos de sementes (MACHADO, 2000).

O tratamento de sementes não é uma prática agrícola relativamente nova, o primeiro registro a respeito do tratamento de sementes data por volta do ano 60 d.C. no antigo Império Romano. Era recomendado que os agricultores mergulhassem as sementes de trigo em vinho ou suco de ciprestes para controle do míldio no trigo (MENTEN; MORAIS, 2010).

A partir do século XX foram criadas novas moléculas fungicidas, que passaram a ser utilizadas no tratamento de sementes. Na década de 30, surgiram moléculas do grupo dos ditiocarbamatos e dos heterocíclicos. Na década de 60 surgiram os grupos dos benzimidazóis e dos triazóis, ambos ainda muito utilizados atualmente para o tratamento de sementes. O tratamento de sementes mais utilizado no Brasil é o químico, por conta de sua eficiência e praticidade (MENTEN; MORAIS, 2010).

Os fungicidas possuem atuações em inúmeras estruturas celulares e ciclo bioquímicos dos fungos, afetando ciclos metabólicos essenciais para sua sobrevivência. Os fungicidas mais modernos têm como características mais relevantes o seu baixo efeito tóxico para os seres humanos e o meio ambiente e sua alta especificidade para com o patógeno (GHINI; KIMATI, 2000). O conhecimento do mecanismo de ação presente em fungicidas utilizados no tratamento de sementes é importante para que exista o uso racional do tratamento químico.

Os fungicidas podem ser divididos em diversas categorias e grupos, entretanto, serão destacados os principais fungicidas que são aplicados em sementes (REIS et al, 2019). Para o tratamento de sementes de trigo temos relativamente poucos fungicidas em comparação com outras culturas como milho e soja. Os dois grupos de fungicidas mais relevantes no tratamento de sementes de trigo são:

**a) Thiram.** Este fungicida pertence ao grupo dos ditiocarbamatos, atuando na inibição da síntese de enzimas, proteínas e aminoácidos, tendo uma ação multissítio. Sua classificação FRAC (Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas) é M3.

**b) Carboxina.** Pertence ao grupo das carboxamidas, tendo atuação na inibição de uma flavoproteína chamada succinato-desidrogenase. Esta proteína é ligada a

membrada mitocondrial, atuando tanto no ciclo de Krebs como na cadeia respiratória. Sua classificação FRAC 7.

### 2.3 Nanopartículas e suas aplicações

O trigo é o susceptível a inúmeros patógenos que são fungos e muitos deles infectam diretamente as sementes de trigo e podem ocasionar enormes danos para a cultura. A principal forma de controle destes patógenos é o tratamento químico com fungicidas, porém, esses agentes químicos possuem um alto poder de toxicidade tanto para quem administra tais produtos quanto para a biodiversidade em geral (SAVI et al., 2019).

Em vista de tais desafios tanto de saúde pública e de preservação da biodiversidade, faz-se necessário encontrar novos métodos de tratamento de sementes que sejam eficientes e de baixo impacto toxicológicos. As nanopartículas tem se destacado no controle fúngico em alimentos, pois não apresentam toxicidade para os seres humanos em baixas doses (SAVI et al., 2015).

A nanotecnologia é uma tecnologia de ponta em vários campos da ciência moderna do século XXI, permitindo a criação de estruturas e materiais com escala inferior a 100 nanômetros. É amplamente utilizada na área da medicina, principalmente no tratamento de câncer e diagnóstico de doenças (HIGA, 2019). Outra utilidade para esses nano materiais é o seu efeito fungicida e antibiótico, com amplo potencial de impedir que estes microrganismos criem resistência (MAHENDRA et al., 2017).

As nanopartículas de elementos metálicos possuem inúmeras propriedades de alto interesse como: alta tolerância às variações de temperatura e de alterações em sua composição química. Além disso, as nanopartículas possuem grande área superficial o que facilita a interação com membranas dos microrganismos (SILVA et al., 2017).

Nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) são as que apresentam grande estabilidade química e térmica. Suas características intrínsecas são muito visadas quando se escolhe uma nanopartícula, pois o seu comportamento será uniforme em diferentes situações (ZHANG et al., 2007).

Nanopartículas metálicas já foram utilizadas no controle de fungos do gênero taxonômico *Candida*. Nanopartículas de prata são excelentes agentes fungistáticos, inibindo assim o crescimento e proliferação de estruturas fúngicas. Apresentaram baixa toxicidade para mamíferos, porém ainda se desconhece seu completo mecanismo de ação que promove o controle fúngico (BALLOTTIN et al.; 2017).

Outra formulação de nanopartículas que demonstraram alta eficiência no controle de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris in vitro* foram as de nanopartículas ZnO dopadas com prata, ouro, cobre, ferro, manganês e níquel (ZANCAN; TEBALDI, 2020). Nanopartículas de ZnO dopadas com manganês e cobre foram capazes de reduzir a severidade da mancha branca, causada por *Pantoea ananatis* na cultura do milho (MAMEDE et al., 2022).

Nanopartículas de ferrita de bário (BaFe) sintetizadas a partir do extrato de cálamus-aromático (*Acorus Calamus*) foram eficientes no controle de fungos fitopatogênicos *in vitro*, apresentando uma eficiência de inibição do crescimento micelial acima de 70% para *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Marssonina rosae*. As principais vantagens destas nanopartículas é o seu processo de síntese ser considerado de baixo custo, ecologicamente sustentável e seguro, podendo ser aplicadas em produtos naturais (THAKUR et al., 2020).

Nanopartículas de ZnO formuladas a partir de cinamomo (*Melia azedarach*) foram eficientes no controle dos fungos *Cladosporium cladosporioides* e *Fusarium oxysporum* em sementes de soja. Estas nanopartículas nomeadas de MaZnO, foram eficientes na inibição de ergosterol, presente na membrana plasmática fúngica, sendo recomendado para o tratamento de sementes de soja (LAKSHMEESHA et al, 2020).

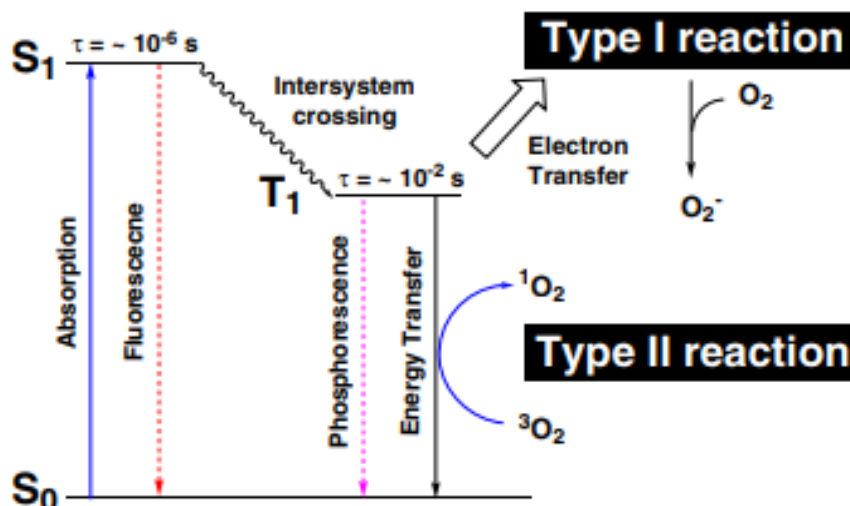
Dessa forma, constata-se que as nanopartículas metálicas são eficientes de no controle de doenças fúngicas e bacterianas em plantas. Portanto, faz-se necessário ampliar a gama de patógenos que são comprovadamente controlados por nanopartículas metálicas.

## **2.4 Terapia fotodinâmica e suas aplicações**

A terapia fotodinâmica é um procedimento de longa data bastante utilizado na área médica. É amplamente utilizado para tratamento de doenças de pele, tendo como grande exemplo o psoraleno juntamente com a luz ultravioleta A. Essa técnica é utilizada no tratamento de linfoma cutâneo de células T (ISSA; MANELA-AZULAY, 2010).

O tratamento com a terapia fotodinâmica funciona de maneira relativamente simples, na qual se utiliza um corante que reage a determinados comprimentos de onda de luz e uma fonte de luz que possui a capacidade de ativar esse corante. Com a ativação das moléculas do corante pela luz, esse corante transfere elétrons para o oxigênio molecular gerando desta forma moléculas de oxigênio reativo (*singlete*) que

possui alto poder de destruir estruturas celulares (MACHADO, 2000). O esquema a seguir demonstra o funcionamento da terapia fotodinâmica:



**Figura 1** – Mecanismo de ação da terapia fotodinâmica (YOON; JANG, 2013).

A grande vantagem de se utilizar a terapia fotodinâmica em tratamentos médicos é a sua ação local, geralmente não trazendo grandes prejuízos para estruturas adjacentes ao ponto alvo. O corante é utilizado em baixas quantidades, representando baixo risco de toxicidade, além disso, a terapia fotodinâmica é utilizada em tumores que possuem resistência a outras terapias ou formas de controle (KÜBLER, 2005).

Os corantes de maior interesse para serem utilizados na fototerapia são aqueles que não possuem toxicidade ou possuem baixa toxicidade. Porém, quando irradiados com uma fonte de luz específica são ativados e fornecem elétrons para o oxigênio reativo. Em organismos procariotos geralmente a fototerapia possui maior eficiência, pois não há presença da carioteca (membrana que envolve o núcleo), dessa forma o DNA é destruído com maior facilidade. Entretanto, o oxigênio reativo tem o poder de destruir outras estruturas celulares como mitocôndria e lisossomos (CALZAVARA-PINTON et al., 2012).

Existem inúmeros corantes sensíveis a luz que são utilizados na terapia fotodinâmica, dentre eles os de maiores relevâncias são: azul de metileno, azul de toluidina, azul de dimetileno, corantes do grupo das porfirinas, grupo das clorinas e grupo das cianinas (BASKARAN et al., 2018).

Na área agrícola o número de estudos envolvendo o uso de terapia fotodinâmica vem crescendo nos últimos anos. FERREIRA et al. (2021) demonstrou que o uso de

azul de metileno e azul de toluidina proporcionaram uma redução significativa da quantidade de *Xanthomonas gardneri* em sementes de tomate.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Bacteriologia Vegetal (LABAC), no Laboratório de Sementes (LASEM) e na Casa de Vegetação, do Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG), da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Campus Umuarama, em Uberlândia, Minas Gerais.

As sementes de trigo, cultivar TBio Toruk, foram produzidas na safra de 2019, com colheita em outubro na área experimental da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus Dracena (21°46'18"S, 51°55'47"W, 421 m) no município de Dracena no estado de São Paulo. O lote de sementes utilizadas no momento dos experimentos possuía as seguintes características: 11,5% de umidade, 97,5% de germinação, 87,0% de emergência e 93,0% de plântulas normais fortes e com 92% de infestação por *Alternaria alternata*.

As nanopartículas de ZnO, ZnO: 1Ag, ZnO: 1Cu, ZnOCl, ZnOCl: 0,1Ag e ZnOCl: 1Cu foram sintetizadas no Laboratório de Novos Materiais Isolantes e Semicondutores (LNMIS), do Instituto de Física da UFU.

#### 3.1 Avaliação da qualidade sanitária inicial de sementes de trigo

Para avaliação da qualidade sanitária das sementes de trigo foi realizado o teste de papel filtro. As sementes foram colocadas sobre duas folhas de papel mata borrão umedecido com água destilada e autoclavada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel, em caixas tipo gerbox (12 cm; 12 cm; 5cm) mata borrão. Foram utilizadas 200 sementes de trigo, com quatro repetições de 50 sementes. As caixas foram incubadas em B.O.D (demanda bioquímica de oxigênio) a temperatura de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , por 24 horas, com alternância de 12 horas de luz e doze horas de escuro. Após este período as caixas foram transferidas para um congelador a  $-20 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24 horas e posteriormente incubadas  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  por 7 dias na B.O.D.

Após o período, as sementes foram examinadas com o auxílio de um microscópio estereoscópico (aumento de até 60 vezes) e em um microscópio óptico comum (aumento de até 200 vezes), identificando-se e quantificando em porcentagem a incidência de fungos presentes nas sementes.

Para a qualidade sanitária das sementes tratadas com nanopartículas e na terapia fotodinâmica foi utilizada a mesma metodologia descrita acima.

### **3.2 Inibição do crescimento micelial de *Alternaria alternata* in vitro com nanopartículas e terapia fotodinâmica**

Para determinar a eficiência das nanopartículas e dos corantes azul de metileno e azul de toluidina na inibição do crescimento micelial de *Alternaria alternata*, esporos de *A. alternata*, provenientes de sementes naturalmente infestadas foram multiplicados, em placas de Petri contendo o meio BDA (batata, dextrose, agar) a 28 °C, por 7 dias. Posteriormente foram destacados discos do meio de aproximadamente 5 mm de diâmetro, contendo micélio do fungo.

Dois experimentos foram realizados separadamente, um para avaliação da eficiência na inibição do crescimento micelial com nanopartículas e outro com os corantes azul de toluidina e azul de metileno. Tanto as nanopartículas como os corantes avaliados, foram colocados sobre o meio BDA (1 mL da solução de cada tratamento) e homogeneizados com auxílio da alça de Drigalski. Posteriormente os discos contendo micélio de *A. alternata* foram colocados sobre o meio com o respectivo tratamento.

As placas de Petri contendo BDA e seus respectivos tratamentos com nanopartículas (ZnO, ZnO: 1Ag, ZnO: 1Cu, ZnOCl, ZnOCl: 0,1Ag, ZnOCl: 1Cu) na concentração 5 mg mL<sup>-1</sup>, thiram + carboxina (tratamento químico) e a aplicação de água destilada (testemunha), foram colocados os discos de micélios de *A. alternata* e incubados a 28 °C por 7 dias.

Nas placas de Petri com os corantes azul de metileno, azul de toluidina e a combinação entre azul de metileno + azul de toluidina, nas concentrações 50 e 100 µmol L<sup>-1</sup>, foram irradiadas com a luz LED durante 20 minutos, thiram e carboxin (tratamento químico) e a aplicação de solução de NaCl 0,45% (testemunha), foram colocados os discos de micélios e incubadas a 28 °C por 7 dias.

Posteriormente foi aferida a porcentagem de inibição do crescimento micelial de *A. alternata*, utilizando-se a fórmula (NASCIMENTO et al., 2013):

$$PIC = \frac{C - T}{C} \times 100$$

Onde:

PIC = Porcentagem de inibição do crescimento micelial

C = Diâmetro da testemunha (mm)

T = Diâmetro do tratamento (mm)

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições, 8 tratamentos (6 nanopartículas, água destilada e carboxin + thiram) e um arranjo fatorial  $3 \times 2 + 2$  (3 corantes  $\times$  2 concentrações + 2 adicionais). Os dados foram submetidos ao teste de normalidade (Kolmogorov-Smirnov correção de Lilliefors) e ao teste de homogeneidade (Levene). As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade utilizando o software RStudio (2015).

### 3.3 Tratamento das sementes de trigo com nanopartículas

As sementes de trigo cultivar Tbio Toruk infestadas naturalmente com *Alternaria alternata* foram tratadas com seis nanopartículas (ZnOCl, ZnOCl:1Cu, ZnOCl:0,1Ag, ZnO, ZnO:1Ag e ZnO 1:Cu), Thiram + Carboxina (Vitavax<sup>®</sup>) e a água destilada (testemunha).

As nanopartículas foram diluídas na proporção de 2,5 mg mL<sup>-1</sup> e 5 mg mL<sup>-1</sup> em água destilada. Para o tratamento químico, foi utilizada a dose recomendada em bula (300 mL/100kg de sementes). As sementes foram submergidas em seu respectivo tratamento por 10 minutos e secas sobre papel filtro com auxílio do fluxo laminar. A qualidade sanitária das sementes de trigo foi avaliada conforme descrito nos itens 3.1. e 3.2.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), sendo os dados submetidos ao teste de normalidade (Kolmogorov-Smirnov correção de Lilliefors) e ao teste de homogeneidade (Levene). As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade utilizando o software RStudio (2015).

### 3.4 Tratamento das sementes de trigo com azul de metileno e azul de toluidina - terapia fotodinâmica

As sementes de trigo foram tratadas com os corantes azul de metileno, azul de toluidina e a combinação entre azul de metileno + azul de toluidina, nas concentrações 50 e 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e irradiadas com uso de uma luz LED. Os tratamentos testemunha foram a aplicação de solução salina (NaCl a 0,45%) e Thiram + Carboxina (Vitavax<sup>®</sup>).

As sementes de trigo foram colocadas em placas de Petri e adicionados 20 mL de cada corante ou da solução de NaCl 0,45%. Para o tratamento químico, foi utilizada a dose recomendada em bula (300 mL 100 Kg<sup>-1</sup> de sementes). Foram utilizadas 200



sementes por cada tratamento. As placas foram incubadas por 20 minutos a  $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Em seguida as sementes foram irradiadas com luz LED (fonte de iluminação foi o equipamento AMS-II de alta potencial, com comprimento de onda de 652 nm) durante 20 minutos. Sendo avaliada a qualidade fisiológica e sanitária das sementes. A qualidade sanitária das sementes de trigo foi avaliada conforme descrito nos itens 3.1

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), sendo os dados submetidos ao teste de normalidade (Kolmogorov-Smirnov correção de Lilliefors) e ao teste de homogeneidade (Levene). As medias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade utilizando o software RStudio (2015).

### **3.5 Avaliação da qualidade fisiológica das sementes de trigo**

Para avaliação da germinação das sementes de trigo foram utilizadas 200 sementes de cada tratamento, com 4 repetições de 50 sementes cada. Foram feitos rolos com duas folhas de papel para germinação, foram umedecidos com água destilada com 2,5 vezes o seu peso e cada rolo de sementes foi alocado no germinador ajustado à temperatura de  $20\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 8 dias. Foram consideradas como germinadas, todas as sementes com protusão radicular. Os resultados foram expressos em porcentagem (%) de germinação (BRASIL, 2009).

Para avaliação de emergência de plântulas, as sementes tratadas foram semeadas em bandejas na casa de vegetação, com substrato de areia em sua capacidade de campo. Para a avaliação foram utilizadas 200 sementes de cada tratamento, com 4 repetições de 50 sementes. Em cada canteiro foram feitos sulcos de 3 cm de profundidade e espaçamento de 5 centímetros entre sulcos e 50 sementes por sulco, durante 10 dias. Os resultados obtidos foram expressos em porcentagem (%) de emergência de plântulas (BRASIL, 2009).

Para a determinação do índice de velocidade de germinação (IVG) os mesmos rolos do teste de germinação foram avaliados diariamente durante 8 dias e para a determinação do índice de velocidade de emergência (IVE) as sementes foram avaliadas nas badejas com areia durante 10 dias (BRASIL, 2009).

O IVG e o IVE foram determinados por meio da seguinte formula (Maguire, 1962):

$$IV = \frac{N1}{D1} + \frac{N2}{D2} + \dots + \frac{Nn}{Dn}$$

Onde:

IVE = velocidade de germinação ou emergência de plântulas

N = número de plantas da contagem;

D = número de dias após a semeadura

O teste de plântulas normais fortes foi utilizado para avaliar o vigor das sementes. Após o oitavo dia do início do teste de germinação, foi realizado o registro das plântulas com aspecto normal. Dentro das plântulas normais, elas foram classificadas em normais fortes. O resultado foi expresso em porcentagem (%) (NAKAGAWA et al., 1999).

Para o teste de envelhecimento acelerado, foram utilizadas 600 sementes de trigo de cada tratamento, distribuídas uniformemente em uma malha de aço inoxidável dentro de cada gerbox, formando uma camada simples. Foram adicionados em cada gerbox 40 mL de água destilada e levados para a câmara de envelhecimento precoce a  $43 \pm 1$  °C por 48 horas (OHLSON et al., 2010). Em seguida foi realizado o teste de germinação, como descrito anteriormente.

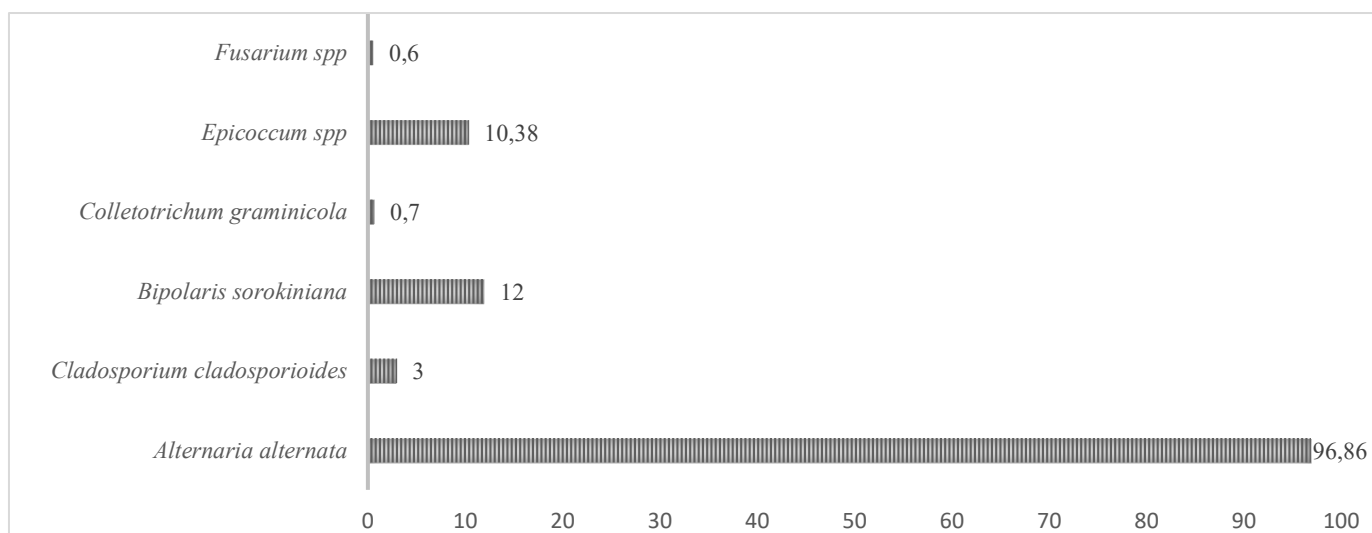
O delineamento experimental utilizado para todos os testes fisiológicos, foi o de blocos casualizados (DBC), com quatro repetições, sendo  $6 \times 2 + 2$  (6 nanopartículas x 2 concentrações + 2 adicionais), sendo os dados submetidas ao teste de normalidade (Kolmogorov-Smirnov correção de Lilliefors) e ao teste de homogeneidade (Levene). As medias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade utilizando o software RStudio (2015).

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Avaliação da qualidade sanitária inicial de sementes de trigo**

Na avaliação da qualidade sanitária inicial de sementes de trigo (Gráfico 1) foram identificados os seguintes fungos: *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Bipolaris sorokiniana*, *Colletotrichum graminicola*, *Epicoccum* spp. e *Fusarium* spp. KOBAYASTI e PIRES (2011) constataram que as sementes de trigo são hospedeiras de mais de 20 gêneros de fungos dentre eles: *Bipolaris* spp., *Fusarium* spp. e *Pyricularia* spp., sendo indispensável o uso de sementes livres de patógenos.

**Gráfico 1.** Índice de infestação de patógenos presentes nas sementes de trigo (%).



Porém apenas *Alternaria alternata* se encontrou em níveis de incidência suficientes para avaliação efetiva do tratamento de sementes proposto, com infestação de aproximadamente 97% das sementes. A *Alternaria alternata* agente causal da ponta negra em sementes de trigo é um fungo cosmopolita, tendo capacidade de infectar e disseminar em diversas espécies vegetais e causar prejuízos que inviabilizam a capacidade produtiva das espécies vegetais atingidas o (XIAO et al., 2012).

#### **4.2 Inibição do crescimento micelial de *Alternaria alternata* in vitro com nanopartículas e terapia fotodinâmica**

As nanopartículas apresentaram razoável eficiência no controle de *A. alternata* in vitro (Tabela 1), sendo que todas apresentaram certo nível de inibição do crescimento micelial, destacando-se a nanopartícula de ZnO: 1Ag. Entretanto, nenhuma das nanopartículas inibiu o crescimento micelial, quando em comparação com o tratamento químico com carboxin + thiram.

MENDES et al. (2015) encontrou resultados similares, ao utilizar nanopartículas de prata na concentração de  $180 \mu\text{g mL}^{-1}$ , alcançando índice de controle superior a 90% para fungos do gênero *Phomopsis* spp, provavelmente destruindo a membrana celular do fungo. THAKUR et al. (2020) demonstraram que o uso de nanopartículas de ferrita de bário (BaFe) foi eficaz na inibição do crescimento micelial de *A. alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Marssonina rosae*.

**Tabela 1.** Inibição do crescimento micelial de *Alternaria alternata* com diferentes nanopartículas.

Tratamentos	Inibição do crescimento micelial (%)
ZnO	39 d
ZnO: 1Ag	79 b
ZnO: 1Cu	57 c
ZnOCl	69 c
ZnOCl: 0,1Ag	48 d
ZnOCl: 1Cu	42 d
Carboxin + Thiram	95 a
Testemunha	0 e
CV (%)	15,38

Médias seguidas por letras distintas minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

A terapia fotodinâmica demonstrou ser eficiente na inibição do crescimento micelial de *A. alternata in vitro* (Tabela 2). O tratamento com azul de toluidina + azul de metileno  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  obteve um percentual de inibição micelial de 87%. Desempenho estatisticamente igual ao do tratamento com carboxin + thiram (95% de inibição).

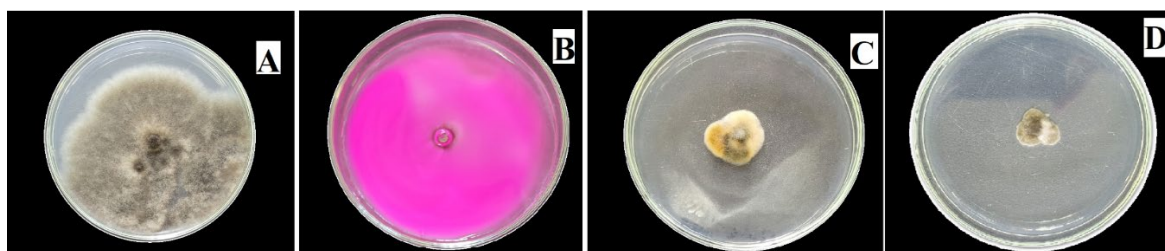
LÓPEZ-CHICÓN et al. (2016) encontrou resultados similares, onde o azul de metileno foi eficaz no controle do fungo *Trichophyton mentagrophytes*, porem algumas cepas se demonstraram resistentes a terapia fotodinâmica. O estudo apontou que seres eucariotos com maiores dimensões, conseguem mitigar os efeitos do oxigênio reativo gerado pela terapia fotodinâmica, explicando a alta eficácia em algumas cepas e a baixa eficiência em outras cepas.

**Tabela 2.** Inibição do crescimento micelial de *Alternaria alternata* *in vitro* na presença de azul de metileno e azul de toluidina.

Tratamentos	Inibição do crescimento micelial (%)
Azul de Metileno 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$	57 c
Azul de Metileno 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$	70 b
Azul de Toluidina 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$	65 b
Azul de Toluidina 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$	59 c
Azul de Toluidina + Azul de Metileno 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$	71 b
Azul de Toluidina + Azul de Metileno 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$	87 a
Carboxim + Thiram	95 a
Testemunha (NaCl)	0 d
CV (%)	9,1

Médias seguidas por letras distintas minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Atividade antifúngica *in vitro* (Figura 2) pelo tratamento químico (B) (carboxin + thiram), inibindo o crescimento micelial (99%) de *A. alternata*. O tratamento com nanopartículas (C) (ZnO: 1Ag) demonstrando elevada eficácia na inibição do crescimento micelial (79%) do fungo, quando comparado com a testemunha (A). Dentre os tratamentos alternativos, a combinação dos corantes azul de toluidina + azul de metileno 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , apresentou alto nível de controle do crescimento micelial (87%).



**Figura 2.** Crescimento micelial de *Alternaria alternata* em meio de cultura BDA (A). Inibição do crescimento fúngico no meio contendo carboxin + thiram (B), nanopartícula

de ZnO: 1Ag (C) e na presença de azul de toluidina + azul de metileno 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (D).

#### 4.3 Sementes de trigo tratadas com nanopartículas e terapia fotodinâmica no controle de *Alternaria alternata*

O tratamento com nanopartículas (Tabela 3) apresentaram bons índices no controle de *A. alternata*, alcançando até 51% de controle do fungo nas sementes. O tratamento com Carboxin + Thiram apresentou 99% de controle de *Alternaria alternata* em sementes naturalmente infestadas, erradicando quase a totalidade dos patógenos presentes nas sementes de trigo.

VILLAMIZAR-GALLARDO et al. (2016) encontrou resultados similares, onde o uso de nanopartículas de prata foi eficiente no controle do fungo *Aspergillus flavus*, porem a eficácia foi reduzida quando os fungos adentraram o tecido vegetal. Uma possível solução apontada foi a biossíntese de nanopartículas de prata que favoreceria o efeito fungicida por meio dos ligantes biológicos presentes nestas partículas.

Uma hipótese para o baixo desempenho das nanopartículas no controle de *A. alternata* em sementes quando comparados com testes *in vitro*, deve-se provavelmente a baixa uniformidade de aderência das nanopartículas na superfície das sementes de trigo.

**Tabela 3.** Incidência e controle de *Alternaria alternata* em sementes de trigo naturalmente contaminadas tratadas com nanopartículas.

Tratamentos	Incidência (%)		Controle (%)	
	2,5 mg mL <sup>-1</sup>	5 mg mL <sup>-1</sup>	2,5 mg mL <sup>-1</sup>	5 mg mL <sup>-1</sup>
ZnO	55 bA	61 bA	41 bA	34 bA
ZnO: 1 Ag	51 bA	65 bA	45 bA	51 bA
ZnO: 1 Cu	66 bA	54 bA	28 bA	41 bA
ZnOCl	55 bA	60 bA	40 bA	35 bA
ZnOCl: 0,1 Ag	66 bA	57 bA	28 bA	38 bA
ZnOCl: 1 Cu	55 bA	58 bA	40 bA	37 bA
Carboxin + Thiram	1 a		99 a	
Testemunha (NaCl)	92 c		0 c	
CV (%)	18,87			

Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Os corantes utilizados na terapia fotodinâmica (Tabela 4) demonstraram elevado índice de controle (acima de 50%) demonstrando potencial como ferramenta de manejo da *Alternaria alternata*. Os tratamentos: azul de toluidina 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (69% de controle), azul de metileno 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (71% de controle), azul de Metileno 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (62% de controle) e azul de toluidina + azul de metileno 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (75% de controle) demonstraram eficácia na inibição de *Alternaria alternata* em sementes naturalmente infestadas.

ROSSONI *et al.* (2008) encontrou resultados similares em reduzir a incidência de *Candida albicans* utilizando o corante azul de metileno e azul toluidina, sugerindo que estes dois corantes possuem uma interação maior com a membrana celular fúngica, quando em comparação com outros corantes como verde de malaquita. PAZIANI (2021) obteve bons índices controle de fungos do gênero *Fusarium* spp. utilizando terapia fotodinâmica com fotossensibilizadores fenotiazínicos, onde foram verificados severos danos nas estruturas das membranas dos fungos causadas pelo oxigênio reativo.

**Tabela 4.** Incidência e controle de *Alternaria alternata* em sementes de trigo naturalmente contaminadas, tratadas com a terapia fotodinâmica.

Tratamentos	Incidência (%)	Controle (%)
Azul de Metileno 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$	34 b	62 b
Azul de Metileno 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$	26 b	71 b
Azul de Toluidina 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$	64 d	28 d
Azul de Toluidina 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$	28 b	69 b
Azul de Toluidina + Azul de Metileno 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$	44 d	51 c
Azul de Toluidina + Azul de Metileno 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$	22 b	75 b
Carboxin + Thiram	1 a	99 a
Testemunha (NaCl)	89 d	0 d
CV (%)		21,73

Médias seguidas por letras distintas minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

#### 4.4 Tratamento das sementes de trigo com nanopartículas, azul de metileno e azul de toluidina, na qualidade fisiológicas das sementes

Os corantes azul de toluidina e azul de metileno utilizados na terapia fotodinâmica não apresentaram efeito tóxico para as sementes de trigo. As sementes tratadas com os corantes (Tabela 5) e a testemunha (NaCl 0,45%) não diferiram estatisticamente nos critérios avaliados germinação, emergência, IVG, IVE e porcentagem de plântulas normais fortes. FERREIRA (et al., 2021) encontrou resultados semelhantes, onde os corantes azul de metileno e azul de toluidina, não apresentaram efeito deletério nos aspectos fisiológicos de sementes de tomate.

No teste de envelhecimento acelerados observou-se que os tratamentos contendo os corantes azul de metileno e azul de toluidina obtiveram vigor maior (acima de 69%) quando se observa o tratamento com carboxim + thiram. Esse fator é muito relevante, indicando uma fitotoxicidade menor para as sementes, demonstrando o potencial de uso de tal terapia.

**Tabela 5.** Qualidade fisiológica de sementes de trigo tratadas com azul de metileno e azul de toluidina - terapia fotodinâmica.

Tratamentos	G (%)	E (%)	IVE	IVG	EA (%)	PNF (%)
AM 50	99 a	96 a	16 a	24 a	71 b	98 a
AM 100	99 a	96 a	15 a	24 a	80 b	97 a
AT 50	99 a	95 a	15 a	24 a	69 b	97 a
AT 100	99 a	96 a	16 a	24 a	73 b	97 a
AT + AM 50	99 a	94 a	15 a	24 a	72 b	98 a
AT + AM 100	99 a	95 a	15 a	24 a	81 b	98 a
Carboxim + Thiram	85 b	92 b	12 b	17 b	23 c	81 b
Testemunha	99 a	97 a	16 a	24 a	96 a	97 a
CV (%)	0,97	3,6	4,35	0,87	10,35	1,21

AM – Azul de Metileno; AT – Azul de Toluidina; G – Germinação; E – Emergência; IVG – Índice de velocidade de germinação; IVE – Índice de velocidade de emergência; EA – Envelhecimento Acelerado; PNF – Plântulas normais fortes. Médias seguidas por letras distintas minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

No tratamento químico se verificou um decréscimo na qualidade fisiológica das sementes tratadas com Carboxim + Thiram (Vitavax®), nos critérios avaliados. Efeitos



semelhantes foram constatados por BARROS (1981), onde verificou que o uso do fungicida carboxin no tratamento de sementes trigo, afetou negativamente a germinação. O mesmo efeito não se verificou em avaliações a campo, como no caso da emergência, demonstrando que os aspectos físicos do solo e a interação com a água de irrigação contribuíram para diluir o carboxin e amenizar o efeito fitotóxico. BALARDIN e LOCH (1987) constataram que o uso de thiram interferiu de maneira negativa na germinação e crescimento de sementes de aveia e centeio, diminuindo o tamanho do coleóptilo nas sementes tratadas.

As nanopartículas avaliadas não tiveram efeito negativo em aspectos fisiológicos das sementes de trigo (germinação, emergência, IVE, IVG e plântulas normais fortes) (Tabela 6). Resultados semelhantes para a germinação foram encontrados por FRAGA (2021), onde os tratamentos com nanopartículas, não apresentaram efeitos negativos em aspectos fisiológicos da semente. As nanopartículas demonstraram grande segurança fisiológica para as sementes de trigo, não às afetando negativamente.

**Tabela 6.** Qualidade fisiológica de sementes de trigo tratadas com nanopartículas a 5

Tratamentos	G (%)	E (%)	IVE	IVG	EA	PNF (%)
ZnO	99 a	95 a	15 a	24 a	69 b	98 a
ZnO: 1 Ag	98 a	92 a	15 a	24 a	68 b	97 a
ZnO: 1 Cu	99 a	96 a	15 a	24 a	59 c	98 a
ZnOCl	99 a	96 a	15 a	24 a	97 a	97 a
ZnOCl: 0,1 Ag	99 a	96 a	16 a	24 a	98 a	97 a
ZnOCl: 1 Cu	99 a	96 a	15 a	24 a	97 a	97 a
Carboxim + Thiram	85 b	92 a	12 b	17 b	23 d	81 b
Testemunha (NaCl)	99 a	97 a	16 a	24 a	96 a	97 a
CV (%)	3,71	3,68	4,66	0,95	5,07	1,21

G – Germinação; E – Emergência; IVG – Índice de velocidade de germinação; IVE – Índice de velocidade de emergência; EA – Envelhecimento Acelerado; PNF – Plântulas normais. Médias seguidas por letras distintas minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

mg mL<sup>-1</sup>.

O tratamento químico apresentou efeito deletério nas sementes de trigo em todos os critérios avaliados, exceto a emergência. BALARDIN e LOCH (1987) encontraram resultados semelhantes, onde foi apontado que o substrato em que as sementes foram semeadas contribuiu para amenizar os efeitos fitotóxicos dos fungicidas utilizados no tratamento de sementes.

As nanopartículas de ZnO:1Cu obtiveram o menor índice de vigor dentre as nanopartículas avaliadas no teste de envelhecimento acelerado, seguidas pelas nanopartículas ZnO e ZnO:1Ag. ZHANG (et al., 2011) demonstraram que nanopartículas de ZnO possuem efeitos citotóxicos, contribuindo para a disfunção mitocondrial celular e apoptose celular, tais fatores podendo ser responsáveis pelos efeitos negativos nas sementes de trigo no teste de envelhecimento acelerado.

## 5. CONCLUSÕES

O uso de nanopartículas de ZnO:1Ag e da terapia fotodinâmica com a combinação do corante azul de toluidina + azul de metileno  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  foram eficientes na inibição do crescimento micelial de *Alternaria alternata in vitro*.

As nanopartículas foram eficientes no controle de *A. alternata* quando aplicadas diretamente nas sementes. Os corantes azul de metileno, azul de toluidina e sua combinação na concentração de  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  e o corante azul de metileno na concentração  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  demonstraram-se eficientes no controle de *A. alternata* quando aplicados diretamente nas sementes.

Os tratamentos com nanopartículas e terapia fotodinâmica não apresentaram toxicidade para as sementes de trigo, não afetando negativamente a qualidade fisiológica das sementes.

A terapia fotodinâmica e as nanopartículas demonstraram enorme potencial de uso para o controle de patógenos em sementes.

## REFERÊNCIAS

- ABBATE, P. E.; CARDOS, M. J.; CAMPAÑA, L. E. El trigo, su difusión, importancia como Alimento y consumo. En: Manual del cultivo de trigo. **Acassuso: International Plant Nutrition Institute**, 2017. 224 p.
- ABITRIGRO. **Brasil - Importação de Trigo 2013 - 2019**. Disponível em: <[http://www.abitrigo.com.br/associados/arquivos/1.TRIGO\\_IMPORT\\_2019.pdf](http://www.abitrigo.com.br/associados/arquivos/1.TRIGO_IMPORT_2019.pdf)> Acessado em: 19/12/2020
- BASKARAN, R.; LEE, J.; YANG, SU-GEUN. Clinical development of photodynamic agents and therapeutic applications. **Biomaterials Research**, 22(1), 25, 2018. <https://10.1186/s40824-018-0140-z>. Disponível em: <https://biomaterialsres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40824-018-0140-z>. Acesso: 18 jun. 2021.
- BALARDIN, R. S.; LOCH, L. C. Efeito de thiram sobre a germinação de sementes de centeio e aveia. **Revista brasileira de sementes**, v. 9, n. 1, p. 113-117, 1987. <https://doi.org/10.17801/0101-3122/rbs.v9n1p113-117>. Disponível em: <https://www.agrolink.com.br/downloads/88340.pdf>. Acesso: 05 out. 2021.
- BALLOTTIN, D.; FULAZ, S.; CABRINI, F.; TSUKAMOTO, J.; DURÁN, N.; ALVES, O. L.; TASIC, L. Antimicrobial textiles: Biogenic silver nanoparticles against *Candida* and *Xanthomonas*. **Materials Science and Engineering C**, São Paulo, v. 75, n. 1, p.582-589, fev. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.02.110>. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493116320070?casa\\_token=8nblG8WW7uIAAAAA:R6cQb0wVuZlZ6AOv2\\_cVu1j0\\_91bcb44pCmB8t\\_kAsnhG31zZopw\\_LB3CPIf4u0STRR4OwVL1A](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493116320070?casa_token=8nblG8WW7uIAAAAA:R6cQb0wVuZlZ6AOv2_cVu1j0_91bcb44pCmB8t_kAsnhG31zZopw_LB3CPIf4u0STRR4OwVL1A). Acesso: 18 jun. 2021.
- BARROS, B. C.; CASTRO, J. L.; PATRICIO, F. R. A. Resposta de cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.) ao controle químico das principais doenças fúngicas da cultura. **Summa phytopathol.**, Botucatu, v. 32, n. 3, p. 239-246, Sept. 2006. <https://10.11606/D.11.1981.tde-20210918-201750>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/sp/v32n3/a05v32n3.pdf>. Acesso: 05 out. 2021.
- BOTELHO, M. P. J., NASCIMENTO, F. B., PARMAGNANI, A. A., BOTELHO, M. V. J., & JÚNIOR, A. G. Verificação da capacidade antibacteriana e antifúngica de nanopartículas de prata incorporadas a gessos odontológicos. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n.

4, p. 19371-19380, 2020. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n4-198>. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/8763>. Acesso: 17 jul. 2021

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 2009. Disponível em: [https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946\\_regras\\_analise\\_sementes.pdf](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise_sementes.pdf). Acesso: 09 abr. 2020

CALZAVARA-PINTON, P., ROSSI, MT, SALA, R., & VENTURINI, M. PHOTODYNAMIC ANTIFUNGAL CHEMOTHERAPY. **Photochemistry and Photobiology**, v. 88, n. 3, pág. 512-522, 2012. <https://10.1111/j.1751-1097.2012.01107.x>

COMPANIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Boletim da safra de grãos**: 6º levantamento: safra 2020/2021. Brasília, DF, 2021. Portal. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 02 mar. 2021.

CORRÊA, B. O.; MOURA, A. B.; DENARDIN, N. D. Á.; SOARES, V. N.; SCHÄFER, J. T.; LUDWIG, J. Influência da microbiolização de sementes de feijão sobre a transmissão de *Colletrichum Lindemuthianum* (Saac e Magn). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 156-163, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222008000200019>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbs/a/rLY3NrmkGvxYkrzysKd67bp/abstract/?lang=pt>. Acesso: 18 mar. 2020.

FEDERIZZI L.C.; SCHEEREN P.L.; BARBOSA NETO J.F.; MILACH S.C.K. (ed 2nd) **Melhoramento do trigo. In: Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: Editora UFV, 2005. p. 659-697.

FERREIRA, F. S.; TEBALDI, N. D.; DE OLIVEIRA, C. A. Photodynamic inactivation to control *Xanthomonas gardneri* in tomato seeds. **Tropical Plant Pathology**. 46, 559–564 (2021). <https://doi.org/10.1007/s40858-021-00435-3>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40858-021-00435-3>. Acesso: 12 jan. 2022.

FRAGA, F.S.; SILVA, A.C.A.; DANTAS, N.O.; TEBALDI, N.D. LUZ J.M.Q. Doped zinc-oxide nanocrystals for the control of tomato bacterial spot and *Xanthomonas gardneri* in seeds. **Tropical Plant Pathology**. 46, 406–413 (2021). <https://doi.org/10.1007/s40858-021->

00436-2. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40858-021-00436-2>. Acesso: 23 nov. 2021.

GARCIA, D. C.; MENEZES, N. L. Teste de envelhecimento precoce para sementes de azevém, aveia preta e milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 2, p. 233-237, 1999. <https://doi.org/10.1590/S0103-84781999000200008>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/tcfLcDQKL7SCrX993fWdz7n/?lang=pt>. Acesso: 12 out. 2020.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000.

HIGA, A. M.; MAMBRINI, G. P.; IERICH, JÉSSICA CRISTIANE MAGALHÃES; GARCIA, PÂMELA SOTO; SCRAMIN, J. A.; PERONI, L. A.; OKUDA-SHINAGAWA, N. M.; MACHINI, M. T.; STRIXINO, F. T.; LEITE, F. L. Peptide-conjugated silver nanoparticle for autoantibody recognition. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 19, n. 12, p. 7564-7573, 2019. <https://doi.org/10.1166/jnn.2019.16734>. Disponível em: <https://www.ingentaconnect.com/contentone/asp/jnn/2019/00000019/00000012/art00009>. Acesso: 18 jul. 2020.

H. J. YOON; W. D. JANG. Nanotechnology-based photodynamic therapy. **J. Porphyr. Phthalocyanines**, vol. 17, no. 1–2, pp. 16–26, 2013. <https://10.1142/S108842461230011X>. Disponível em: <https://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/S108842461230011X>. Acesso: 12 out. 2020.

ISSA, M. C. A.; MANELA-AZULAY, M. Terapia fotodinâmica: revisão da literatura e documentação iconográfica. **A. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 85, n. 4, pág. 501-511, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0365-05962010000400011>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abd/a/CcpZfpFQJYr4MdTygs8FpkF/abstract/?lang=pt>. Acesso: 04 mai. 2021.

KOBAYASTI, L.; PIRES, A. P. Levantamento de fungos em sementes de trigo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, n. 4, p. 572–578, 2011. <https://doi.org/10.5216/pat.v41i4.12388>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pat/a/6dLY7Yq5PZXby5Q376dNTDt/?format=html&lang=pt>. Acesso: 14 jun. 2021.

KÜBLER, A. C. Photodynamic Therapy. **Medical Laser Application**, v. 20, n. 1, pág. 37-45, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.mla.2005.02.001>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1615161505000025?via%3Dihub>.

Acesso: 27 abr. 2021.

LAKSHMEESHA, T. R. et al. Biofabrication of zinc oxide nanoparticles from *Melia azedarach* and its potential in controlling soybean seed-borne phytopathogenic fungi. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, n. 8, p. 1923-1930, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.06.013>

LÓPEZ-CHICÓN, P.; GULÍAS, Ò.; NONELL, S.; AGUT, M. In Vitro Antimicrobial Photodynamic Therapy Against *Trichophyton mentagrophytes* Using New Methylene Blue as the Photosensitizer. **Actas Dermo-Sifiliográficas**, 2016, <https://doi.org/10.1016/j.adengl.2016.08.001>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S157821901630186X>. Acesso: 29 jan. 2022.

MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras, LAPS/FAEPE, 2000a, 138 p.

MACHADO, A. E. DA H. Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 237-243, Apr. 2000b. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422000000200015>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/PTsbrFMBBzN6HhXjSrfqRGz/?lang=pt>. Acesso: 14 abr. 2021.

MACIEL, J.; SBALCHEIRO, C.; LAU, D.; SANTANA, F.; COSTAMILAN, L.; LIMA, M. Doenças da cultura do trigo no Brasil. **Embrapa Trigo**, 2020.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>. Disponível em: <https://acsess.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>. Acesso: 11 set. 2021.

MAHENDRA, C.; MURALI, M.; MANASA, G.; PONNAMMA, P.; ABHILASH, M. R.; LAKSHMEESHA, T. R. Antibacterial and antimutagenic potential of bio-fabricated zinc oxide nanoparticles of *Cochlospermum religiosum* (L.). **Microb Pathog.** 2017. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.07.051>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0882401017306745?via%3Dihub>.

Acesso: 01 nov. 2021.

MAMEDE, M. C.; MOTA, R. P.; SILVA, A. C. A.; TEBALDI, N. D. Nanoparticles in inhibiting *Pantoea ananatis* and to control maize white spot. **Ciência Rural**. 2022, v. 52, n. 7. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20210481>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/bqm4S6YrG3Bqyh8YBj8SR8B/?lang=en>. Acesso: 11 ago. 2021.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Projeções do agronegócio Brasil 2018/19 a 2028/29**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/politica-agricola/todas-publicacoes-de-politica-agricola/projecoes-do-agronegocio/projecoes-do-agronegocio-2018-2019-2028-2029> Acessado em 28 fev. 2022

MATTOSO, L. H. C.; MEDEIROS, E. S.; NETO, L.M. A Revolução nanotecnológica e o potencial para o agronegócio. **Revista de Política Agrícola**, n.4, p.38-46, 2005. Disponível em: <https://seer.sede.embrapa.br/index.php/RPA/article/view/551/500>. Acesso: 15 abr. 2020.

MENDES, J. E.; ABRUNHOSA, L.; TEIXEIRA, J. D.; DE CAMARGO, E. R.; DE SOUZA, C. P.; PESSOA, J. D. C. Antifungal activity of silver colloidal nanoparticles against phytopathogenic fungus (*Phomopsis* sp.) in soybean seeds, 2014. <https://10.5281/zenodo.1095981>. Disponível em: <http://repositorium.uminho.pt/handle/1822/32579>. Acesso: 17 dez. 2021.

MENTEN, J. O. M.; LIMA, L. C. S. F.; FRARE, V. C.; RABALHO, A. A. Evolução dos produtos fitossanitários para tratamento de sementes no Brasil. In: ZAMBOLIM, L., ed. **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa, UFV, p. 333-374, 2005.

MENTEN, J.O.; MORAES, M.H.D. Tratamento de sementes: Históricos, Tipos, Características e Benefício. **Informativo Abrates**, v.20, n3, 2010.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, v. 1, p. 1-24, 1999.

NASCIMENTO, J. M.; SERRA, A. P.; BACCHI, L. M.; GAVASSONI, W. L.; VIEIRA, M. C. Inibição do crescimento micelial de *Cercospora calendulae* Sacc. por extratos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, 15, 751-756, 2013. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000500016>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/M5qMtfFqV5sCsYhsPJbPqLC/?lang=pt>. Acesso: 02 out. 2021.

OHLSON, O. D. C.; KRZYZANOWSKI, F. C.; CAIEIRO, J. T.; PANOBIANCO, M. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de trigo. **Rev. Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 118-124, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222010000400013>. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/rbs/a/SYh3z7Vhkdt97pGsJzw3hzj/?lang=pt>. Acesso: 19 mar. 2021.

PAZIANI, M. H.; TONANI, L.; DE MENEZES, H. D.; BACHMANN, L.; WAINWRIGHT, M.; BRAGA, G. Ú. L.; VON ZESKA K. Antimicrobial photodynamic therapy with phenothiazinium photosensitizers in non-vertebrate model *Galleria mellonella* infected with *Fusarium keratoplasticum* and *Fusarium moniliforme*. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 25, p. 197-203, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2018.12.010>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1572100018303533?via%3Dihub>.

Acesso: 22 jul. 2021.

PERUSSI, J. R. Photodynamic inactivation of microorganisms. **Química nova**, v. 30, n. 4, p. 988-994, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000400039>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/558zVdtQmDWrMmT4kkVp5ps/?lang=pt>. Acesso: 14 jun. 2021.

PICININI, E. C.; FERNANDES, J. M. C. Efeito do tratamento de sementes com fungicida sobre o controle de doenças na parte aérea do trigo. **Fitopatol. Bras.**, Brasília, v. 28, n. 5, p. 515-520, Oct. 2003. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582003000500008>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/fb/a/z7dKcQnBtnK9YhVDWc5nXsG/?lang=pt>. Acesso: 23 dez. 2021.

RANSON H.; LISSENDEN N. Insecticide Resistance in African Anopheles Mosquitoes: A Worsening Situation that Needs Urgent Action to Maintain Malaria Control, **Trends in Parasitology**, 2016, Pages 187-196. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2015.11.010>. Disponível em: [https://www.cell.com/trends/parasitology/fulltext/S1471-4922\(15\)00254-8?\\_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1471492215002548%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/trends/parasitology/fulltext/S1471-4922(15)00254-8?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1471492215002548%3Fshowall%3Dtrue). Acesso: 01 dez. 2021.

REIS, E. M.; REIS, A. C.; CARMONA, M. A. Manual de fungicidas: Guia para o controle químico racional de doenças de plantas. **Passo Fundo: Berthier**, 2019.



ROSSONI, R. D.; SOUZA, R. C.; PEREIRA, C. A.; JORGE, A. O. C.; JUNQUEIRA, J. C. Comparação da eficácia fotodinâmica do azul de metileno, azul de toluidina e verde malaquita contra *Candida albicans*. **Faculdade de Odontologia de São José dos Campos**, v. 7, p. 2142-2145, 2008. Disponível em: [http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC\\_2009/anais/arquivos/0422\\_0113\\_01.pdf](http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2009/anais/arquivos/0422_0113_01.pdf). Acesso: 31 jul. 2021.

RSTUDIO: **Integrated Development for R**. RStudio, Inc., Boston, MA. 2015. RS Team - URL: <https://www.rstudio.com/products/rstudio>, 2020.

SAVI, G. D.; PEREIRA, M. M.; ZANONI, E. T.; CANEVER, S. B.; FELTRIN, A. C.; ANGOLETTO, E. **Atividade antifúngica de nanopartículas de óxido de zinco contra fungos toxigenicos isolados de arroz**. In: XVI Encontro Nacional de Micotoxinas, 2019, Belo Horizonte. Anais do XVI Encontro Nacional de Micotoxinas, 2019. v. 1. p. 1. Disponível em: [https://www.academia.edu/37926570/ATIVIDADE\\_ANTIF%C3%9ANGICA\\_DE\\_NANOPART%C3%8DCULAS\\_DE\\_%C3%93XIDO\\_DE\\_ZINCO\\_CONTRA\\_FUNGOS\\_TOXIG%C3%8ANICOS\\_ISOLADOS\\_DE\\_ARROZ](https://www.academia.edu/37926570/ATIVIDADE_ANTIF%C3%9ANGICA_DE_NANOPART%C3%8DCULAS_DE_%C3%93XIDO_DE_ZINCO_CONTRA_FUNGOS_TOXIG%C3%8ANICOS_ISOLADOS_DE_ARROZ). Acesso: 11 jan. 2022

SAVI, G. D.; PIACENTINI, K. C.; DE SOUZA, S. R.; COSTA, M. E.; SANTOS, C. M.; SCUSSEL, V. M. **Efficacy of zinc compounds in controlling Fusarium head blight and deoxynivalenol formation in wheat (*Triticum aestivum* L.)**. International Journal of Food Microbiology, v. 205, p. 98-104, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.001>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160515001828?via%3Dihub>. Acesso: 16 dez. 2021.

SCHEEREN, P. L.; CASTRO, R. L.; CAIERAO, E. Botânica, morfologia e descrição fenotípica. In: BORÉM, A.; SCHEEREN, P. L. (Ed.). **Trigo: do plantio à colheita**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2015. Cap. 2, p. 35-55.

SILVA, M. M. P.; AGUIAR, M. I. F. D.; RODRIGUES, A. B.; MIRANDA, M. D. C.; ARAÚJO, M. Â. M.; ROLIM, I. L. T. P. Utilização de nanopartículas no tratamento de feridas: revisão sistemática. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, São Paulo, v. 51, n. 1, p.1-10, jul. 2017. <https://doi.org/10.1590/s1980-220x2016043503272>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/reeusp/a/P5kDmSYWLXVm9gDRjP8zbFJ/?lang=pt>. Acesso: 12 set. 2021.

SILVA, S. R. **Plantio na hora certa reduz perdas de produtividade no trigo**. Embrapa Trigo-Artigo em periódico indexado, 2018.

SOUZA, R. G. D.; VIEIRA F. J. E. R. **Produção de trigo no Brasil: indicadores regionais e políticas públicas**. Brasília, 2020, 41 p. <https://doi.org/10.38116/td2608>. Disponível em: [https://www.ipea.gov.br/portal/images/stories/PDFs/TDs/td\\_2608.pdf](https://www.ipea.gov.br/portal/images/stories/PDFs/TDs/td_2608.pdf). Acesso: 04 jan. 2022.

THAKUR, A.; SHARMA, N.; BHATTI, M.; SHARMA, M.; TRUKHANOV, A. V.; TRUKHANOV, S. V. Synthesis of barium ferrite nanoparticles using rhizome extract of *Acorus Calamus*: Characterization and its efficacy against different plant phytopathogenic fungi, **Nano-Structures & Nano-Objects**, Volume 24, 2020, 100599. <https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2020.100599>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2352507X20300950?via%3Dihub>.

Acesso: 14 dez. 2021.

VILLAMIZAR-GALLARDO, R.; CRUZ, J. F. O.; ORTÍZ-RODRIGUEZ, O. O. Efeito fungicida de nanopartículas de prata em fungos toxigênicos em cacauzeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 12, p. 1929-1936, 2016. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016001200003>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pab/a/vvhsJgGv859Kh3TQtDYSxLg/?lang=en>. Acesso: 14 jan. 2022.

XIAO, Z.; BERGERON, H.; LAU, P. *Alternaria alternata* as a new fungal enzyme system for the release of phenolic acids from wheat and triticale brans. **Antonie van Leeuwenhoek**, Montreal, v.101, p.837-844, 2012. <https://dx.doi.org/10.1007/s10482-012-9700-8>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10482-012-9700-8>. Acesso: 11 jan. 2021.

ZANCAN, N. L. B.; TEBALDI, N. D. Photodynamic therapy in the control of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in vitro and naturally contaminated canola seeds. **Summa Phytopathologica**. 2020, v. 46, n. 4, pp. 327-332. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/199134>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sp/a/HYR3XrMkvM88567XN9r88rm/?lang=pt>. Acesso: 07 dez. 2021.

ZHANG, L.; JIANG, Y.; YORKD, P. M. Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). **Journal of Nanoparticle Research**,

479-489. 2007 <https://doi.org/10.1007/s11051-006-9150-1>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11051-006-9150-1>. Acesso: 15 jan. 2021

ZHANG X. Q.; YIN L. H.; TANG M.; YUE PU. ZnO, TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, and Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles-induced toxic effects on human fetal lung fibroblasts. **Biomedical and Environmental Sciences**, v. 24, n. 6, p. 661-669, 2011. <https://doi.org/10.3967/0895-3988.2011.06.011>. Disponível em: <https://www.besjournal.com/en/article/doi/10.3967/0895-3988.2011.06.011>. Acesso: 19 set. 2021.