



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

BRENDA SANTOS PONTES

NANOPARTÍCULAS NO TRATAMENTO E CONTROLE DE FUNGOS
FITOPATOGÊNICOS EM SEMENTES DE SOJA ARMAZENADAS

UBERLÂNDIA-MG

2025

BRENDA SANTOS PONTES

**NANOPARTÍCULAS NO TRATAMENTO E CONTROLE DE FUNGOS
FITOPATOGÊNICOS EM SEMENTES DE SOJA ARMAZENADAS**

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

Orientadora: Profa. Dra. Nilvanira Donizete Tebaldi

Coorientador: Prof. Dr. Hugo César Rodrigues Moreira
Catão

UBERLÂNDIA-MG

2025

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

P814 2025	Pontes, Brenda Santos, 1998- NANOPARTÍCULAS NO TRATAMENTO E CONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS EM SEMENTES DE SOJA ARMAZENADAS [recurso eletrônico] / Brenda Santos Pontes. - 2025. Orientador: 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: http://doi.org/10.14393/ufu.di.2025.135 Inclui bibliografia. Inclui ilustrações. 1. Agronomia. I. Tebaldi, Nilvanira Donizete, 1970-, (Orient.). II. , Hugo César Rodrigues Moreira Catão, 1983-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Agronomia. IV. Título. CDU: 631
--------------	---

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2: Gizele

Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074

BRENDA SANTOS PONTES

**NANOPARTÍCULAS NO TRATAMENTO E CONTROLE DE FUNGOS
FITOPATOGÊNICOS EM SEMENTES DE SOJA ARMAZENADAS**

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

Uberlândia, 26 de fevereiro de 2025.

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Flávia Andrea Nery Silva

UFU

Prof. Dr. Laércio Júnio da Silva

UFV

Prof. Dr. Daniel Teixeira Pinheiro

UNITRI

Profa. Dra. Nilvanira Donizete Tebaldi
ICIAG-UFU
(Orientadora)

UBERLÂNDIA-MG

2025



ATA

Programa de Pós-Graduação em:	Agronomia				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 006/2025, PPGAGRO				
Data:	Vinte e seis de fevereiro de dois mil e vinte e cinco	Hora de início:	08:00	Hora de encerramento:	12:10
Matrícula do Discente:	12312AGR004				
Nome do Discente:	Brenda Santos Pontes				
Título do Trabalho:	Nanopartículas no tratamento e controle de fungos fitopatogênicos em sementes de soja armazenadas				
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: Flavia Andrea Nery Silva - UFU; Laércio Junio da Silva - UFV; Daniel Teixeira Pinheiro - UNITRI ; Nilvanira Donizete Tebaldi - orientadora da candidata.

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

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

APROVADO

Essa dissertação possui mérito para ser indicada como destaque do Programa? (X) SIM NÃO ()

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 26/02/2025, às 12:16, 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 26/02/2025, às 12:17, 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 **Laércio Junio da Silva, Usuário Externo**, em 26/02/2025, às 13:38, 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 **Daniel Teixeira Pinheiro, Usuário Externo**, em 26/02/2025, às 14:55, 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, informando o código verificador **6131109** e o código CRC **8B5600C1**.

RESUMO

PONTES, B. S. **Nanopartículas no tratamento e controle de fungos fitopatogênicos em sementes de soja armazenadas.** 2025. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

As nanopartículas (NPs) apresentam propriedades físico-químicas promissoras para o controle antimicrobiano, sendo essencial que sejam biocompatíveis e específicas para evitar problemas como fitotoxicidade e seleção de microrganismos resistentes. Para a cultura da soja, o tratamento de sementes com NPs pode oferecer uma abordagem eficiente e ambientalmente responsável para o controle de fungos fitopatogênicos, protegendo-as e preservando sua longevidade. O presente trabalho teve como objetivo caracterizar nanopartículas e avaliar a eficácia do tratamento de sementes de soja considerando a conservação da qualidade e o controle de fungos fitopatogênicos ao longo do armazenamento. O ensaio foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, com os tratamentos distribuídos em esquema fatorial 6 x 4, sendo seis tratamentos de sementes [ZnO:Mo; ZnO:K; ZnO; ZnO:Mg; Fungicida (Tiofanato-Metílico + Fluazinam); Controle (água)] e quatro períodos de armazenamento (0; 45; 90 e 135 dias), com quatro repetições. Foram realizadas análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV), difração de raios X (DRX) e microscopia eletrônica de transmissão (MET) para caracterização das nanopartículas. Para a avaliação da qualidade física e fisiológica foram analisadas as variáveis: teor de água, germinação convencional e com vermiculita, comprimento de plântulas, índice de crescimento, índice de uniformidade, índice de vigor, emergência, tempo médio de emergência (TME), envelhecimento acelerado convencional e com vermiculita. Já para a avaliação da qualidade sanitária foi conduzido o *Blotter Test*. As nanopartículas possuem estrutura policristalina de wurtzita e imagens microscópicas revelaram que estas possuem forma de bastões aderidas ao tegumento das sementes de soja com a presença de zinco e oxigênio. O efeito dos tratamentos com nanopartículas sobre a qualidade das sementes de soja apresentou um comportamento variável dependendo do período de armazenamento, sendo observados efeitos de fitotoxidez ou melhorias no desempenho fisiológico. As nanopartículas demonstraram potencial e foram eficientes no controle dos fungos fitopatogênicos de sementes de soja, durante o período de armazenamento.

Palavras-chave: *Glycine max* (L.) Merryll; nanotecnologia; óxido de zinco; qualidade de sementes.

ABSTRACT

PONTES, B. S. **Nanoparticles in the treatment and control of phytopathogenic fungi in stored soybean seeds.** 2025. Dissertation (Master's in Agronomy) – Federal University of Uberlândia, Uberlândia..

The nanoparticles (NPs) exhibit promising physicochemical properties for antimicrobial control. It is essential that they are biocompatible and specific, avoiding issues such as phytotoxicity and the selection of resistant microorganisms. In soybean cultivation, seed treatment with NPs can offer an efficient and environmentally responsible approach for controlling phytopathogenic fungi, protecting the seeds and preserving their longevity. This study aimed to characterize nanoparticles and evaluate the effectiveness of soybean seed treatment, considering both the preservation of seed quality and the control of phytopathogenic fungi during storage. The experiment was conducted in a completely randomized design, with treatments arranged in a 6×4 factorial scheme, consisting of six seed treatments [ZnO:Mo; ZnO:K; ZnO; ZnO:Mg; Fungicide (Thiophanate-methyl + Fluazinam); Control (water)] and four storage periods (0, 45, 90, and 135 days), with four replicates. Nanoparticle characterization was performed using scanning electron microscopy (SEM), X-ray diffraction (XRD), and transmission electron microscopy (TEM). For the assessment of physical and physiological seed quality, the following variables were analyzed: moisture content, germination conventional and with vermiculite, seedling length, growth index, uniformity index, vigor index, emergence, mean emergence time (MET), accelerated aging conventional and with vermiculite. For the evaluation of sanitary quality, the Blotter Test was conducted. The nanoparticles exhibited a polycrystalline wurtzite structure, and microscopic images revealed rod-shaped particles adhered to the soybean seed coat, with the presence of zinc and oxygen. The effect of nanoparticle treatments on soybean seed quality exhibited variable behavior depending on the storage period, with observed effects ranging from phytotoxicity to improvements in physiological performance. The nanoparticles demonstrated potential and were effective in controlling phytopathogenic fungi in soybean seeds during the storage period.

Keywords: *Glycine max* (L.) Merrill; nanotechnology; zinc oxide; seed quality.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ag	Prata
Au	Ouro
BDA	Batata Dextrose Ágar
BOD	<i>Biochemical Oxygen Demand</i>
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CH	Comprimento do hipocótilo
cm	Centímetro
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
CR	Comprimento de raiz
Cu	Cobre
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DRX	Difração de Raios X
E	Emergência
EA	Envelhecimento acelerado
EDS	<i>Energy dispersive x-ray detector</i>
EROs	Espécies reativas de oxigênio
Formvar	Filme de carbono
G	Germinação
H₂O₂	Peróxido de hidrogênio
HO⁻²	Radicais hidroxilas
ICIAG	Instituto de Ciências Agrárias
ICSD	<i>Inorganic Crystal Structure Database</i>
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
K	Potássio
LABAC	Laboratório de Bacteriologia Vegetal
LAMEV	Laboratório Multiusuário de Microscopia Eletrônica de Varredura
LASEM	Laboratório de Sementes
m	Metro
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura

Mg	Magnésio
mm	Milímetro
Mo	Molibdênio
MS	Massa seca
NPs	Nanopartículas
NPs MaZnO	Nanopartículas de Óxido de Zinco criadas a partir de <i>Melia azedarach</i>
O	Oxigênio
O²⁻	Ânion superóxido
PC	Primeira contagem
RAS	Regras para Análise de Sementes
RELAM	Rede de Laboratórios Multiusuários
TA	Teor de água
Ti	Titânio
TME	Tempo médio de emergência
TS	Tratamento de semente
UFU	Universidade Federal de Uberlândia
UR	Umidade Relativa
Zn	Zinco
ZnO	Óxido de Zinco
ZnO:K	Óxido de Zinco dopado com Potássio
ZnO:Mg	Óxido de Zinco dopado com Magnésio
ZnO:Mo	Óxido de Zinco dopado com Molibdênio
ηm	Nanômetro
μm	Micrometro

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

- Figura 1** - Comparação da dimensão de materiais à nanoescala 16
- Figura 2** - Estrutura hexagonal wurtzita do óxido de zinco 17
- Figura 3** - Mecanismos de ação das nanopartículas de óxido de ferro, como a magnetita, na célula bacteriana 18
- Figura 4** - Macro e microfotografias das espécies *Aspergillus flavus* (A), *Aspergillus oryzae* (B) e *Aspergillus sojae* (C) 22
- Figura 5** - Macro e microfotografias da espécie *Penicillium expansum* 23
- Figura 6** - Características morfológicas de *Cladosporium* spp. A: Conidiação. B: Micromorfologia. Barra de escala: 50 µm. C e D: Macromorfologia, verso e reverso da colônia após 14 dias de crescimento em ágar sabouraud dextrose à 25°C 24
- Figura 7** - *Fusarium verticillioides* (CBS 218.76ET). A. Colônias em BDA após 7 dias à 25 °C sob luz, escuridão e luz UV (da esquerda para a direita), respectivamente; B. Conídios aéreos produzidos em cadeias; C. Conídios aéreos, conidióforos e fiálides 25
- Figura 8** - Difratoograma de raio X indicando a presença da fase hexagonal de nanopartículas de ZnO ICSD (Padrão), ZnO:Mo, ZnO:K, ZnO e ZnO:Mg (A) e ampliação do plano (101) (B) 32
- Figura 9** - Micrografias obtidas por MEV do aglomerado que compõem o pó (A, B, C e D) e da superfície de sementes de soja (E, F, G e H) tratadas com nanopartículas de ZnO:Mo (A e E), ZnO:K (B e F), ZnO (C e G) e ZnO:Mg (D e H) 33
- Figura 10** - Elementos químicos detectados pelo EDS, durante a análise do MEV, presentes na superfície de sementes de soja tratadas com nanopartículas de ZnO:Mo (A), ZnO:K (B), ZnO (C) e ZnO:Mg (D) 33
- Figura 11** - Micrografias obtidas por MET identificando as partículas primárias de ZnO (A), ZnO:K (B), ZnO:Mg (C) e ZnO:Mo (D) 34
- Figura 12** - Teor de água de sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento 35

Figura 13 - Porcentagem de germinação padrão (A) e com vermiculita (B) de sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento	36
Figura 14 - Porcentagem de envelhecimento acelerado convencional (A) e com vermiculita (B) de sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento	38
Figura 15 - Porcentagem de emergência (A) e tempo médio de emergência (TME) (B) de sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento	39
Figura 16 - Comprimento do hipocótilo (CH) (A) e raiz (CR) (B) de plântulas oriundas de sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento	41
Figura 17 - Índice de crescimento (A) e de vigor corrigido (B) de sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento	43
Figura 18 - Porcentagem de germinação padrão (A), germinação com vermiculita (B), EA convencional (C), EA com vermiculita (D), emergência (E) e tempo médio de emergência (F) de sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento	45
Figura 19 - Comprimento do hipocótilo (A), comprimento de raiz (B), índice de vigor (C) e índice de crescimento (D) de sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento	46
Figura 20 - Incidência de <i>Penicillium</i> spp. (A), <i>Aspergillus</i> spp. (B), <i>Cladosporium</i> spp. (C) e <i>Fusarium</i> spp. (D) em sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento	47
Figura 21 - Porcentagem de incidência de <i>Penicillium</i> spp. (A), <i>Aspergillus</i> spp. (B), <i>Cladosporium</i> spp. (C) e <i>Fusarium</i> spp. (D) em sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento	50

AGRADECIMENTOS

Ao concluir esta etapa tão importante da minha vida, é impossível não olhar para trás e lembrar de todas as pessoas que estiveram ao meu lado. A cada um de vocês, meu mais sincero obrigado.

À minha família, em especial minha mãe Ana Patrícia e meu pai Ronaldo, que sempre acreditaram em mim e me incentivaram a seguir adiante, meu amor e gratidão infinitos. Sem vocês, essa jornada não teria sido possível.

À minha namorada, Larissa Araújo, minha profunda gratidão pelo companheirismo e incentivo. Sua presença foi essencial nesta jornada, tornando cada desafio mais leve. Obrigado por estar sempre ao meu lado.

À minha Orientadora, Nilvanira Donizete Tebaldi, meu sincero apreço por sua paciência, ensinamentos e dedicação. Sua orientação foi essencial para meu crescimento acadêmico e pessoal.

Ao meu Coorientador, Hugo César Rodrigues Moreira Catão, expresso minha mais profunda admiração e respeito. Seu apoio, ensinamentos e até mesmo os puxões de orelha foram essenciais para a construção deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora, Flávia Nery, Daniel Pinheiro e Laércio Silva, agradeço pelo tempo e pelas valiosas contribuições que enriqueceram este trabalho.

Aos integrantes do Núcleo de Estudos e Pesquisa em Sementes (NEPSem), obrigada pela parceria, pelas trocas de conhecimento e pelo apoio em todos os momentos.

Aos meus amigos, Ricardo Domingues, Gabriela Melazzo e Ana Laura Santos, meu eterno reconhecimento por todo o apoio. Vocês foram muito mais do que minha equipe de suporte, foram fundamentais para tornar a conclusão deste trabalho uma realidade.

Também agradeço o Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Uberlândia e à CAPES pelo suporte que viabilizou esta pesquisa.

Por fim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, meu mais profundo agradecimento. Cada gesto e palavra de apoio foram fundamentais nesta caminhada.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1. Nanopartículas e suas aplicações	16
2.2. Influência das nanopartículas de ZnO em fungos fitopatogênicos	18
2.3. Produção e qualidade de sementes de soja	19
2.4. Armazenamento de sementes	20
2.5. Fungos fitopatogênicos em sementes de soja	21
2.6. Taxonomia e descrição morfológica de fungos fitopatogênicos	22
3. MATERIAL E MÉTODOS	26
3.2. Tratamento das sementes de soja com nanopartículas	26
3.3. Difração de Raios X (DRX)	27
3.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	27
3.5. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	28
3.6. Avaliação da qualidade fisiológica das sementes de soja	28
3.7. Avaliação da qualidade sanitária das sementes de soja	30
3.8. Análises estatísticas	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5. CONCLUSÕES	52
REFERÊNCIAS	53

1. INTRODUÇÃO

As nanopartículas (NPs) possuem propriedades físico-químicas promissoras para o efeito antimicrobiano, devido a escala nanométrica capaz de proporcionar maior relação superfície/volume, reatividade, mobilidade e absorção (Rajput *et al.*, 2018). Quando produzidas com compostos metálicos, especialmente de óxido de zinco (ZnO) e dopadas com íons, podem potencializar o controle de microrganismos fitopatogênicos (Karasenkov *et al.*, 2015).

Embora os mecanismos de ação antifúngicos das NPs sejam desconhecidos, a literatura apresenta algumas hipóteses que ajudam a explicar seu papel no controle de microrganismos. Lakshmeesha *et al.* (2020) observaram que NPs de MaZnO (Obtidas a partir de *Melia azedarach*) inibiram o ergosterol da membrana plasmática fúngica, controlando *Cladosporium cladosporioides* e *Fusarium oxysporum* na cultura da soja. Miri *et al.* (2019) propuseram que as NPs de ZnO podem interferir nos processos metabólicos de fungos, devido ao aumento das espécies reativas de oxigênio (EROs), as quais em altas taxas podem ocasionar desnaturação de proteínas, danos ao DNA e a membrana celular, comprometendo a viabilidade do patógeno.

Em conjunto com a capacidade de controle de organismos fitopatogênicos, as nanopartículas precisam ser biocompatíveis e específicas (Sousa *et al.*, 2014) para que possam evitar desvantagens já presentes no uso do tratamento químico convencional de sementes, como a fitotoxidade, a seleção de fungos resistentes, e a redução da viabilidade e vigor de sementes armazenadas (Seixas *et al.*, 2020). Essas dificuldades, já foram verificadas em algumas culturas, em especial as *commodities* de maior destaque no mercado mundial, como a soja.

Essa aleuro-oleaginosa é uma das principais *commodities* agrícolas de relevância mundial, destacando-se pela sua versatilidade e propriedades nutricionais, sendo amplamente utilizada como matéria-prima para a agroindústria (Costa *et al.*, 2020). Sua elevada produtividade está diretamente relacionada a alta qualidade das sementes, o que por sua vez exige tecnologias avançadas para garantir alto potencial germinativo e vigor. Nesse contexto, o tratamento de sementes possui um papel essencial para controlar fungos fitopatogênicos, como *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp., especialmente durante o armazenamento.

Diante do desafio em encontrar alternativas inovadoras e sustentáveis para o tratamento de sementes de soja, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar nanopartículas e avaliar a eficácia do tratamento de sementes de soja, considerando a conservação da qualidade e o controle de fungos fitopatogênicos ao longo do tempo de armazenamento.

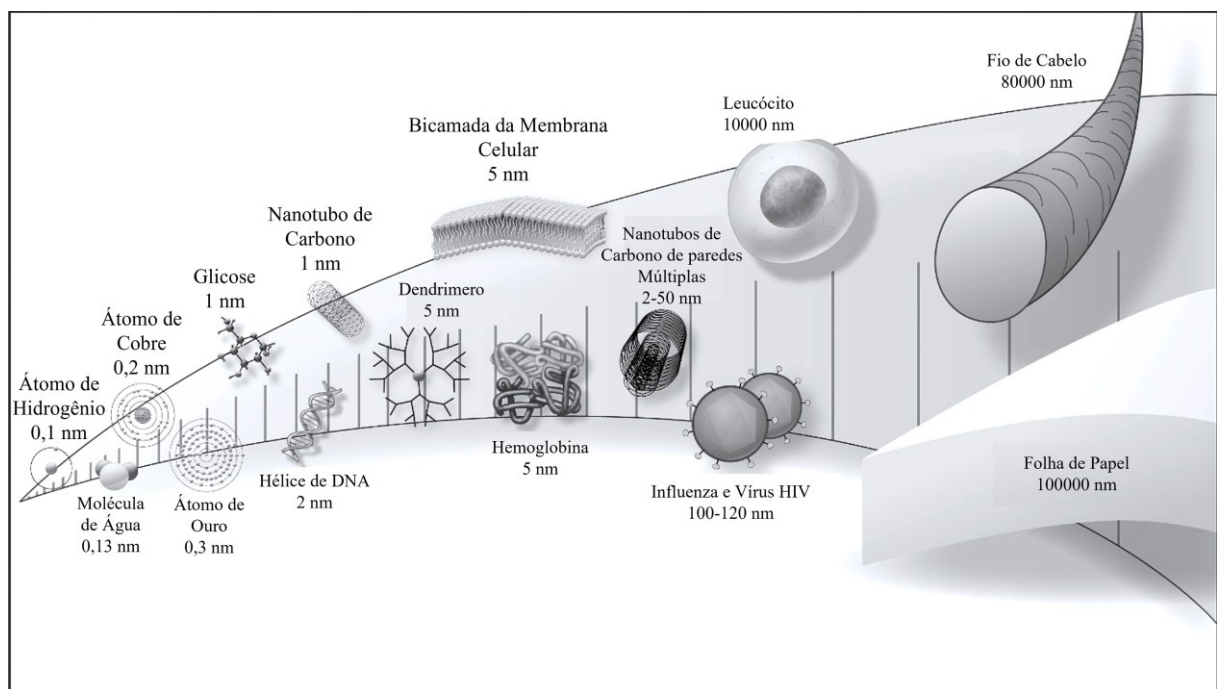
2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Nanopartículas e suas aplicações

A nanotecnologia é um campo da ciência que visa à compreensão e manipulação de sistemas na ordem de átomos e moléculas, associando conhecimentos de física, química e biologia. Essa técnica permite a síntese e classificação de estruturas nanométricas, com propriedades únicas e comportamentos distintos de macro e micromateriais convencionais (Antunes, 2020; Saallah e Lenggoro, 2018). As propriedades físico-químicas singulares destas estruturas estão relacionadas ao tamanho das partículas (Baig *et al.*, 2021) que, segundo a *International Organization for Standardization - ISO* (2019), pode variar de 1 a 100 nanômetros (nm).

Considerando que um nanômetro corresponde a um bilionésimo de metro (10^{-9} m), as nanopartículas (NP) estão em escalas próximas do DNA e dos vírus, sendo inferiores às células (Wichlab, 2013), como pode ser observado na Figura 1. Essa reduzida dimensão resulta em uma alta relação superfície/volume (Kah; Hofmann, 2014) que, por consequência, potencializa a reatividade química, a mobilidade e a capacidade de absorção das NPs por outras estruturas (Rizwan *et al.*, 2017; Rajput *et al.*, 2018).

Figura 1 - Comparação da dimensão de materiais à nanoescala



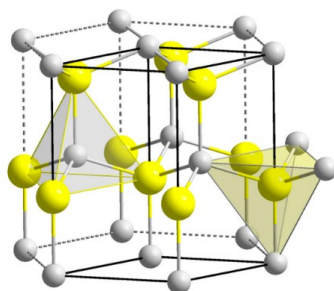
Fonte: A autora adaptado de Yokel e MacPhail (2011).

A combinação da forma, tamanho e propriedades específicas permite que as NPs também expressem características como estabilidade na composição química, tolerância à altas temperaturas e capacidade de interação com membranas de microrganismos (Silva *et al.*, 2017). Essas particularidades não apenas ampliam as possibilidades de aplicação, como também fomentam a busca por inovações em diversos setores (Jamkhande *et al.*, 2019). Na área da medicina e odontologia, o uso das NPs já é difundido, com foco no diagnóstico e tratamento de doenças (Higa, 2019). Esse histórico promissor tem impulsionado pesquisas na agricultura, especialmente na área de Fitopatologia visando o efeito antimicrobiano (Mahendra *et al.*, 2017).

Na literatura, já são encontrados estudos que relatam o uso de nanopartículas metálicas como fungicidas no controle de *Alternaria alternata* (Duarte, Catão, Tebaldi, 2022), *Candida* (Ballottin *et al.*, 2017), *Botrytis cinerea* e *Penicillium expansum* (He *et al.*, 2011). É importante ressaltar que produtos à base de metais, como prata (Ag), ouro (Au), cobre (Cu), titânio (Ti) e zinco (Zn) são amplamente utilizados como agentes antimicrobianos (Karasenkova *et al.*, 2015) por exercerem menor pressão seletiva sobre organismos mais resistentes, devido ao mecanismo amplo de ação, possibilitando maior longevidade do produto (Botelho *et al.*, 2020). Contudo, a síntese desses materiais em escala nanométrica pode ser um potencializador de sua capacidade antimicrobiana (Karasenkova *et al.*, 2015).

As nanopartículas metálicas de óxido de zinco (ZnO) são caracterizadas pela alta biodegradabilidade, biocompatibilidade (Javadi *et al.*, 2019) e disponibilidade, aliadas a baixa toxicidade e custo (Anjum *et al.*, 2021), sendo consideradas promissoras para o amplo espectro de atividade antimicrobiana (Pathak *et al.*, 2019). O ZnO é um composto semiconductor fotônico inorgânico do grupo II-VI, de coloração branca em temperatura ambiente (Kennedy *et al.*, 2014). Sua cristalização ocorre principalmente na forma cúbica (sal de rocha) e hexagonal (wurtzita), sendo a última termodinamicamente mais estável (Borysiewicz, 2019; Harun *et al.*, 2017) (Figura 2).

Figura 2 - Estrutura hexagonal wurtzita do óxido de zinco.



Fonte: Borysiewicz, (2019).

Legenda: Íons de Zn^{2+} representados pelas esferas amarelas e os O^{2-} pelas brancas.

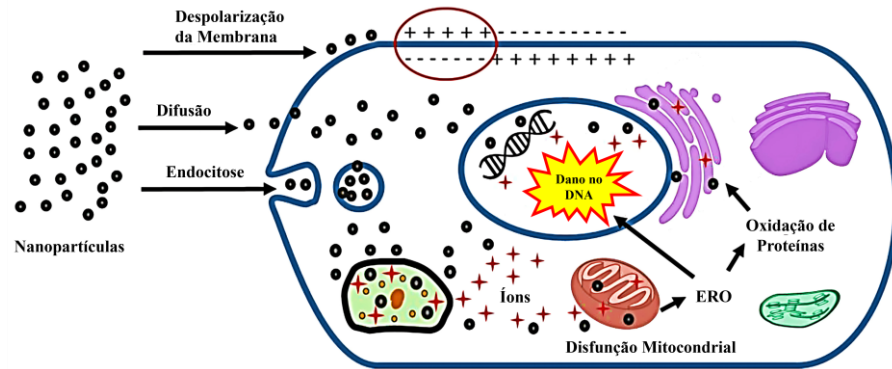
2.2. Influência das nanopartículas de ZnO em fungos fitopatogênicos

O ZnO possui propriedades que atuam contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos (Silva *et al.*, 2019a), contudo, ainda é desconhecido o mecanismo de ação que causa a toxicidade em fungos (Ballottin *et al.*, 2017). A literatura propõe diversas vias de atuação simultâneas ou isoladas, que podem estar relacionados ao controle desses patógenos (Sirelkhatim *et al.*, 2015), havendo uma correlação entre esses mecanismos de controle com o tamanho da nanopartícula, dosagem, carga, área superficial e a morfologia dos fungos (Fernando; Gunasekara; Holton, 2018).

Canales e Villanueva (2018) relataram que, com o aumento da concentração das NPs de ZnO há inibição da esporulação e deformação das estruturas micélias do *Mucor fragilis*, relacionados ao inchaço dos vacúolos responsáveis por armazenar água. Lakshmeesha *et al.* (2020) observaram que NPs de ZnO formuladas a partir de cinamomo (*Melia azedarach*) inibiram o ergosterol presente na membrana plasmática fúngica, controlando *Cladosporium cladosporioides* e *Fusarium oxysporum* na cultura da soja. Sharma e Ghose (2014) e Miri *et al.* (2019) propuseram que a atividade fungicida das NPs de ZnO pode estar relacionada aos mecanismos de ação a nível celular, observados também no controle de bactérias.

Na interação entre as nanopartículas e parede celular bacteriana, há três formas distintas de ocorrer a internalização celular, sendo elas pela difusão, endocitose e a despolarização da membrana (Figura 3). Ao penetrar na membrana celular, as NPs liberam íons Zn^{2+} e há produção das Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) que, em elevadas concentrações, causam o estresse oxidativo (Baptista *et al.*, 2018; Gao e Yan, 2019; Gabrielyan *et al.*, 2019). As EROs são compostas principalmente por radicais hidroxilas ($HO^{\cdot}$), ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) responsáveis pela desnaturação de proteínas, mutações e rupturas na cadeia de DNA, perda de atividade enzimática, integridade da membrana celular e outros distúrbios celulares. Esse estresse dificulta a resistência microbiana a curto prazo, visto que interfere em diferentes partes da célula, podendo o dano causado ser irreversível (Czyżowska e Barbasz, 2020; Jiang; Lin; Cai, 2020).

Figura 3 - Mecanismos de ação das nanopartículas de óxido de ferro, como a magnetita, na célula bacteriana.



Fonte: A autora adaptado de Arias *et al.* (2018).

Visando maximizar a capacidade de controlar organismos fitopatogênicos, é fundamental que as NPs também apresentem biocompatibilidade e especificidade, características essenciais para maior assertividade e eficiência do tratamento (Pavão *et al.*, 2021; Sousa *et al.*, 2014). Nesse contexto, a dopagem surge como uma estratégia promissora para melhoria de desempenho. Ao incorporar íons metálicos (Ag, Au, Mo, K, Mg) às nanopartículas, há a modificação da estrutura física e eletrônica desse material base, possibilitando ajustar ou potencializar propriedades, como reatividade, estabilidade, condutividade e interação com outras substâncias (Brintha e Ajitha, 2016; Sharma *et al.*, 2016; Vijayaprasath *et al.*, 2016). Os íons dopados podem intensificar o efeito das EROs, assim como, serem liberados após a internalização celular.

Essas características observadas nas nanopartículas são desejáveis como métodos alternativos ao tratamento químico convencional. Apesar da alta eficiência no controle de fungos fitopatogênicos e consolidação no mercado, o tratamento de sementes com fungicidas é frequentemente associado a desvantagens significativas, como a seleção de patógenos resistentes, fitotoxicidade e redução do vigor e viabilidade das sementes a médio-longo prazo (Carvalho *et al.*, 2020; Seixas *et al.*, 2020) em condições de armazenamento. Essas dificuldades são constantemente enfrentadas no tratamento de diversas culturas, em especial as grandes *commodities* de maior destaque no mercado brasileiro e internacional, como a soja.

2.3. Produção e qualidade de sementes de soja

Originária da Ásia, a soja (*Glycine max* (L) Merrill) é uma planta herbácea pertencente à classe Rosidae, ordem Fabales, família Fabaceae (Hartmann-Filho, 2015). Essa aleuro-oleaginosa é uma das principais *commodities* de alta relevância mundial na agricultura,

destacando-se pela sua versatilidade e propriedades nutricionais, sendo amplamente utilizada como matéria-prima para a agroindústria (Costa *et al.*, 2020). Entre os grandes produtores mundiais, o Brasil ocupa a posição de liderança como principal exportador e maior detentor de estoques de grãos (Coelho, 2024).

Para a safra de 2024/25, há estimativa de produzir 322,4 milhões de toneladas, um acréscimo de 24,5 milhões de toneladas em relação à safra anterior, representando um crescimento de 8,2% (Companhia Nacional de Abastecimento, 2024). A manutenção e o aumento dos índices de produtividade das lavouras de soja dependem de uma série de fatores, com ênfase na escolha e aquisição de sementes de alta qualidade e certificadas. A qualidade é associada aos atributos físicos, fisiológicos, genéticos e sanitários das sementes, que garantem o estabelecimento adequado e a uniformidade da população de plantas nas lavouras (Krzyzanowski *et al.*, 2018; Dias *et al.*, 2021; Vogel *et al.*, 2021).

A qualidade fisiológica é um dos atributos mais visados pelos produtores de sementes, sendo avaliado a partir de testes de viabilidade e vigor (Ferrari *et al.*, 2014). O teste de germinação possibilita analisar a capacidade de um lote de sementes produzir plântulas normais sob condições adequadas (Brasil, 2009b). Esse processo é caracterizado pela reativação e síntese de enzimas essenciais para a hidrólise das reservas das sementes, permitindo o reinício do crescimento do embrião e a avaliação do potencial da semente (Reed *et al.*, 2022). De maneira distinta, os testes de vigor avaliam a capacidade dos lotes de sementes sob variações do ambiente (Marcos-Filho, 2015b), permitindo prever o desempenho das sementes no campo e durante o armazenamento.

2.4. Armazenamento de sementes

A literatura destaca que o processo de armazenamento das sementes começa no campo, logo após a maturidade fisiológica, estágio que ocorre o desligamento entre a planta-mãe e a semente, e que ela pode expressar seu máximo potencial fisiológico. Paralelamente, esse período também é marcado pelo início da deterioração da semente, influenciado pelas flutuações de temperatura e umidade e pela presença de pragas e patógenos no campo (Baudet e Villela, 2012). Segundo França Neto *et al.* (2016), a colheita das sementes de soja deve ser realizada quando apresentam teor de água entre 13 e 14%, reduzindo possíveis danos mecânicos, e em sequência, Henning *et al.* (2016) ressaltaram a importância de serem armazenadas em condições adequadas até a semeadura.

Durante o armazenamento, a armazenabilidade e a deterioração da semente são fatores inter-relacionados e de impacto direto na qualidade. A armazenabilidade refere-se à capacidade das sementes manterem sua viabilidade sob a influência do armazenamento. Contudo, em condições inadequadas, a viabilidade e o vigor são comprometidos, uma vez que a deterioração é acelerada, resultando na perda da qualidade fisiológica (Reed *et al.*, 2022). Marcos-Filho (2015) enfatizou que entender os processos fisiológicos das sementes durante o armazenamento é crucial, uma vez que a viabilidade e o vigor são influenciados por fatores como a taxa de respiração da semente e a incidência de patógenos, que aumentam em temperatura e umidade elevadas.

O tratamento de sementes (TS) surge como uma estratégia de proteção contra pragas e patógenos com o objetivo de dificultar a intensificação da deterioração da semente e comprometimento da viabilidade e vigor. Além de auxiliar no desenvolvimento inicial das plântulas (Zandoná *et al.*, 2019), o TS possibilita a conservação das sementes por períodos prolongados, desde que armazenadas em condições adequadas (Ludwig *et al.*, 2015). No entanto, a combinação de alguns produtos pode gerar efeitos fitotóxicos, a longo prazo, reduzindo a germinação e acelerando a perda da qualidade fisiológica (Santos *et al.* 2018; Alves *et al.*, 2017). Dessa forma, o uso de TS deve ser acompanhado por um controle rigoroso das condições de armazenamento para garantir sua eficiência.

2.5. Fungos fitopatogênicos em sementes de soja

Em virtude da viabilidade observada por longos períodos, as sementes oferecem condições favoráveis para a sobrevivência dos fungos. Isso se deve principalmente à presença de nutrientes e energia contidos nas reservas das sementes. Essas reservas, que são liberadas gradualmente pelo metabolismo natural da semente, tornam-se rapidamente acessíveis sob a ação dos fungos (Mills, 1986), de forma que, a intensiva quebra das reservas após a colonização fúngica, aumenta a taxa de ácidos graxos livres e, consequentemente, a rancificação dos óleos. Esse processo também provoca a elevação da temperatura e da taxa respiratória da semente, intensificando a deterioração (Peske *et al.*, 2012).

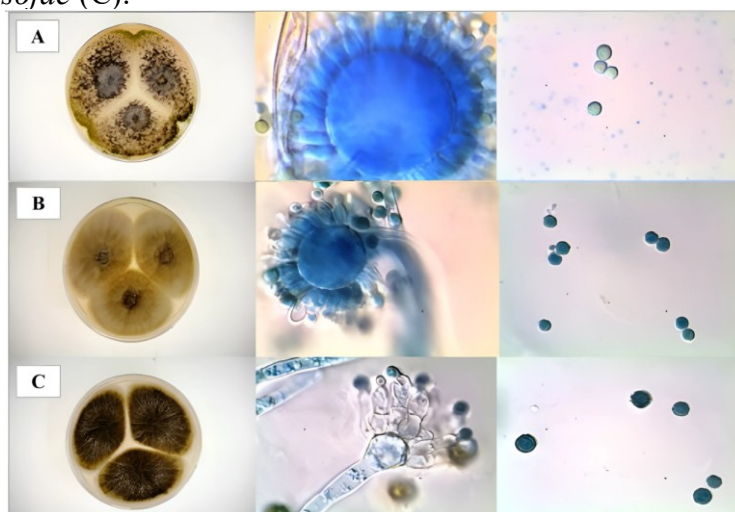
Em vista disso, a incidência de fungos durante o armazenamento de sementes é um fator limitante na preservação da qualidade e longevidade das sementes (Pedroso *et al.*, 2018), exigindo ações rápidas e eficazes. A classificação desses organismos é considerada uma medida inicial de controle, sendo os fungos comumente divididos em dois grupos: os fungos do campo

e fungos de armazenamento. Os fungos do campo, como *Fusarium* sp. e *Cladosporium* sp., são beneficiados pelo alto teor de água presente nas sementes antes da colheita. Sob condições favoráveis podem colonizá-las ainda no campo e as acompanhar até os processos de beneficiamento, armazenamento e semeadura. Já os fungos de armazenamento, como *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp., geralmente infectam as sementes após a colheita, ocasionando danos diretos por meio da deterioração (Amza, 2018; Sobrinho *et al.*, 2020; Nascimento *et al.*, 2022).

2.6. Taxonomia e descrição morfológica de fungos fitopatogênicos

Os fungos filamentosos do gênero *Aspergillus* são pertencentes à família Trichocomaceae, ordem Eurotiales, subclasse Eurotiomycetidae, classe Eurotiomycetes e filo Ascomycota. Algumas espécies possuem uma fase sexuada (telemórfica), associada aos gêneros *Emmericella* e *Eurotium*, com formação de ascos dentro de ascocarpos, onde os ascósporos são produzidos e liberados após a maturação. Morfologicamente, na reprodução assexuada, os conidióforos de *Aspergillus* são simples e terminam em vesículas globosas ou clavadas, onde se inserem as fiálides. Os conídios, dispostos em cadeias, são geralmente unicelulares, de coloração variada, como verde, amarelo ou preto, dependendo da espécie, sendo a estrutura em forma de cabeça, uma característica marcante do gênero (Figura 4) (Klich, 2007; Brandl; Andersen, 2017; Kocsubé *et al.*, 2016; Vadlapudi *et al.*, 2017).

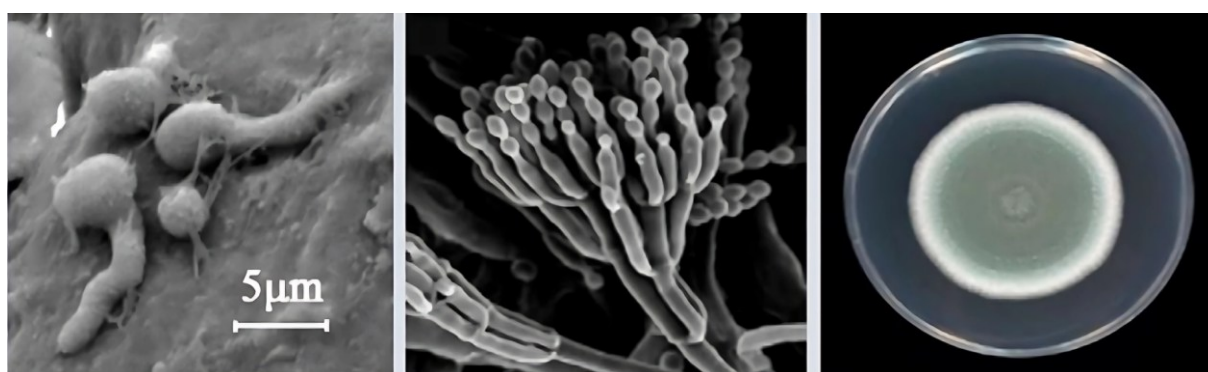
Figura 4 - Macro e microfotografias das espécies *Aspergillus flavus* (A), *Aspergillus oryzae* (B) e *Aspergillus sojae* (C).



Fonte: A autora adaptado de Silva *et al.* (2015).

Também pertencente ao filo Ascomycota, o gênero *Penicillium* é amplamente conhecido por sua morfologia característica e reprodução. Taxonomicamente, está classificado na mesma classe do gênero *Aspergillus* (Kimata *et al.*, 1978). Apresenta tanto a fase assexuada, marcada pela produção de conídios em cadeias que formam estruturas em forma de pincel, quanto a fase sexuada (telemórfica), identificada nos gêneros *Talaromyces* e *Eupenicillium*. O ascoma é cleistotecial, sem himênio, e abriga ascos dispersos cuja parede se rompe ao amadurecer, liberando ascósporos (Bergamin Filho *et al.*, 1995). Morfologicamente, os conidióforos de *Penicillium* são hialinos, geralmente verticais, e terminam em fiálides que geram conídios em cadeias. Segundo Bodade *et al.* (2010), os conídios são unicelulares, elípticos, lisos e variam de coloração entre verde e azulado. Essa estrutura, que se assemelha a um pincel ou vassoura, é uma característica marcante do gênero, como pode ser observado na Figura 5.

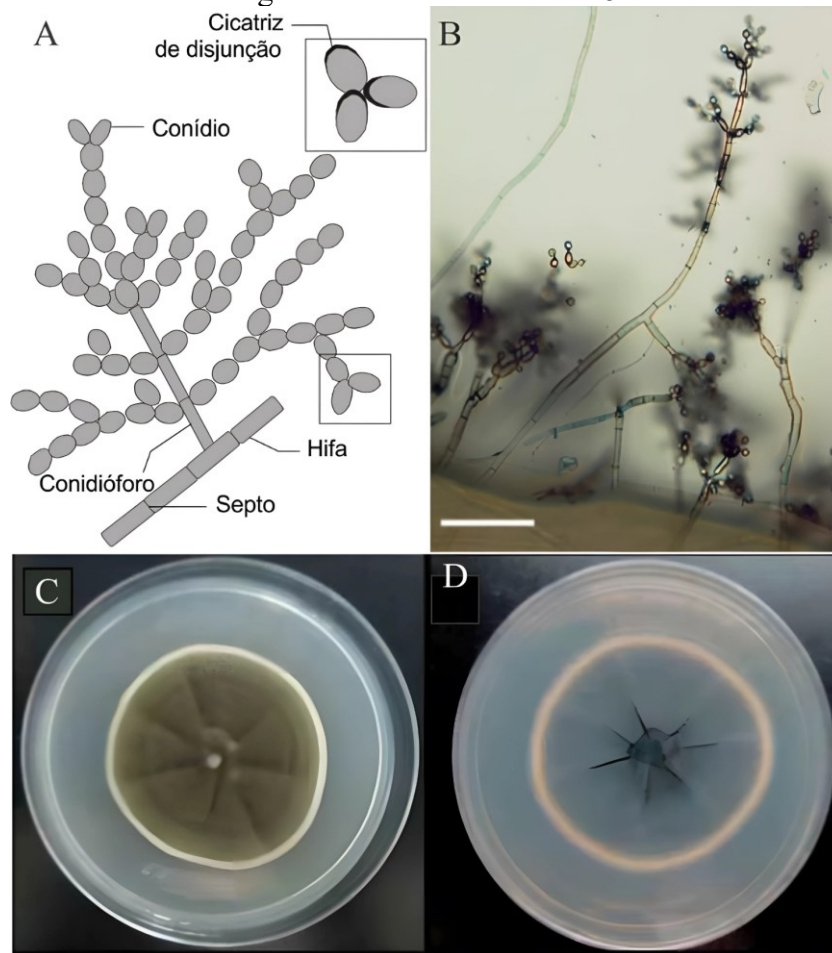
Figura 5 - Macro e microfotografias da espécie *Penicillium expansum*.



Fonte: A autora adaptação de Li *et al.* (2020).

O gênero *Cladosporium* é pertencente ao filo Ascomycota, classe Dothideomycetes, ordem Capnodiales e família Davidiellaceae, (Cronquis, 1981). Sua reprodução assexuada ocorre por meio da formação de conídios em cadeias, produzidos em conidióforos ramificados que emergem do micélio. Embora sua fase assexuada seja predominante, algumas espécies possuem uma fase sexuada (telemórfica), associada ao gênero *Davidiella*, com produção de ascos dentro de pseudotécios, que liberam ascósporos após a maturação (Bensch *et al.*, 2012). Segundo Ramos-Garcia (2016), os conidióforos de *Cladosporium* são septados e ramificados com fiálides que geram conídios em cadeias ramificadas, como pode ser observado na Figura 6. Os conídios são pequenos, lisos ou rugosos, de forma elíptica a cilíndrica, e apresentam uma coloração que varia do verde-oliva ao marrom.

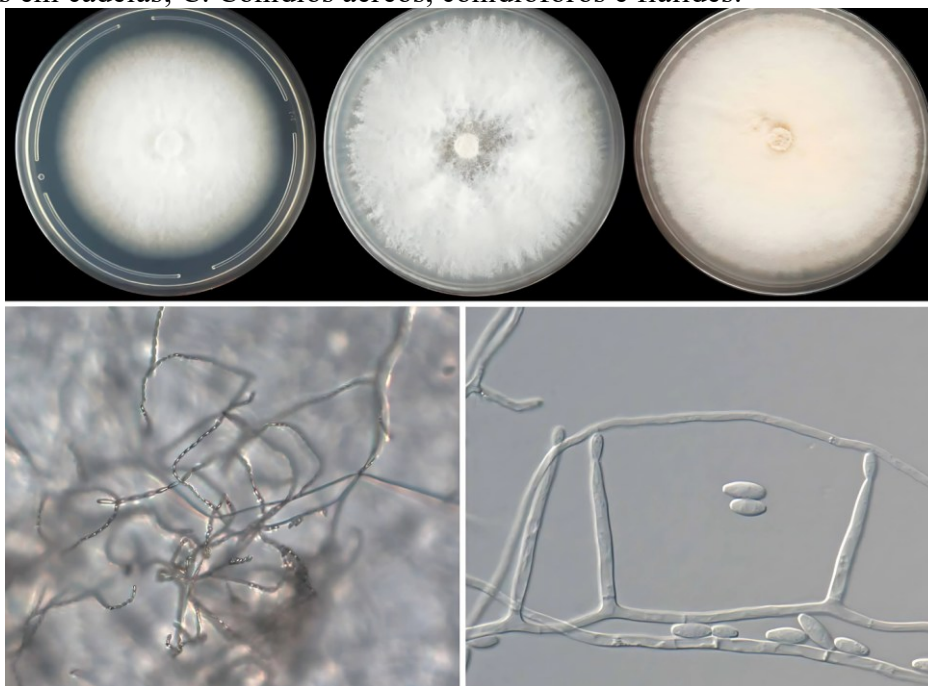
Figura 6 - Características morfológicas de *Cladosporium* spp. A: Conidiação. B: Micromorfologia. Barra de escala: 50 µm. C e D: Macromorfologia, verso e reverso da colônia após 14 dias de crescimento em ágar sabouraud dextrose à 25°C.



Fonte: Menezes, Perez e Oliveira (2017), adaptado de Fisher e Cook, (2001); Zalar *et al.*, (2007); Shi *et al.*, (2016).

Os fungos do gênero *Fusarium*, são pertencentes à família Nectriaceae, ordem Hypocreales, subclasse Hypocreomycetidae, classe Sordariomycetes e filo Ascomycota, e são amplamente conhecidos por sua relevância agrícola e fitopatológica. A reprodução assexuada de *Fusarium* ocorre por meio da formação de conídios produzidos em conidióforos ramificados, geralmente simples e comumente agrupados em esporodóquios ou picnídios. Os conídios assexuados podem ser classificados em macroconídios, com formato fusiforme e multisseptados; microconídios, menores e geralmente unicelulares ou bicelulares (Figura 7); e clamidósporos, estruturas de resistência formadas sob condições adversas (Leslie; Summerell, 2006). Algumas espécies de *Fusarium* também possuem uma fase sexuada (telemórfica), associada ao gênero *Gibberella*, caracterizada pela produção de ascos em peritécios, onde os ascósporos são formados e dispersos após a maturação (Nelson; Toussoun; Marasas, 1983).

Figura 7 - *Fusarium verticillioides* (CBS 218.76^{ET}). A. Colônias em BDA após 7 dias à 25 °C sob luz, escuridão e luz UV (da esquerda para a direita), respectivamente; B. Conídios aéreos produzidos em cadeias; C. Conídios aéreos, conidióforos e fiálides.



Fonte: A autora adaptado de Yilmaz *et al.* (2021).

Os fungos *Cladosporium* spp. e *Fusarium* spp., classificados como patógenos de campo, podem permanecer viáveis durante o armazenamento das sementes até a semeadura, representando potenciais riscos futuros para as lavouras (Amza, 2018). Embora *Cladosporium* spp. seja menos frequente na cultura da soja, pode estar associado a manchas foliares e, raramente, a lesões em vagens e ramos. Por outro lado, *Fusarium* spp. é um patógeno relevante na soja, causando doenças como murchas, *damping-off* (tombamento), necrose foliar, podridão radicular e a síndrome da morte súbita (SDS), que impactam significativamente a produtividade (Nelson, 1997; Díaz Arias *et al.*, 2013; Ellis *et al.* 2013; Chang *et al.*, 2015; Costa *et al.*, 2016).

Diante desses desafios, a busca por soluções mais sustentáveis e inovadoras no manejo agrícola tem encontrado na nanotecnologia um grande potencial. Com propriedades únicas, as nanopartículas podem oferecer uma abordagem eficiente e ambientalmente responsável para o controle de doenças em sementes de soja, protegendo-as sem comprometer sua integridade. Investir nessa tecnologia representa um passo importante para reduzir perdas e promover uma agricultura mais sustentável e competitiva.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos com sementes de soja NEO680IPRO, no Laboratório de Bacteriologia Vegetal (LABAC) e no Laboratório de Sementes (LASEM), do Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG), da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), MG, Brasil. As nanopartículas (NPs) foram definidas a partir de trabalhos previamente desenvolvidos (Fraga *et al.*, 2021; Duarte, Catão, Tebaldi, 2022), sendo elas: óxido de zinco (ZnO) e óxido de zinco dopado com magnésio (ZnO:Mg), potássio (ZnO:K) e molibdênio (ZnO:Mo). Estas foram sintetizadas no Laboratório de Novos Materiais Isolantes e Semicondutores, do Instituto de Física da UFU, de acordo com a metodologia descrita por Silva *et al.* (2018).

3.1. Caracterização Inicial

A caracterização do lote foi realizada pelos testes de germinação e teor de água, segundo as Regras para Análise de Sementes - RAS (Brasil, 2009b), massa seca, emergência, envelhecimento acelerado (Kryzanowski *et al.*, 2020), tempo médio de emergência (Edmond e Drapala, 1958), e blotter test (Brasil, 2009a). A partir da avaliação da qualidade sanitária foram selecionados os fungos com maior incidência para a condução do experimento, sendo eles, *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp. e *Fusarium* spp.

3.2. Tratamento das sementes de soja com nanopartículas

O processo de tratamento foi efetuado em máquina Momesso Arktos Laboratório L2K, para simulação do tratamento industrial em bateladas. As sementes foram tratadas com as nanopartículas na concentração de 105 mg/kg de sementes, diluindo em 10 ml de água destilada cada NP. Para o fungicida Tiofanato-metílico + Fluazinam (Certeza® N) foi utilizada a dose recomendada pelo fabricante (180 ml p.c./100 kg de sementes), sendo 1,8 ml adicionado a 10 ml de água destilada. Para a testemunha também foi utilizado 10 ml de água destilada para padronização dos tratamentos. Em sequência, todas as sementes foram recobertas com o polímero Azul Labfix (2 ml.kg de semente), para reter as nanopartículas na semente. Posteriormente, as sementes foram secas em temperatura ambiente por 24 horas e em seguida separadas em sacos de papel kraft por tempo de armazenamento e tratamento de sementes. Após identificação foram acondicionadas em câmara fria em condições de temperatura regulada previamente para 15 °C e umidade relativa (UR) de 55±5%.

3.3. Difração de Raios X (DRX)

Para detalhar características microestruturais e morfológicas do óxido de zinco e suas respectivas dopagens foi efetuado ensaio por difração de raios X (DRX) utilizando o difratômetro Shimadzu, modelo XRD 6000, localizado no Laboratório Multiusuário do Instituto de Química (LAMIQ) da UFU. A difração ocorreu sob as seguintes condições: fonte monocromática $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1,54056$ Angstroms); voltagem (kV): 40; corrente (mA): 30; ângulo de varredura (2θ): $5 - 90$; com velocidade de varredura de 2° min^{-1} . O resultado obtido da linha de difração foi identificado por comparação com linhas-padrões obtidas no banco de dados cristalográficos da *Inorganic Crystal Structure Database* (ICSD), disponível para acesso através do portal da pesquisa conveniado pela CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

3.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para analisar e identificar a presença das nanopartículas na superfície das sementes de soja, inicialmente foi feita a avaliação do óxido de zinco (pó) e suas respectivas dopagens, e posteriormente da superfície das sementes. Para tal validação, uma semente de cada tratamento e o pó de cada nanopartícula foi metalizado com revestidor de pulverização Quorum Technologies Ltd, modelo: Q150R ES, alocado no Laboratório Multiusuário de Microscopia Eletrônica de Varredura (LAMEV) no Instituto de Química da UFU. Essa preparação deposita uma camada de ouro, de aproximadamente 10 nm sobre as estruturas, auxiliando na resolução e captura de imagem da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Após metalização das amostras, estas foram submetidas a um processo de vácuo para posterior análise na MEV pelo equipamento da TESCAN modelo VEGA 3 LMU, também localizado no LAMEV. As fotografias foram feitas de áreas centrais das amostras com ampliações de 10.000x em cada tratamento com aceleração do feixe de 20 kV. Simultaneamente ao MEV foi utilizado o detector EDS (*energy dispersive x-ray detector*) e o software do sistema, para determinar a abundância e a composição química de elementos específicos presentes na microscopia da superfície das sementes de soja.

3.5. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Para as análises de microscopia eletrônica de transmissão (MET), 4 mg de cada nanopartícula utilizada (ZnO, ZnO:Mg, ZnO:K, e ZnO:Mo) foi solubilizada em 1 mL de água deionizada, e as dispersões produzidas foram mantidas em banho de ultrassom por 30 minutos, para desagregação das partículas. Em seguida, 1 gota de cada amostra foi pingada em grids de cobre de 300 mesh recobertos com filme de carbono (Formvar), e a secagem foi feita em temperatura ambiente por 48 horas para a realização da análise. As imagens foram realizadas com o microscópio eletrônico Hitachi (HT7700), locado na Rede de Laboratórios Multiusuários (RELAM) da UFU, operado com resolução de 80 kV.

3.6. Avaliação da qualidade fisiológica das sementes de soja

Para a avaliação da qualidade das sementes, durante os quatro períodos de armazenamento (0; 45; 90; e 135 dias), foram utilizados os seguintes testes:

Teor de água: mensurado por meio do método da estufa (24 horas a 105 °C), sendo os valores expressos em porcentagens (base úmida), conforme (Brasil, 2009b).

Germinação entre papel: conduzido com quatro repetições de 50 sementes por tratamento, com semeadura em substrato papel (entre 2 folhas), em rolos, umedecidos com água destilada em quantidade equivalente à 2,5 vezes o peso do papel seco. Foram mantidas em incubadora do tipo BOD à 25 °C, com fotoperíodo de 12 h luz/ 12 h escuro. As contagens de plântulas normais foram realizadas ao oitavo dia após a semeadura (Brasil, 2009b). Os resultados foram expressos em porcentagem.

Germinação com vermiculita: foi conduzido de forma semelhante ao teste convencional, apresentando pequenas alterações. Foram utilizadas 3 folhas de papel umedecidas com 3,0 vezes seu peso seco, sendo duas posicionadas abaixo das sementes. Em seguida, foram adicionadas 100 ml de vermiculita, umedecida na proporção de 1:1 (mg/ml), sobre as sementes, que foram cobertas por outra folha de papel, confeccionando quatro repetições (rolos) de 50 sementes (Carvalho *et al.*, 2024). Os resultados foram expressos em porcentagem.

Comprimento de plântulas: foram utilizadas vinte sementes para cada tratamento, com quatro repetições. As sementes foram distribuídas entre papel de germinação (rolos), umedecidos com água destilada em quantidade equivalente à 2,5 vezes o peso do papel seco. Os rolos de germinação foram acondicionados em BOD, durante três dias à 25 °C (Brasil,

2009b). Após 3 dias as plântulas tiveram seu comprimento mensurado por meio de imagens avaliadas pelo *software* ImageJ®, obtendo-se o comprimento do hipocótilo e da raiz em centímetros (cm). Os índices de crescimento, vigor e uniformidade, foram calculados a partir dessas medidas pelo pacote SeedCalc disponibilizado pelo Software R (Silva *et al.*, 2019), a partir das seguintes fórmulas:

$$\text{Índice de Crescimento} = (\bar{X}_h * w_h) + (\bar{X}_r * w_r)$$

Onde: $\bar{X}_h$: comprimento médio de hipocótilo; $\bar{X}_r$: comprimento médio de radícula; w_h e w_r : pesos ajustáveis para hipocótilo e radícula, com valores de referência de 10 e 90, respectivamente (Sako *et al.*, 2001).

$$\text{Índice de Uniformidade} = \left[\frac{\sum_{i=1}^n |Xi - \bar{X}|}{n \times \bar{X}} \right] * 1000 - [n_{dead} * (\frac{50}{n_{total}})]$$

Onde: Xi: comprimento das plântulas analisadas; $\bar{X}$: média dos comprimentos das plântulas; n: variável do número total de plântulas; n_{dead} : número de sementes não germinadas; n_{total} : número de sementes não germinadas (Christiansen (1942), adaptado por Castan *et al.* (2018)).

$$\text{Índice de Vigor corrigido} =$$

$$(\text{Índice de crescimento} * w_g) + (\text{Índice de Uniformidade} * w_u) * (\frac{G}{100})$$

Onde: w_g : peso ajustável para o índice de crescimento; w_u : peso ajustável para o índice de uniformidade; e G: porcentagem de germinação (Medeiros e Pereira, 2018).

Emergência: o substrato (areia) foi colocado em bandejas plásticas, umedecido à aproximadamente 60% da capacidade de campo na semeadura e posteriormente quando necessário, de forma uniforme. Para a semeadura foram utilizadas 4 repetições de 50 sementes. As bandejas foram mantidas em casa de vegetação à temperatura ambiente. A contagem de emergência de plântulas normais foi realizada ao 8º dia após a semeadura, sendo os resultados expressos em porcentagem (Kryzanowski *et al.*, 2020).

Tempo Médio de Emergência (TME): as avaliações foram feitas diariamente, durante 8 dias, em horário fixo previamente definido. As plântulas contabilizadas como emergidas possuíam cotilédones acima do substrato. Para fins de cálculo foi utilizada a equação de Edmond e Drapala (1958):

$$TME = \frac{E1*T1+E2*T2+\dots+Ei*Ti}{E1+E2+\dots+Ei}$$

Onde: TME: tempo médio necessário para atingir a emergência máxima em dias; E: número de plântulas emergidas ocorrida por dia; T: tempo em dias.

Envelhecimento acelerado: foi conduzido em caixas plásticas do tipo gerbox, onde distribuiu-se sementes em camada única na tela metálica, que se encontrava suspensa na caixa.

No fundo foram adicionados 40 mL de água destilada. Posteriormente, as caixas plásticas contendo as sementes foram mantidas em incubadoras do tipo B.O.D. à 41 °C durante 48 horas (Marcos-Filho, 2020b). Decorrido o período de exposição ao envelhecimento, as sementes foram semeadas entre papel de germinação, seguindo os critérios do teste de germinação citados anteriormente. A contagem de plântulas normais foi realizada aos 5 dias após a semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem.

Envelhecimento acelerado com vermiculita: Foi conduzido de forma semelhante ao teste convencional (Marcos-Filho, 2020b), apresentando pequenas alterações. Decorrido o período de exposição ao envelhecimento acelerado, as sementes foram semeadas entre papel de germinação com camada uniforme de vermiculita, seguindo os critérios do teste de germinação com vermiculita citados anteriormente. A contagem de plântulas normais foi realizada aos 5 dias após a semeadura, e os resultados foram expressos em porcentagem.

3.7. Avaliação da qualidade sanitária das sementes de soja

A incidência dos fungos (pós-tratamento de sementes e períodos de armazenamento) foram avaliadas pelo teste de papel de filtro (*Blotter Test*) (Brasil, 2009a). As sementes foram colocadas sobre duas folhas de papel mata borrão esterilizado, umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do substrato, em caixas tipo gerbox (12 cm x 12 cm x 5cm). Foram utilizadas 200 sementes, sendo oito repetições de 25. As caixas foram incubadas em incubadora do tipo BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) à temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$, por 24 horas, com fotoperíodo de 12 h luz/ 12 h escuro. Posteriormente foram transferidas para o congelador à $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas e em seguida incubadas novamente à $20 \pm 2^\circ\text{C}$ por 7 dias. A identificação dos fungos presentes nas sementes foi realizada com o auxílio de um microscópio estereoscópico e microscópio óptico comum, quantificando-se a incidência dos fungos em porcentagem.

3.8. Análises estatísticas

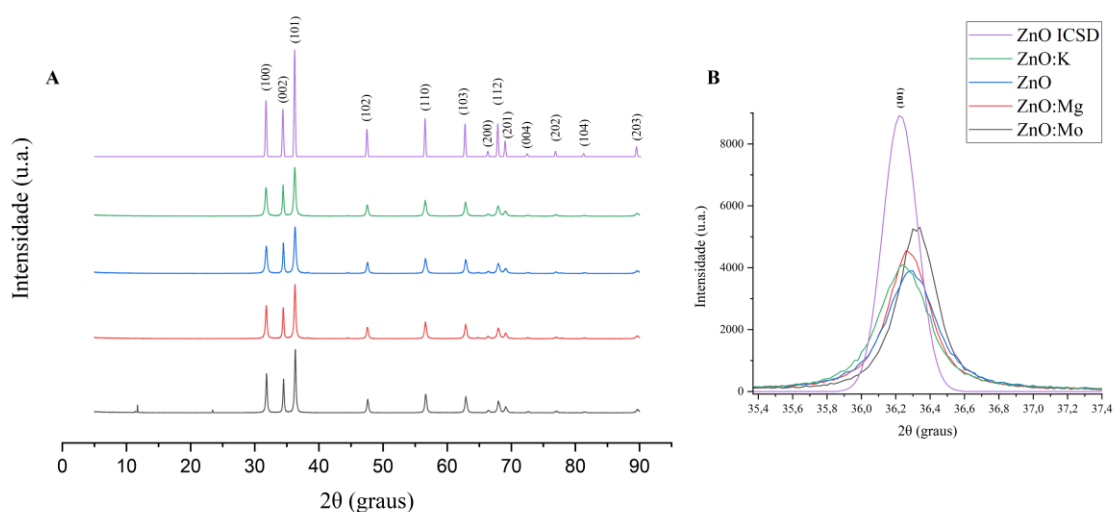
Para a avaliação da qualidade das sementes, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em arranjo de 6 x 4, sendo seis tratamentos de sementes [quatro nanopartículas (ZnO, ZnO:Mg, ZnO:K e ZnO:Mo); um fungicida (Tiofanato-metílico + Fluazinam); e a testemunha (água destilada)], em quatro períodos de armazenamento (0; 45; 90; e 135 dias). Os dados foram submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk) e

ao teste de homogeneidade de variâncias (OneillMathews). Para dados que atenderam pelo menos a homogeneidade foi realizada a análise de variância e, quando significativos analisados pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade e regressão.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O difratograma das nanopartículas revelou uma estrutura policristalina do tipo wurtzita, caracterizada por picos nítidos e intensos correspondendo aos planos (100), (002), (101), além de picos de menor intensidade associados aos planos (102), (110), (103), (200), (112), (201), (004), (202), (104) e (203). Essa sequência de planos foi observada em todos os gráficos das nanopartículas analisadas neste estudo e comparada com a base de dados ICSD (*Inorganic Crystal Structure Database*), corroborando com os resultados de Šarić *et al.* (2022) (Figura 8A). É importante destacar que, embora tenham sido detectadas impurezas em determinados ângulos do teste, não foram identificados cristais que confirmassem a composição dessas impurezas. Apesar da semelhança nos padrões de difração das diferentes nanopartículas foram observados pequenos deslocamentos laterais nos planos, possivelmente indicando a presença dos agentes dopantes: molibdênio, potássio e magnésio (Figura 8B).

Figura 8 - Difratograma de raio X indicando a presença da fase hexagonal de nanopartículas de ZnO ICSD (Padrão), ZnO:Mo, ZnO:K, ZnO e ZnO:Mg (A) e ampliação do plano (101) (B).

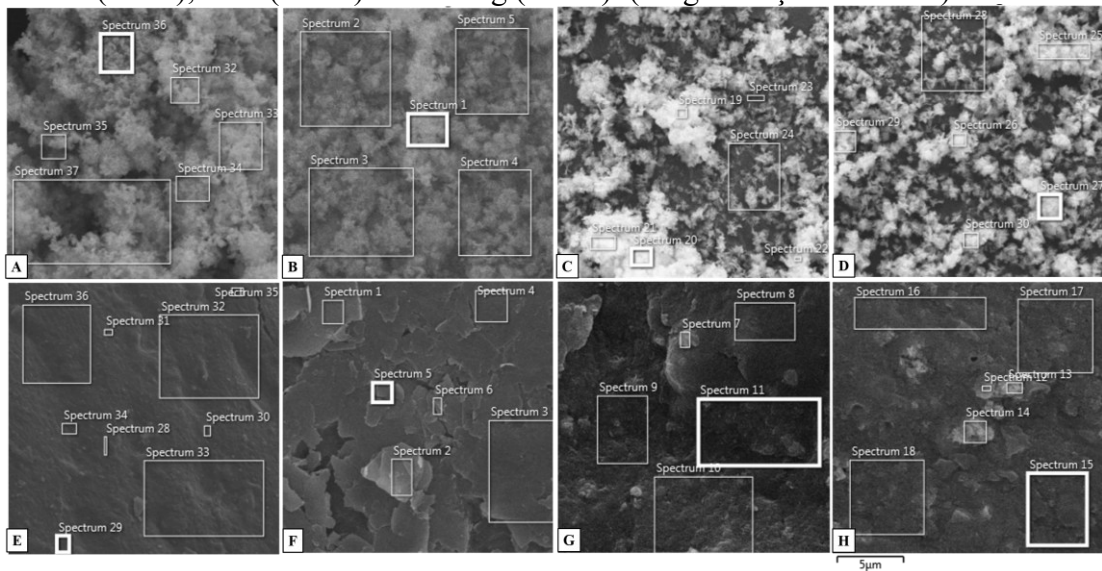


Fonte: A autora.

As micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) revelaram que o pó de cada nanopartícula apresentou características semelhantes, com superfície esbranquiçada e distribuição mais homogêneas de pontos de aglomeração. Considerando a magnificação de 10.000x, a morfologia observada indicou estruturas de formação irregular (Figura 9A, 9B, 9C e 9D). Na superfície (tegumento) das sementes foram identificadas estruturas esbranquiçadas distribuídas de forma pontual (Figura 9E, 9F, 9G e 9H), o que foram analisadas quanto a sua composição química elementar por meio da técnica EDS. Essa análise

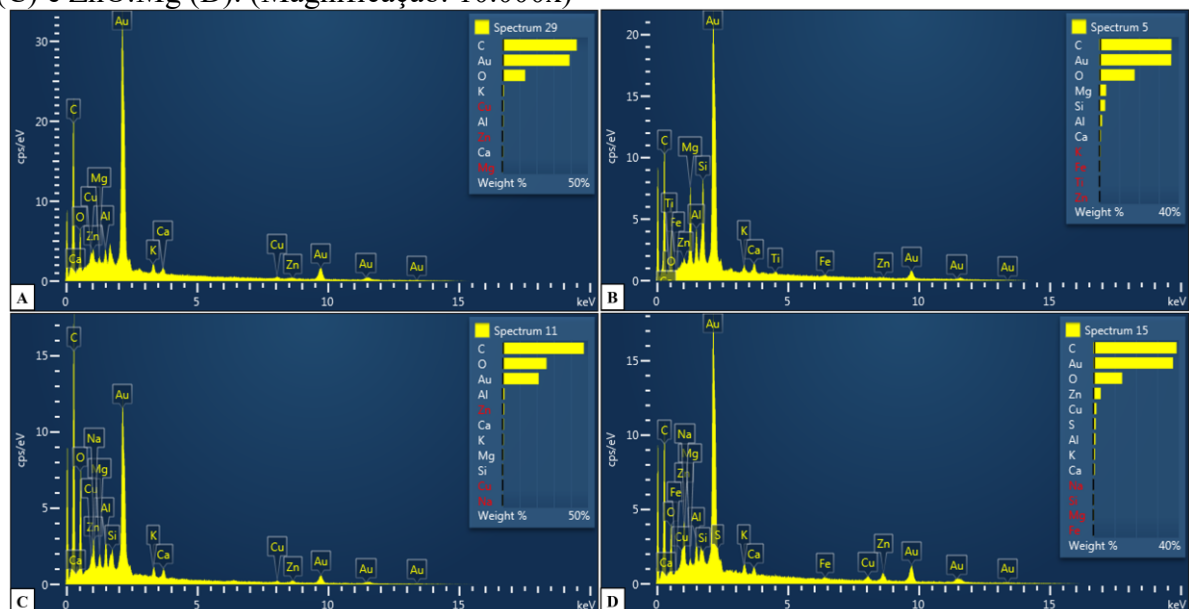
confirmou a presença de zinco e oxigênio em todas as detecções, das quatro amostras, no tegumento da semente, com concentrações de Zn e suas dopagens inferiores a 4%, conforme a Figura 10. Essa baixa porcentagem pode ser justificada pela difícil diluição das NPs, dificultando a homogenização da cobertura do tratamento e a dosagem definida para o experimento.

Figura 9 - Micrografias obtidas por MEV do aglomerado que compõem o pó (A, B, C e D) e da superfície de sementes de soja (E, F, G e H) tratadas com nanopartículas de ZnO:Mo (A e E), ZnO:K (B e F), ZnO (C e G) e ZnO:Mg (D e H). (Magnificação: 10.000x)



Fonte: A autora.

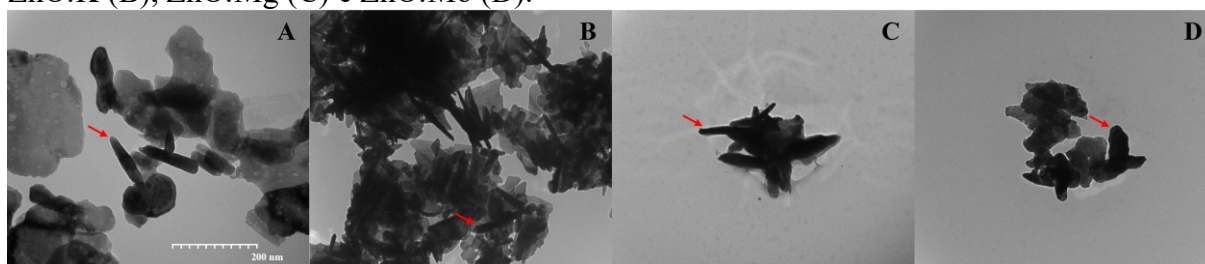
Figura 10 - Elementos químicos detectados pelo EDS, durante a análise do MEV, presentes na superfície de sementes de soja tratadas com nanopartículas de ZnO:Mo (A), ZnO:K (B), ZnO (C) e ZnO:Mg (D). (Magnificação: 10.000x)



Fonte: A autora.

As micrografias obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) permitiram visualizar a morfologia das nanopartículas, que apresentaram principalmente a forma de bastões, com dimensões aproximadas de 140x40nm (Figura 11). Além disso, foram observadas partículas prismáticas e algumas formas indefinidas. As imagens também revelaram aglomerações dessas partículas, tal como foi observado no MEV. Outra característica notável foi a variação no tamanho das partículas, independentemente da sua forma, conforme descrito por Valencia *et al.* (2014).

Figura 11 - Micrografias obtidas por MET identificando as partículas primárias de ZnO (A), ZnO:K (B), ZnO:Mg (C) e ZnO:Mo (D).

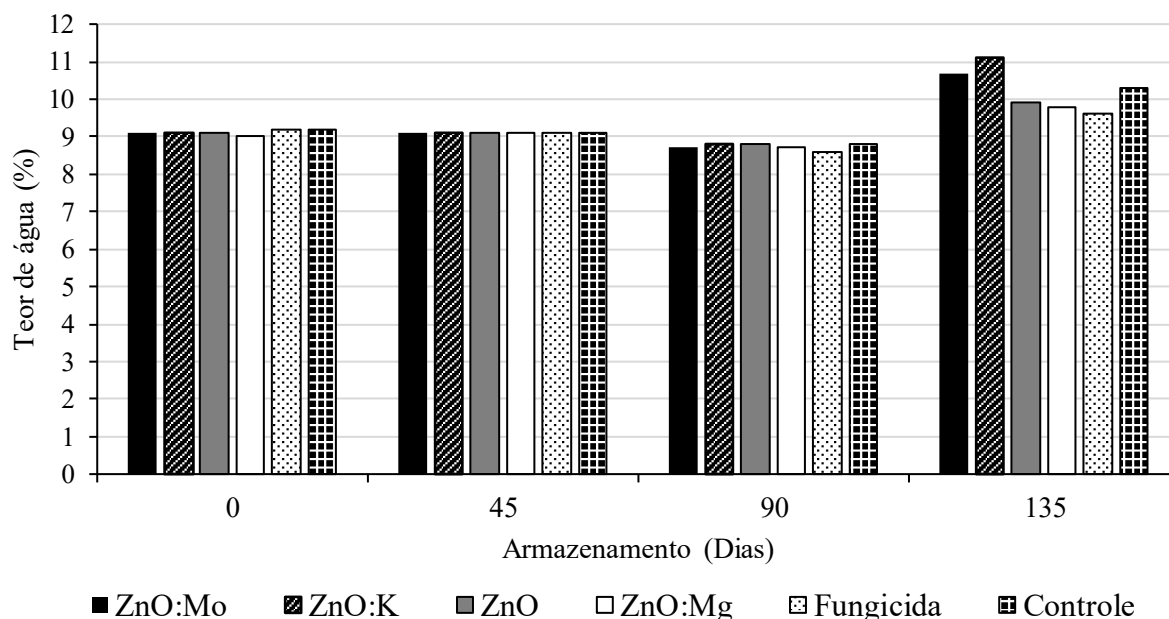


Fonte: A autora.

No teor de água das sementes tratadas com nanopartículas houve poucas alterações ao longo dos períodos de armazenamento, exceto aos 135 dias, apresentando aumento mais significativo. Contudo, a diferença observada entre os tratamentos foi inferior à 2% (Figura 12). Segundo Marcos-Filho (2015a), variações de até 2% no grau de umidade das amostras não comprometem os resultados obtidos, garantindo a confiabilidade das avaliações do potencial fisiológico das sementes.

O aumento do teor de água observado no último período de armazenamento pode estar relacionado ao aumento da umidade relativa do ar durante esse período. Quando a pressão de vapor de água na superfície da semente é inferior à pressão de vapor do ambiente, a semente tende a adsorver água do meio até que as pressões se igualem, alcançando o equilíbrio higroscópico. Nesse ponto, a transferência de água do ambiente para a semente é interrompida (Carvalho, 1994).

Figura 12 - Teor de água de sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento.



No teste de germinação padrão observou-se que, inicialmente, houve menor germinação das sementes tratadas com nanopartícula de ZnO:K e do Fungicida. Aos 90 dias, ZnO:K foi superior aos demais tratamentos, enquanto, as sementes tratadas com NP de ZnO obtiveram a menor porcentagem germinação que também foi observado aos 135 dias e se igualando ao tratamento com ZnO:Mo, nesse período de armazenamento (Figura 13A). Diante aos resultados inferiores de germinação observados em algumas nanopartículas, em comparação ao Controle, nos períodos de 0, 90 e 135 dias de armazenamento, acredita-se que as NPs possam estar causando fitotoxicidade nas sementes, interferindo nos processos metabólicos da germinação. No entanto, esse resultado pode ser justificado pela metodologia do teste de germinação convencional.

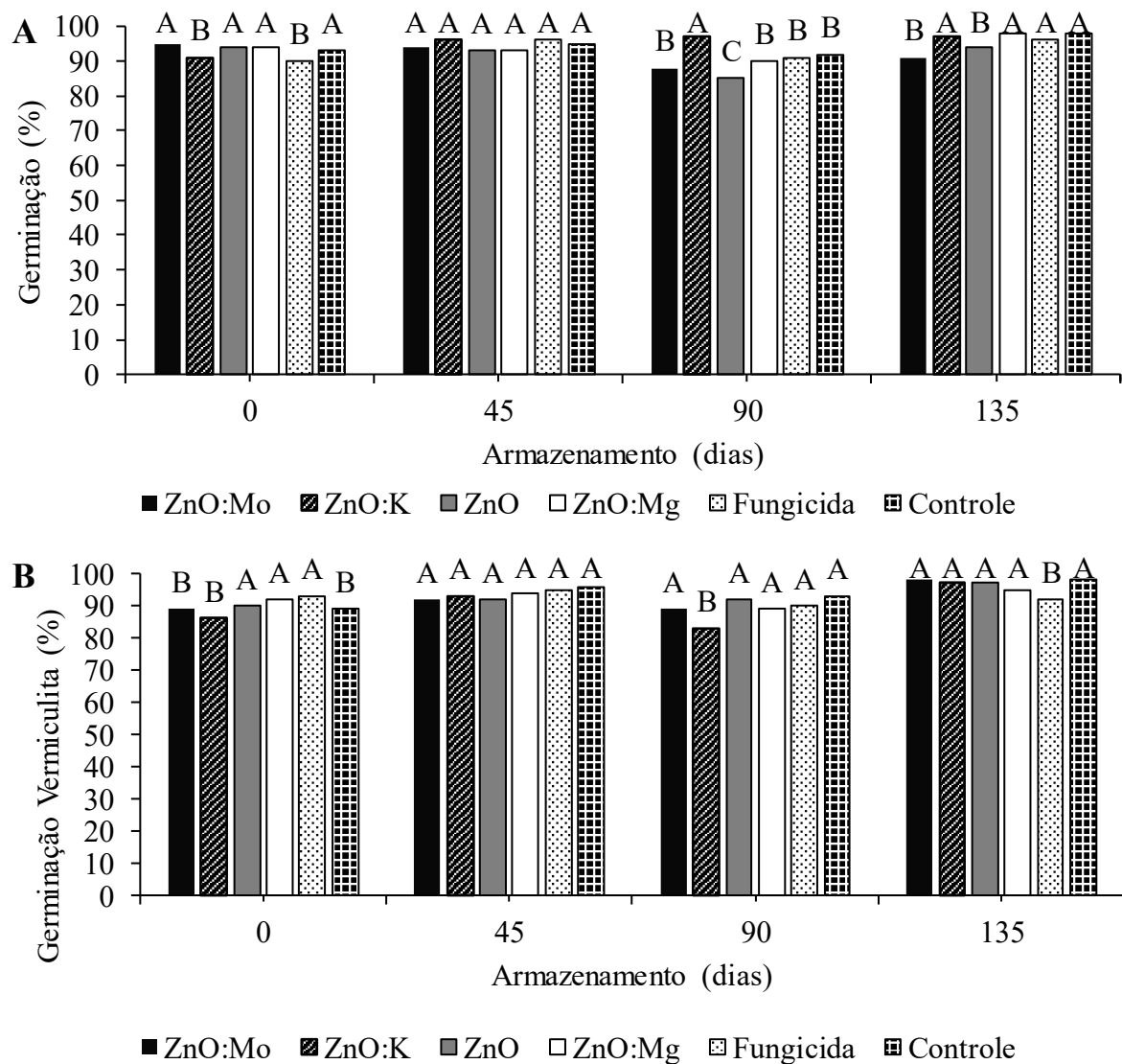
A germinação é um dos testes mais utilizados para avaliar a viabilidade de uma semente, identificando o potencial máximo expressado em condições ideais para cada cultura (Panda e Mondal, 2020). Esse processo começa com a embebição das sementes, que promove a reidratação dos tecidos e a intensificação da respiração, reativando uma sequência ordenada de processos metabólicos. Eventos estes que culminam no crescimento do eixo embrionário e no rompimento do tegumento pela radícula (Araújo *et al.*, 2018; Souza *et al.*, 2018).

Contudo, os testes de germinação conduzidos em laboratório utilizam metodologias em que há o contato direto da semente com a água, geralmente em substrato de papel. Nesse cenário, o tratamento das sementes se dissipa no substrato, formando halos com grande

concentração de princípio ativo do produto, que permanecem em contato direto com a semente durante todo o período do teste, impedindo que ela expresse seu real potencial germinativo. Dessa forma, o uso da vermiculita entre papel surge como uma alternativa amenizadora ao contato direto da semente com o halo no substrato (Rocha *et al.*, 2020; Carvalho *et al.*, 2024).

No teste de germinação com vermiculita, no período zero, sementes tratadas com ZnO:Mo, ZnO:K e Controle obtiveram menor potencial de germinação. Aos 90 dias, o tratamento com ZnO:K se manteve inferior aos demais; e aos 135 dias as sementes tratadas com o fungicida obtiveram menor germinação (Figura 13B). Ao analisar o comportamento das sementes utilizando o substrato vermiculita, observou-se que houve menor efeito fitotóxico pelos tratamentos em comparação ao uso exclusivo do papel de germinação.

Figura 13 - Porcentagem de germinação padrão (A) e com vermiculita (B) de sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento.



Legenda: Médias seguidas de mesma letra entre os tratamentos não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott à 5% de significância.

Os testes de vigor buscam avaliar a capacidade da semente germinar e estabelecer plântulas vigorosas sob condições adversas do meio e durante o armazenamento (Marcos-Filho, 2015b). Entre os métodos disponíveis, o envelhecimento acelerado se destaca como um teste direto de vigor que submete as sementes a alta temperatura e umidade, por um período determinado, influenciando a velocidade e intensidade de deterioração (Somasundaram e Bhaskaran, 2017). No teste de envelhecimento acelerado (EA) convencional, aos 45 dias, houve maior vigor em sementes tratadas com as nanopartículas de ZnO:K, ZnO e o Controle. Aos 90 dias de armazenamento, o tratamento de sementes com fungicida (Tiofanato-metílico + Fluazinam) foi superior aos demais. Sementes tratadas com ZnO:Mo obtiveram o menor vigor aos 90 e 135 dias de armazenamento. Aos 135 dias, sementes tratadas com ZnO:Mg e Controle foram menos vigorosas, enquanto, aquelas tratadas com ZnO foram superiores (Figura 14A).

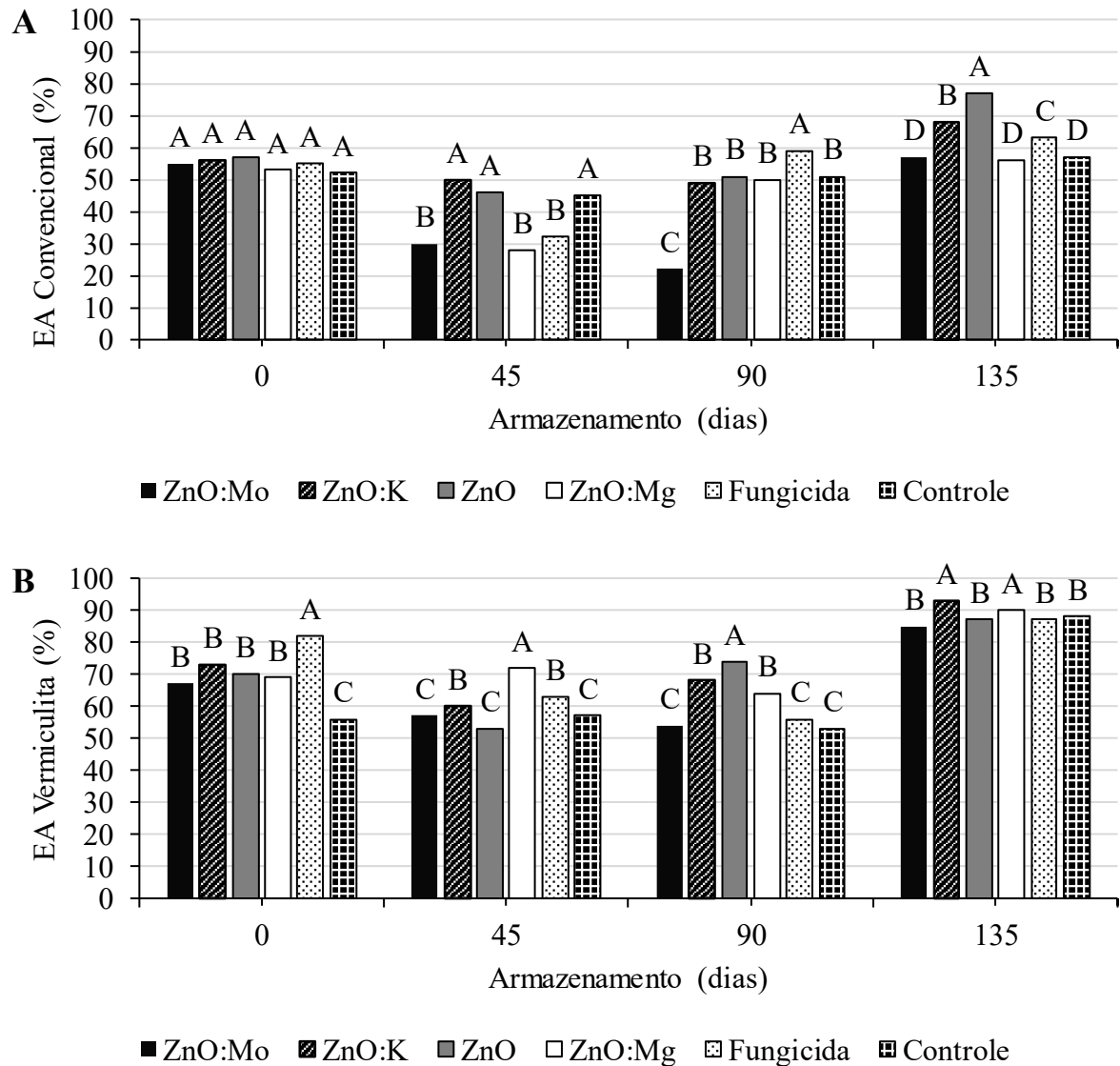
Assim como nos resultados de germinação observou-se que, o uso da vermiculita no EA amenizou os efeitos fitotóxicos, permitindo que os tratamentos expressassem seu potencial. No teste de EA vermiculita, no período zero, houve maior vigor de sementes no tratamento com Fungicida e menor no Controle. Sementes do tratamento Controle também tiveram pior desempenho (vigor) nos períodos de 45 e 90 dias (Figura 14B). Aos 45 dias, o tratamento com ZnO:Mg foi superior aos demais, enquanto, os tratamentos com ZnO:Mo e ZnO obtiveram menor porcentagem no EA. No armazenamento por 90 dias, o tratamento com ZnO:Mo se manteve como uma das piores médias, assim como o Fungicida. Sementes do tratamento com ZnO foram mais vigorosas que as demais. Aos 135 dias, ZnO:K e ZnO:Mg destacaram-se com as maiores médias (Figura 14B).

Durante o armazenamento, as sementes estão sujeitas a variações de umidade e temperatura, responsáveis por alterações na intensidade respiratória e, consequentemente, no gasto energético da semente (Wawrzyniak *et al.* 2020). Como subproduto desse processo são geradas espécies reativas de oxigênio (EROs), que, em altas concentrações são consideradas citotóxicas, ocasionando danos ao DNA, oxidação de proteínas, peroxidação lipídica e instabilidade da membrana celular, acelerando a deterioração (Kurek *et al.* 2019).

Apesar da deterioração ser uma prática inevitável e que não pode ser revertida (Solberg *et al.* 2020), estudos evidenciam que uso de nanopartículas metálicas estão promovendo alterações nos processos fisiológicos deteriorativos por meio da redução das EROs (Acharya *et al.* 2019; Kumar *et al.* 2020a, b). A redução das espécies reativas de oxigênio ocorre devido a liberações de elétrons extras e pela indução de reações de oxirredução por meio do radical superóxido, promovidos pelas nanopartículas nas sementes (Shyla e Natarajan, 2014; Lu *et al.*,

2006). Prasad *et al.* (2012) observaram mesmo padrão de neutralização das EROs com o uso de NPs de zinco. Esse mecanismo pode justificar o desempenho superior de determinadas nanopartículas no teste de EA com vermiculita, em comparação ao Controle, durante o período de armazenamento.

Figura 14 - Porcentagem de envelhecimento acelerado convencional (A) e com vermiculita (B) de sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento.

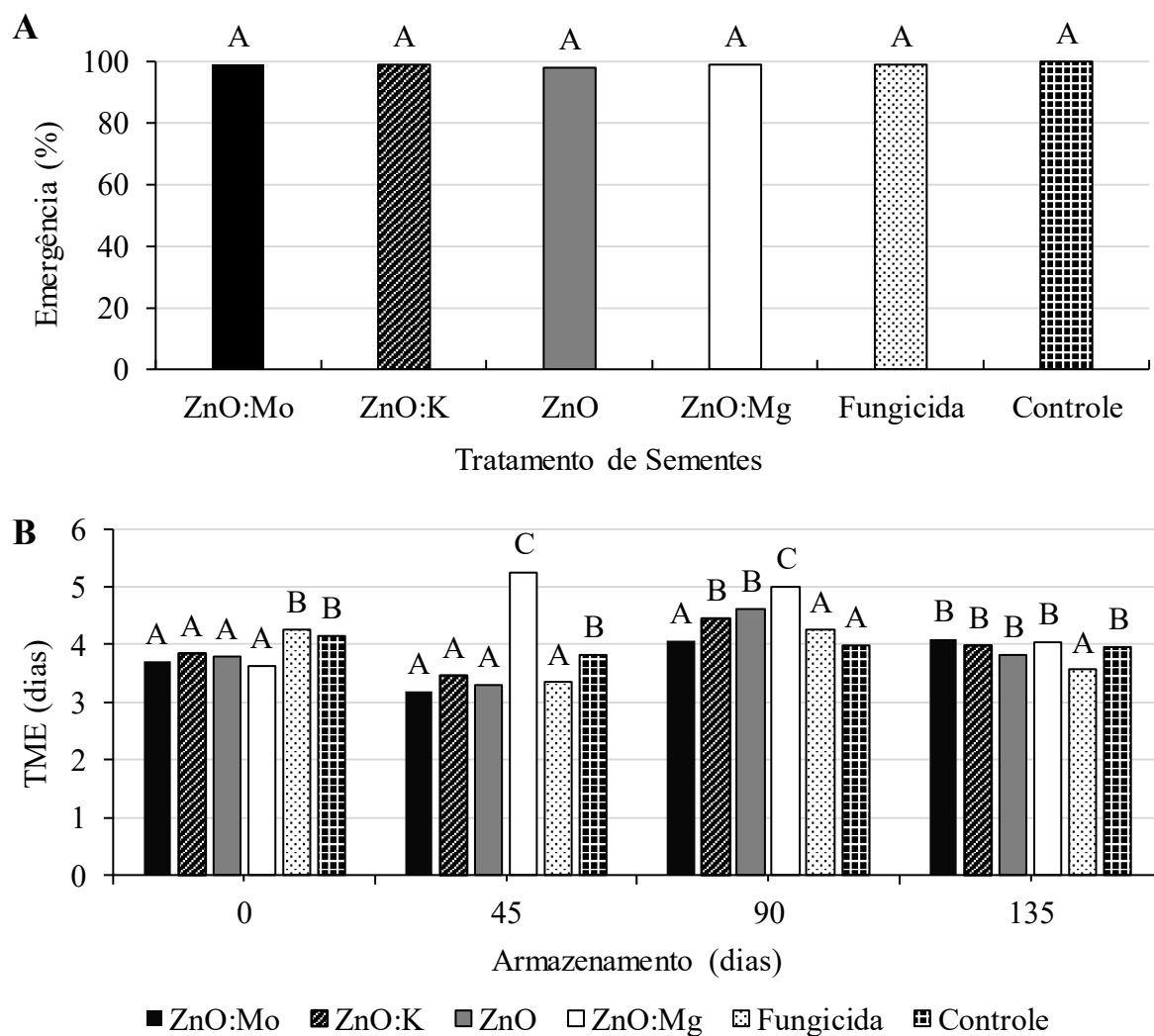


Legenda: Médias seguidas de mesma letra entre os tratamentos não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott à 5% de significância.

No teste de emergência não houve interação entre os tratamentos das sementes e o tempo de armazenamento. Entretanto, ao analisar os fatores de forma isolada, nota-se que entre os tratamentos das sementes não houve diferença estatística, permanecendo com elevada porcentagem de emergência (Figura 15A). Isso pode ser um indicativo de que, o uso de

nanopartículas de ZnO:Mo, ZnO:K, ZnO e ZnO:Mg não interfere no desenvolvimento das plântulas durante a emergência, e que, o substrato pode estar auxiliando a reduzir a possível fitotoxicidade gerada pelo contato direto do tratamento com a semente durante o período de teste.

Figura 15 - Porcentagem de emergência (A) e tempo médio de emergência (TME) (B) de sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento.



Legenda: Médias seguidas de mesma letra entre os tratamentos não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott à 5% de significância.

Sob outra perspectiva, o tempo médio de emergência (TME) estratificou os tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento (Figura 15B). No período zero houve maior vigor nas sementes tratadas com nanopartículas em detrimento aos tratamentos Fungicida e Controle. Aos 45 dias, ZnO:Mo, ZnO:K e ZnO se mantiveram melhores resultados em conjunto com o fungicida. No entanto, sementes tratadas com ZnO:Mg tiveram o maior tempo médio de emergência aos 45 e 90 dias. Aos 90 dias, os tratamentos ZnO:Mo, Fungicida e Controle foram

superiores, enquanto, aos 135 dias de armazenamento o tratamento de sementes com Fungicida teve menor TME (Figura 15B). Maresciallo e Effgen (2016) e Les (2016) observaram que os melhores resultados de TME e emergência foram em sementes de feijão tratadas, principalmente com fungicidas, a exemplo do tratamento com Tiofanato-Metílico + Fludioxonil, quando comparado ao Controle.

Bian *et al.* (2011) relataram que NPs de ZnO podem ser dissociadas em Zn^{2+} , o que pode permitir que o zinco passe pelo tegumento da semente, sendo disponibilizado durante a germinação (Savassa *et al.*, 2018). O Zn é um elemento essencial que desempenha funções importantes no metabolismo de carboidratos e proteínas, além de participar da síntese de RNA e aminoácidos, como o triptofano, precursor da auxina ácido indolacético (AIA) (Thorne, 1957; Dechen *et al.*, 1991). A auxina, por sua vez, é fundamental para a ativação metabólica, promovendo a divisão e alongamento celular no eixo embrionário. Ela também estimula a diferenciação do xilema e do floema, além de auxiliar na resposta a estímulos gravitacionais (gravitropismo), influenciando no crescimento inicial das plântulas (Ohse *et al.*, 2012).

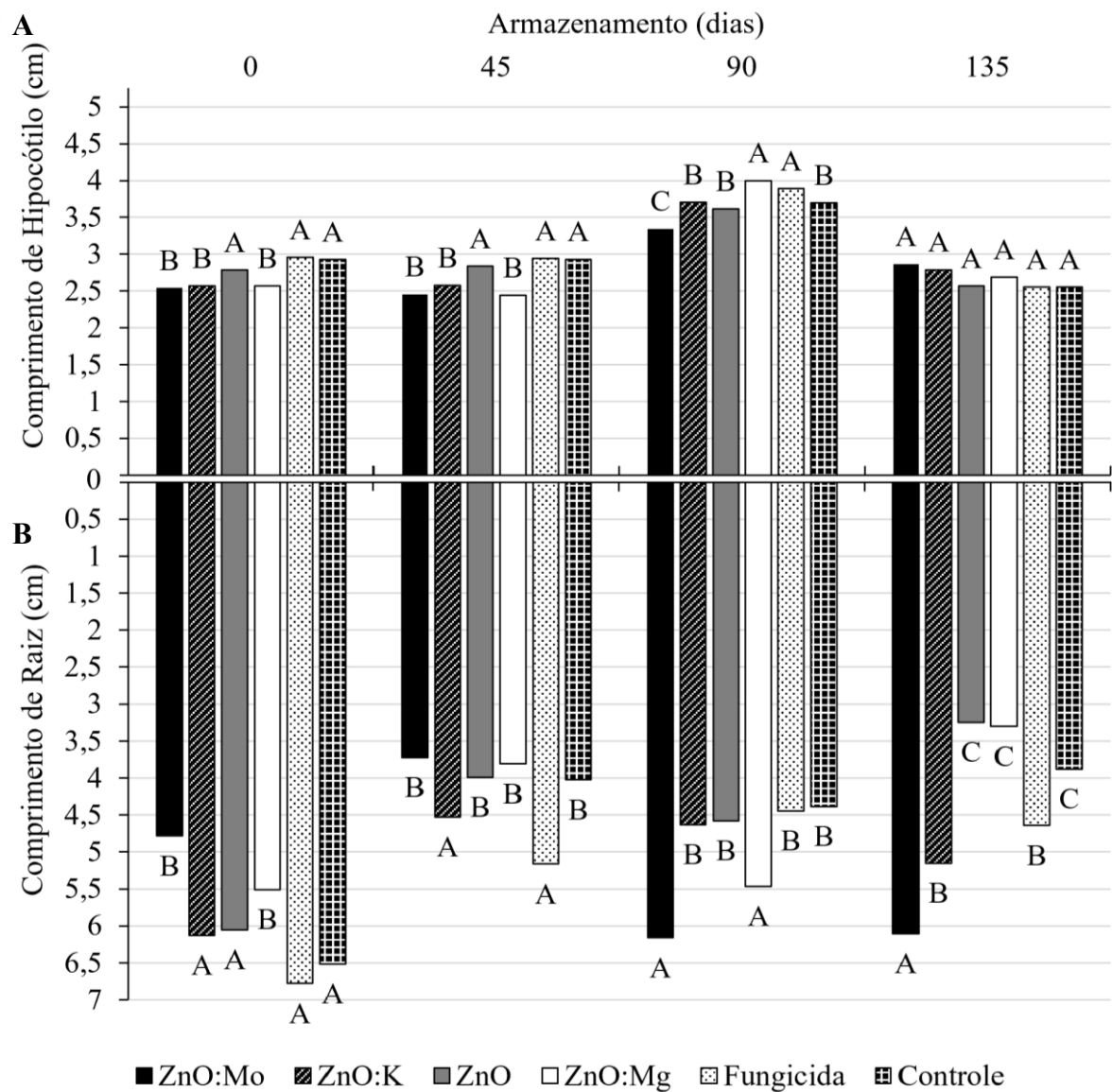
O teste de comprimento de plântulas destaca a capacidade das sementes de converter e fornecer reservas para as plântulas, de modo que as sementes mais vigorosas geram plântulas com maior desenvolvimento (Vanzolini e Carvalho, 2002; Bewley *et al.*, 2013). No comprimento do hipocótilo, observa-se que, ao zero e 45 dias houve maior comprimento nos tratamentos com a nanopartícula de ZnO, Fungicida e Controle. Já aos 90 dias de armazenamento, o tratamento Fungicida se manteve com comprimento superior, em conjunto com ZnO:Mg. O tratamento com ZnO:Mo foi inferior aos demais (Figura 16A).

Apesar dos benefícios do Zn no desenvolvimento das culturas, em altas concentrações, pode ser considerado tóxico para as plântulas, ativando mecanismos de defesa, como a elevação da expressão dos genes de biossíntese de lignina e suberina. Em altas concentrações, a lignina e a suberina deixam as células menos flexíveis e mais rígidas dificultando o crescimento das plântulas e a transferência de nutrientes e água (Van der Mortel *et al.* 2006). O excesso de Zn também pode impactar no material genético, como mudanças em locais de priming (Dufour *et al.*, 2006), realizando deleções e recombinação homólogas, podendo gerar novas bandas (Atienzar e Jha, 2006), processos esses que afetariam a estabilidade genética das plantas de soja.

Os maiores comprimentos de raiz foram observados nos tratamentos de sementes com ZnO:K, ZnO, Fungicida e Controle no período zero. Aos 45 dias de armazenamento, os tratamentos ZnO:K e Fungicida mantiveram os melhores resultados. Aos 90 dias, houve maior comprimento de raiz das plântulas provenientes das sementes tratadas com ZnO:Mo e ZnO:Mg.

O tratamento de sementes com ZnO:Mo se manteve superior aos 135 dias. O comprimento das raízes das plântulas em que as sementes foram tratadas com NPs de ZnO, ZnO:Mg e Controle tiveram os piores desenvolvimentos no último tempo de armazenamento (Figura 16B). Montanha *et al.* (2020) observaram que sementes revestidas com fontes de ZnO possibilitam o maior desenvolvimento das raízes de plântulas de soja, em relação a testemunha. Tal como, Les (2016) observou que Tiofanato-Metílico + Fluazinan promovem maior crescimento em plântulas de feijão.

Figura 16 - Comprimentos do hipocótilo (CH) (A) e raiz (CR) (B) de plântulas oriundas de sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento.



Legenda: Médias seguidas de mesma letra entre os tratamentos não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott à 5% de significância.

O desenvolvimento de uma plântula é um processo complexo e multifatorial, influenciado por aspectos fisiológicos e bioquímicos interdependentes (Chandra *et al.* 2018; Kurek *et al.* 2019), estudos apontam que as nanopartículas estão sendo consideradas promissoras na potencialização desse processo, promovendo o crescimento inicial das plântulas. De acordo com Kumar *et al.* (2020b), o uso de nanopartículas possui o potencial de reduzir as atividades de peroxidase lipídica, neutralizando a liberação de EROs e mantendo a estabilidade das membranas celulares. Chandrasekaran *et al.* (2020) acrescentaram que, durante essa neutralização, as NPs de óxido de zinco também liberam oxigênio adicional para as células, o que beneficia o desenvolvimento das plântulas.

Além disso, as NPs de ZnO podem aumentar os níveis de AIA nas raízes, promovendo, assim, um crescimento mais vigoroso (Pandey *et al.*, 2006). Também foi observado que, o uso de diferentes concentrações de nanopartículas de prata induziu um aumento significativo dos índices mitóticos, um indicador da divisão celular, que coincidiu com o aumento do comprimento radicular (Varier *et al.* 2010). Verma *et al.* (2019) destacaram que o tratamento com NPs favorecem a emergência precoce da radícula, o aumento no crescimento de mudas, redução de infecção por patógenos durante o armazenamento e diminui a suscetibilidade a estresse ambientais, criando condições mais favoráveis ao desempenho das plântulas.

De acordo com Marcos-Filho (2015b), o teste de comprimento de plântulas é uma ferramenta eficaz para avaliar o potencial fisiológico das sementes. Sementes mais vigorosas apresentam maior eficiência nos mecanismos de reparo de membranas, na retomada da síntese de DNA e na mobilização das reservas de para o eixo embrionário, características que favorecem a formação de plântulas com maior taxa de crescimento (Matthews *et al.*, 2010)

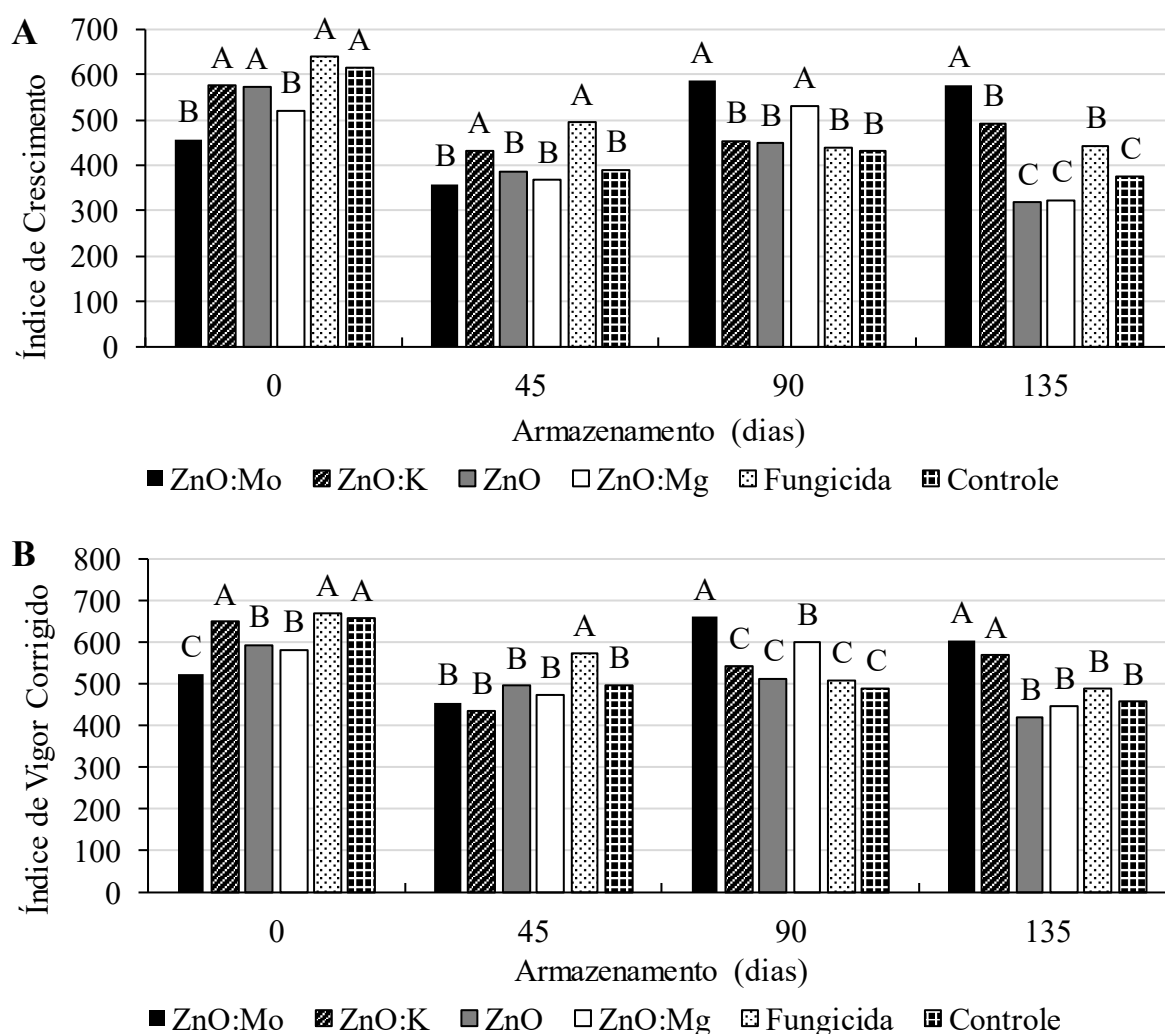
Analizando o índice de crescimento nota-se que houve maior resultado nos tratamentos com ZnO:K, ZnO, Fungicida e Controle, no período zero de armazenamento. Aos 45 dias, os tratamentos ZnO:K e o fungicida permaneceram com os maiores índices. Aos 90 dias, os tratamentos ZnO:Mo e ZnO:Mg se destacaram para o maior índice de crescimento, enquanto, aos 135 dias de armazenamento apenas o tratamento ZnO:Mo se manteve com o maior índice. Neste período, os tratamentos com ZnO, ZnO:Mg e o controle foram inferiores aos demais (Figura 17A). O índice de uniformidade não foi significativo para os tratamentos de sementes e períodos de armazenamento.

O vigor das sementes é determinado por vários atributos fisiológicos e bioquímicos que afetam diretamente o desempenho das plântulas, permitindo que as sementes germinem de forma rápida e uniforme, o que resulta em plântulas saudáveis com maior potencial de crescimento, mesmo em condições adversas (Krzyzanowsk *et al.*, 2020). Dessa forma, o índice

de vigor corrigido é baseado nos dados de crescimento e uniformidade das plântulas e na germinação final obtida por meio do teste de comprimento plântulas.

Considerando a relação entre os índices de crescimento e de vigor corrigido nota-se semelhanças nos resultados. No período zero, os tratamentos de sementes com NP de ZnO:K, Fungicida e Controle foram os que apresentaram plântulas vigorosas, no entanto, o tratamento com ZnO dopado com molibdênio foi inferior aos demais. Aos 45 dias de armazenamento, o tratamento Fungicida permaneceu como um dos melhores índices de vigor. Aos 90 dias, houve maior vigor no tratamento com ZnO:Mo. Aos 135 dias de armazenamento o tratamento de sementes ZnO:Mo e ZnO:K apresentaram maior vigor, não se diferenciando entre si (Figura 17B).

Figura 17 - Índice de crescimento (A) e de vigor corrigido (B) de sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento.



Legenda: Médias seguidas de mesma letra entre os tratamentos não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott à 5% de significância.

Ao analisar as regressões dos testes de qualidade fisiológica, observou-se uma padronização dos resultados durante o armazenamento, havendo maior adequação de curvas

quadráticas e cúbicas para os tratamentos de sementes ao longo dos períodos de armazenamento. Como esperado, houve uma redução na viabilidade e vigor das sementes, quando comparado o período inicial (zero dias) com 45 e 90 dias de armazenamento (Figura 18 e 19). Yin *et al.* (2015) e Fu *et al.* (2015) explicaram que os principais parâmetros afetados pelo envelhecimento das sementes são os aspectos físicos e fisiológicos, sendo eles, o teor de água, germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento de parte aérea e índice de vigor da semente.

Wawrzyniak *et al.* (2020) destacaram que a qualidade das sementes é fortemente influenciada pelas condições de armazenamento, sendo que altos níveis de umidade relativa (UR) e temperatura elevada aceleram a deterioração. Entretanto, mesmo em ambientes refrigerados, como o utilizado neste estudo, períodos prolongados de armazenamento podem intensificar esse processo (Cunha *et al.*, 2009). A deterioração corresponde a alterações fisiológicas, físicas e bioquímicas que têm início na maturidade fisiológica da semente e progridem de forma contínua, resultando na redução do potencial de desempenho até culminar na sua morte (Marcos Filho, 2015). À medida que a deterioração avança, a semente demanda mais tempo para ativar e realizar suas atividades metabólicas essenciais ao desenvolvimento.

Nos três primeiros períodos de armazenamento (0, 45 e 90 dias) foi observada redução da qualidade fisiológica das sementes de soja, independentemente, do tratamento de sementes realizado. No entanto, aos 135 dias de armazenamento foi observado aumento no potencial fisiológico das sementes dos tratamentos com nanopartículas de ZnO:K e ZnO, indicando um padrão de comportamento inesperado nesse período de armazenamento (Figura 18 e 19). Tal comportamento talvez pode ser justificado por ações das NPs de ZnO na eliminação de espécies reativas de oxigênio, que promove o equilíbrio redox celular e reativa mecanismos metabólicos essenciais para a germinação e crescimento inicial das plântulas (Shyla e Natarajan, 2014). Essas nanopartículas promovem a neutralização de radicais livre, induzindo a produção de antioxidantes e liberam oxigênio adicional, que pode ser utilizado na respiração celular, melhorando temporariamente o desempenho das sementes tratadas (Chandrasekaran *et al.*, 2020).

É importante destacar que, considerando a possível dissociação dos elementos das nanopartículas (Bian *et al.*, 2011) e sua absorção pelo tegumento para a utilização nos processos metabólicos iniciais das sementes (Savassa et al, 2018), o potássio presente na NPs de ZnO:K pode desempenhar um papel essencial no desenvolvimento das plantas. Esse elemento atua como cofator em diversas enzimas fundamentais para o desenvolvimento da planta, e é o

principal cátion responsável por manter da eletroneutralidade celular, além de ser crucial para o estabelecimento do turgor celular (Taiz *et al.*, 2017).

Figura 18 - Porcentagem de germinação padrão (A), germinação com vermiculita (B), EA convencional (C), EA com vermiculita (D), emergência (E) e tempo médio de emergência (F) de sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento.

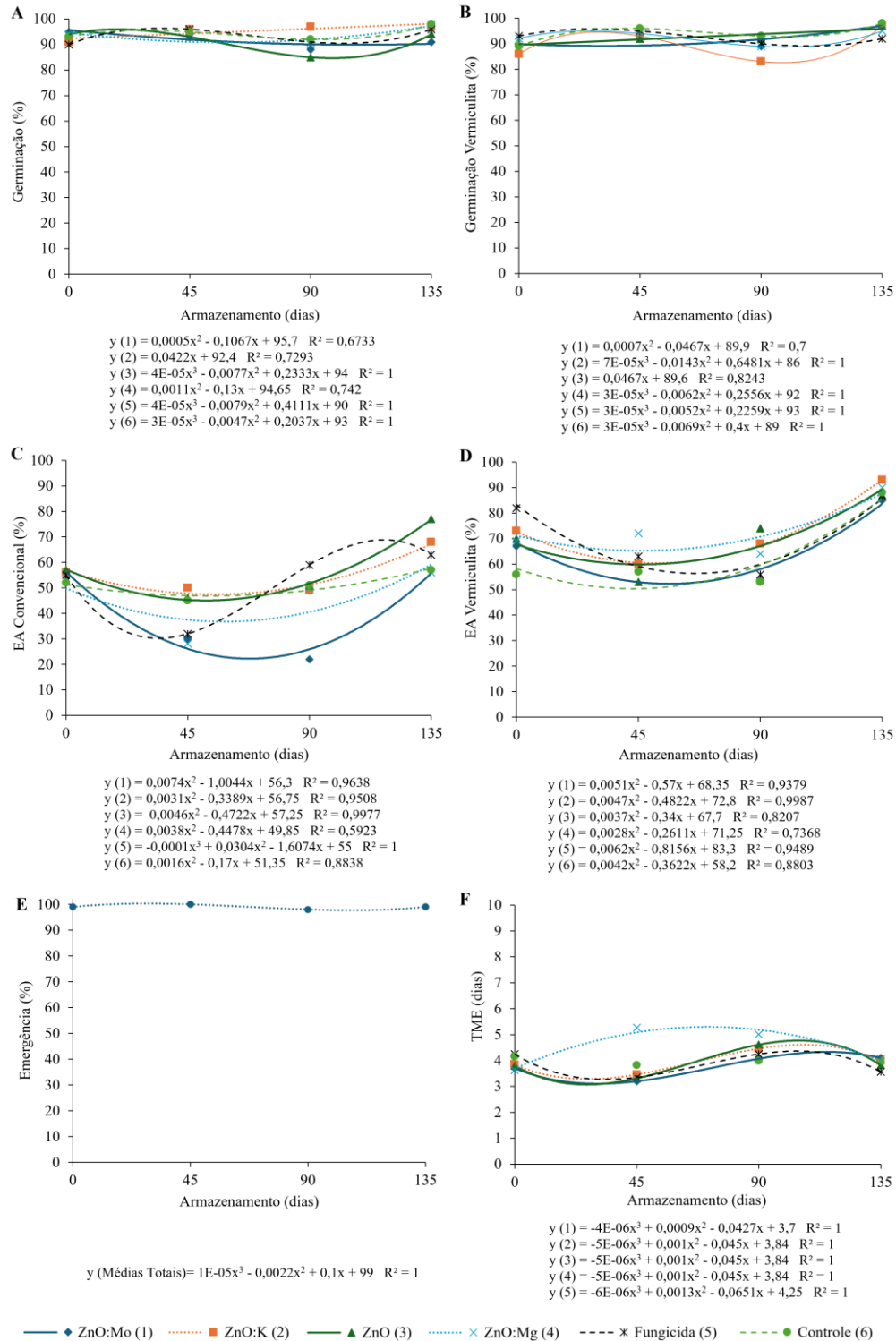
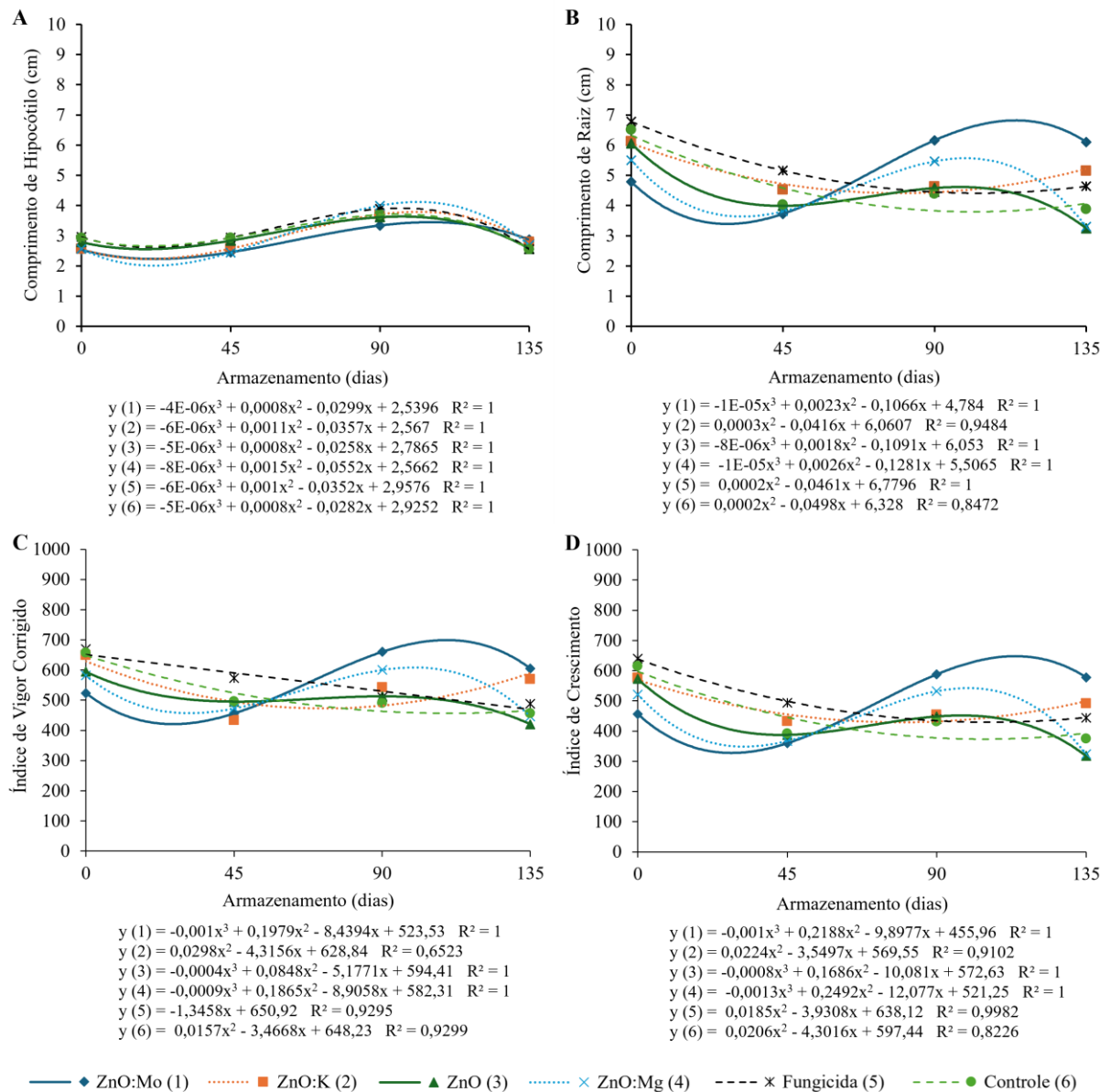


Figura 19 - Comprimento do hipocótilo (A), comprimento de raiz (B), índice de vigor (C) e índice de crescimento (D) de sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento.

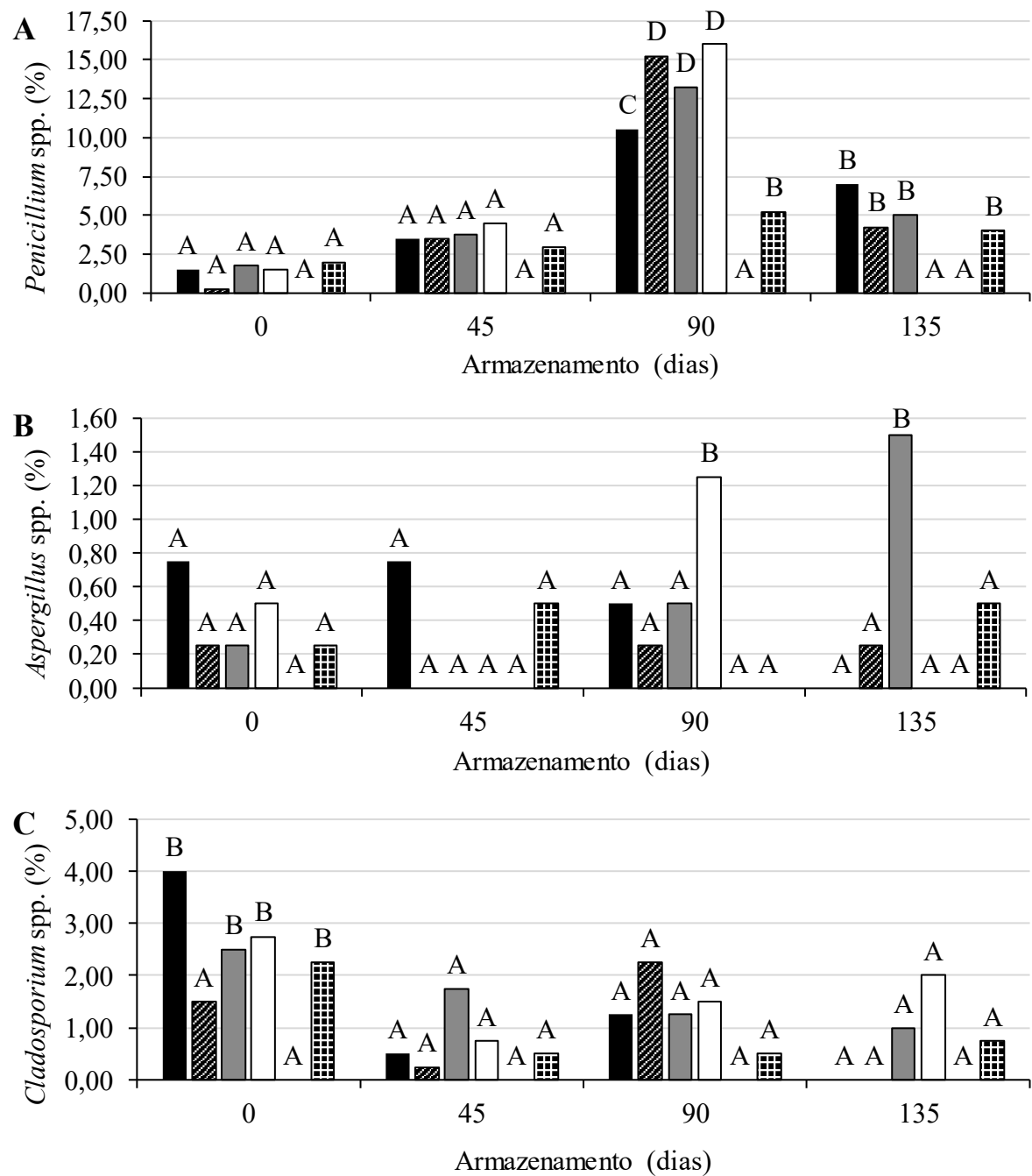


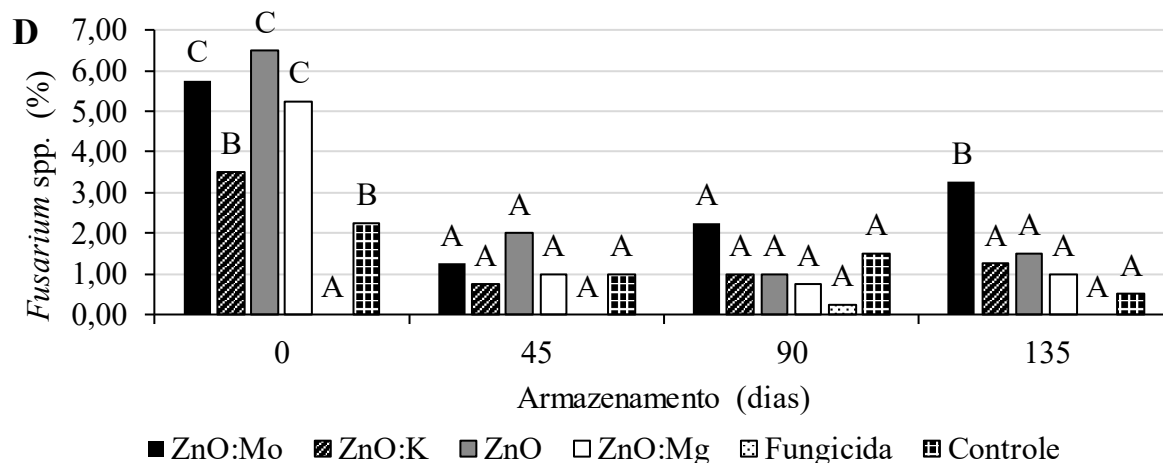
Na incidência de *Penicillium* spp. nas sementes de soja, não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos nos dois primeiros períodos de armazenamento. Aos 90 dias, os tratamentos com nanopartículas de ZnO:K, ZnO e ZnO:Mo obtiveram menor eficácia no controle do fungo. Em oposição, aos 135 dias de armazenamento, o tratamento com ZnO:Mg mostrou-se tão eficiente quanto o Fungicida no controle do *Penicillium* spp. (Figura 20A).

Na incidência de *Aspergillus* spp., resultados semelhantes foram observados nos dois primeiros períodos de armazenamento, sem diferenças estatísticas entre os tratamentos. Contudo, aos 45 dias, as nanopartículas de ZnO:K, ZnO, ZnO:Mg obtiveram porcentagem de

controle do fungo semelhante ao Fungicida. Aos 90 dias, houve maior incidência de *Aspergillus* spp. em sementes tratadas com a NP de ZnO:Mg. Aos 135 dias de armazenamento, o tratamento com ZnO demonstrou menor eficácia no controle do fungo em comparação aos demais tratamentos (Figura 20B).

Figura 20 - Incidência (%) de *Penicillium* spp. (A), *Aspergillus* spp. (B), *Cladosporium* spp. (C) e *Fusarium* spp. (D) em sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento.





Legenda: Médias seguidas de mesma letra entre os tratamentos não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott à 5% de significância.

Para o fungo *Cladosporium* spp., no período zero, o Fungicida e o tratamento com NP de ZnO:K proporcionaram os melhores resultados no controle fúngico. Nos períodos subsequentes, não houve diferença estatística entre os tratamentos. Aos 135 dias, sementes tratadas com Fungicida e com nanopartículas de ZnO:Mo e ZnO:K não apresentaram incidência de *Cladosporium* spp. (Figura 20C).

No período zero, os tratamentos com ZnO:Mo, ZnO e ZnO:Mg apresentaram os piores desempenhos em reduzir incidência de *Fusarium* spp. Nos períodos de 45 e 90 dias de armazenamento não houve diferença entre os tratamentos de sementes. O tratamento com ZnO:Mo foi menos eficaz no controle *Fusarium* spp. aos 135 dias (Figura 20D).

Pouco se sabe sobre os mecanismos exatos de atuação das nanopartículas nos fungos. No entanto, a literatura sugere diversas vias de ação que podem estar relacionadas ao controle desses patógenos (Sirelkhatim et al., 2015), destacando uma possível correlação entre a dosagem, carga e área superficial da nanopartícula e a morfologia dos fungos (Fernando; Gunasekara; Holton, 2018). Miri et al. (2019) propuseram que a atividade fungicida das NPs de ZnO pode estar vinculada a mecanismos de ação em nível celular, semelhante aos observados no controle de bactérias. De acordo com Gabrielyan et al. (2019), ao penetrar a membrana celular das bactérias, as NPs liberam íons Zn^{2+} e promovem a produção das espécies reativas de oxigênio. Em elevadas concentrações, essas EROs causam o estresse oxidativo, podendo levar a ruptura celular e danos ao DNA (Kumar et al., 2017).

O uso das nanopartículas de ZnO e suas dopagens apresentaram eficácia no controle dos fungos e existem diversos trabalhos na literatura destacam seu potencial na inibição desses microrganismos. Lakshmeesha et al. (2020) observaram que NPs de ZnO derivadas de *Melia azedarach* foram capazes de inibir a produção do ergosterol, controlando *Cladosporium*

cladosporioides e *Fusarium oxysporum* na cultura da soja. Pasquet *et al.* (2014) também evidenciaram o controle de *Aspergillus brasiliensis*. Sawai e Yoshikawa (2004) observaram a inibição do crescimento de *Aspergillus niger*, enquanto He *et al.* (2011) destacaram a eficiência das NPs de ZnO no controle de *Botrytis cinerea* e *Penicillium expansum*. Essa ampla gama de estudos reforçam o potencial das NPs de ZnO no manejo de doenças fúngicas, podendo haver a necessidade de novos estudos, com o aumento da dose utilizada para sementes de soja.

A menor incidência de *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp. e *Fusarium* spp. foi observada no tratamento Fungicida (Tiofanato-metílico + Fluazinam) em cada período de armazenamento. De acordo com Meyer *et al.* (2018), o Fluazinam, um dos componentes ativos do fungicida interfere diretamente na respiração dos fungos ao inibir a fosforilação oxidativa. Essa ação ocorre devido à sua atividade protetora, sistêmica e curativa, que contribui para o controle eficaz dos patógenos. Adicionalmente, o Tiofanato-Metílico é um fungicida sistêmico que age interferindo na síntese do DNA dos fungos (Nene e Thapliyal, 1993). Essas características justificam a maior eficiência desse tratamento no controle dos fungos durante o armazenamento.

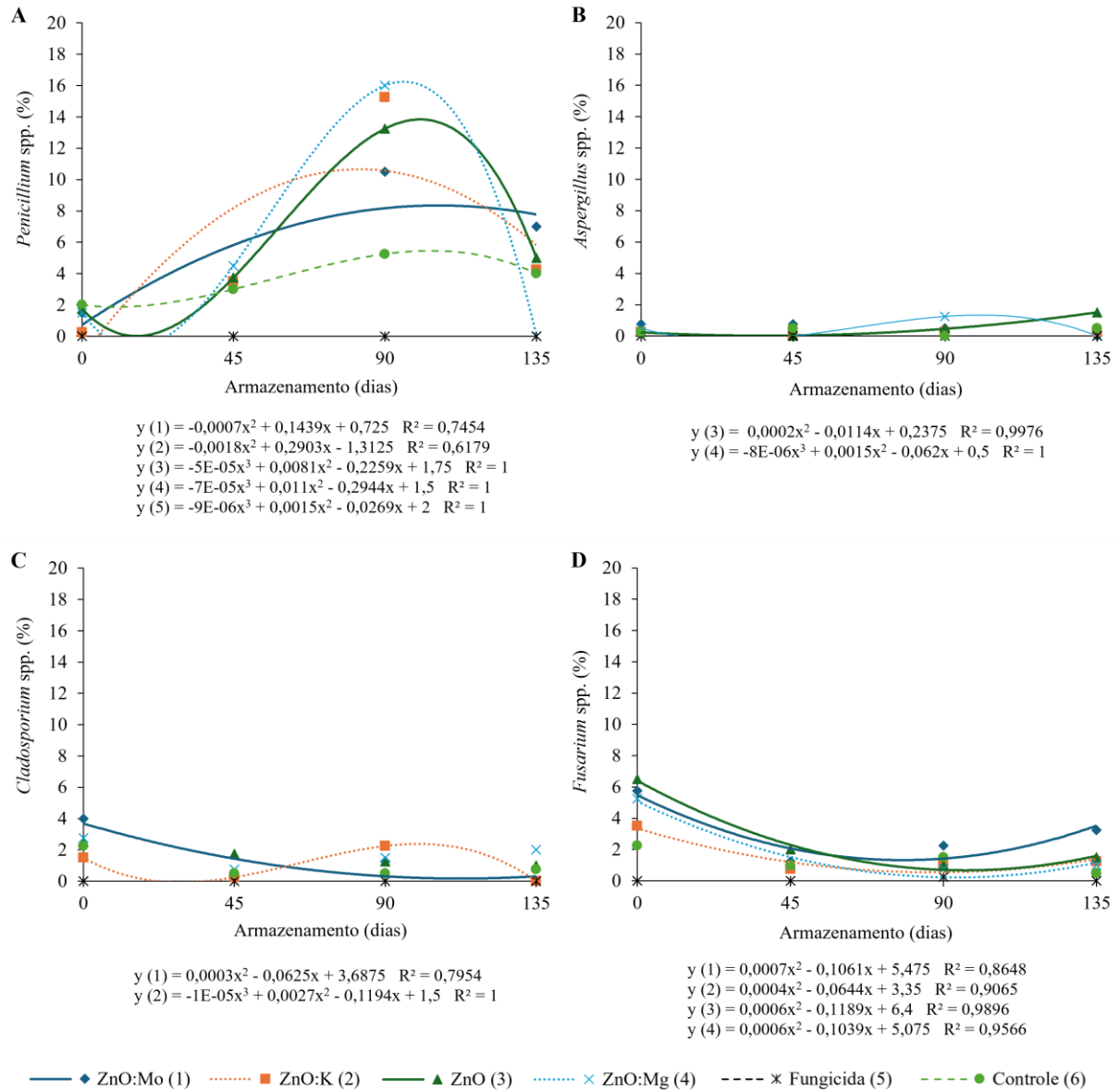
Ao analisar a incidência de fungos nas sementes tratadas durante o período de armazenamento, observa-se curvas predominantemente quadráticas para *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e *Cladosporium* spp., com uma tendência de redução na incidência ao longo do tempo de armazenamento (Figura 21). Exceções foram observadas para o tratamento com ZnO:Mg em *Aspergillus* spp. e ZnO:K em *Cladosporium* spp. aos 90 dias. Além disso, houve um leve aumento da incidência dos fungos aos 135 dias, o que pode ser justificado pelo aumento do teor de água nas sementes nesse período final de armazenamento (Figura 12).

Diferentemente dos outros patógenos, *Penicillium* spp. apresentou curvas majoritariamente cúbicas, com tendência inicial de aumento na incidência, atingindo a máxima incidência aos 90 dias, seguida de redução aos 135 dias, especialmente para os tratamentos com NPs de ZnO, ZnO:Mg. Fungos de armazenamento, como o *Aspergillus* spp. e o *Penicillium* spp., geralmente já estão presentes nas sementes após a colheita, apresentando baixa incidência e alta capacidade de sobrevivência em ambientes de umidade reduzida (Rocha *et al.*, 2014). Esses fungos proliferam em sucessão aos fungos do campo, contribuindo para a aceleração da deterioração das sementes ao longo do armazenamento.

Em oposição, fungos de campo apresentam maior incidência inicial, mas tendem a reduzir ao longo do período de armazenamento, devido à necessidade de alta umidade relativa para completarem seu ciclo biológico (Marcos Filho, 2005). Esse comportamento foi observado em *Fusarium* spp. e *Cladosporium* spp., que, apesar de exibirem uma incidência inicial mais

alta que os fungos de armazenamento, apresentaram redução progressiva durante os outros períodos de armazenamento, com exceção de *Fusarium* spp. aos 135 dias de armazenamento.

Figura 21 - Porcentagem de incidência de *Penicillium* spp. (A), *Aspergillus* spp. (B), *Cladosporium* spp. (C) e *Fusarium* spp. (D) em sementes de soja tratadas com nanopartículas em diferentes períodos de armazenamento.



De acordo com Pedroso *et al.* (2018) a incidência de fungos durante o armazenamento de sementes é um fator limitante para a manutenção da qualidade e longevidade das sementes, exigindo ações rápidas e eficazes. Nesse contexto, o controle eficaz dos fungos, ao longo de todo o armazenamento, observado no tratamento com fungicida (Tiofanato-Metílico + Fluazinam), pode justificar os bons resultados desse tratamento nos testes de qualidade fisiológica.

O uso de nanopartículas se mostra uma técnica promissora no tratamento de sementes de soja, especialmente durante o armazenamento, e ainda contribuem para o desenvolvimento de novos compostos com ação antifúngica, sendo uma solução mais sustentável e inovadora.

5. CONCLUSÕES

As nanopartículas possuem estrutura policristalina de wurtzita, possuindo forma de bastões aderidas no tegumento das sementes de soja com a presença de zinco e oxigênio.

O efeito dos tratamentos com nanopartículas sobre a qualidade das sementes de soja apresentou um comportamento variável dependendo do período de armazenamento, sendo observados efeitos de fitotoxidez ou melhorias no desempenho fisiológico.

As nanopartículas foram eficientes no tratamento de sementes de soja e demonstraram potencial no controle dos fungos fitopatogênicos durante o armazenamento.

REFERÊNCIAS

- ACHARYA, P.; JAYAPRAKASHA, G. K.; CROSBY, K. M.; JIFON, J. L.; PATIL, B. S. Green-synthesized nanoparticles enhanced seedling growth, yield, and quality of onion (*Allium cepa* L.). **ACS Sustain Chem Eng**, [s.l.], v. 7, n. 17, p. 14580–14590, 2019. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b02180>
- ALVES, E.; AGUIAR, E.; PEREIRA, C.; MOREIRA, I.; FILHO, L.; SANTINI, J.M.K. Efeito do tratamento químico com inseticida/fungicida e polímero na qualidade fisiológica da semente de soja. **Cientific - Multidisciplinary Journal**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 12-18, 2017.
- AMZA, J. Seed borne fungi; food spoilage, negative impact and their management: A review. **Food Science and Quality Management**, [s.l.], v. 81, p. 70–79, 2018. <https://core.ac.uk/download/pdf/234684834.pdf>
- ANJUM, S.; HASHIM, M.; MALIK, S. A.; KHAN, M.; LORENZO, J. M.; ABBASI, B. H.; HANO, C. Recent Advances in Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO NPs) for Cancer Diagnosis, Target Drug Delivery, and Treatment. **Cancers**, [s.l.], v. 13, n. 18, p. 4570, 12 set. 2021.
- ANTUNES, F. S.; BACKX, B. P. Nanotecnologia e seus impactos na sociedade. **Revista Tecnologia e Sociedade**, [s.l.], v. 16, n. 40, p. 1, 1 abr. 2020. <http://dx.doi.org/10.3895/rts.v16n40.9870>.
- ARAÚJO, M. L.; MAGALHÃES, A. C. M.; ABREU, M. G. P.; MACIEL, J. A.; FILHO, A. L. M. Efeito de diferentes potenciais osmóticos sobre a germinação e o desenvolvimento de plântulas de feijão enxofre. **Ensaio**, [s.l.], v. 22, n. 3, p. 201-204, 2018.
- ARIAS, L. S.; PESSAN, J. P.; VIEIRA, A. P. M.; LIMA, T. M. T.; DELBEM, A. C. B.; MONTEIRO, D. R. Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications: a perspective on synthesis, drugs, antimicrobial activity, and toxicity. **Antibiotics**, [s.l.], v. 7, n. 2, p. 46, 9 jun. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics7020046>.
- ATIENZAR, F. A.; JHA, A. N. The random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay and related techniques applied to genotoxicity and carcinogenesis studies: a critical review. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, [s.l.], v. 613, n. 2-3, p. 76-102, 2006.
- BAIG, N.; KAMMAKAKAM, I.; FALATH, W.; KAMMAKAKAM, I. Nanomaterials: A review of synthesis methods, properties, recent progress, and challenges. **Materials Advances**, v. 2 n. 6, p. 1821-1871, 2021. <https://doi.org/10.1039/d0ma00807a>
- 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>.
- BAPTISTA, P. V.; MCCUSKER, M. P.; CARVALHO, A.; FERREIRA, D. A.; MOHAN, N. M.; MARTINS, M.; FERNANDES, A. R. Nano-strategies to fight multidrug resistant bacteria “A Battle of the Titans”. **Frontiers in microbiology**, [s.l.], v. 9, p. 1441, 2018. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01441>

BAUDET, L.; VILLELA, F.A. Armazenamento de sementes. In: PESKE, S. T.; VILELLA, F. A.; MENEGHELLO, G. E. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 3a.ed. Pelotas: Ed. Universitária/UFPel. p. 481-528, 2012.

BENSCH, K.; BRAUN, U.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. The genus *Cladosporium* sp. **Studies in Mycology**, [s.l.], v. 72, p. 1–401, 2012. <https://doi.org/10.3114/sim0003>

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI H; AMORIM, L. Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos, 3 ed., **Editora agrônômica Ceres**, São Paulo SP, 1995.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2 ed. New York: Plenum Press, 445p. 2013.

BIAN; S. W.; MUDUNKOTUWA I. A.; RUPASINGHE, T.; GRASSIAN, V. H. Agregação e dissolução de nanopartículas de ZnO de 4 nm em ambientes aquosos: influência do pH, força iônica, tamanho e adsorção de ácido húmico. **Langmuir**, [s.l.], v. 27, n. 10, p. 6059-6068, 2011.

BODADE, R. G.; KHOBRADE, C. N.; ARFEEN, S. Optimization of culture conditions for glucose oxidase production by a *Penicillium chrysogenum* SRT 19 strain. **Engineering in Life Sciences**, [s.l.], v. 10, n. 1, p. 35-39, 2010.

BORYSIEWICZ, M. A. ZnO as a Functional Material, a Review. **Crystals**, [s.l.], v. 9, n. 10, p. 505, 28 set. 2019. <http://dx.doi.org/10.3390/cryst9100505>.

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**, [s.l.], v. 6, n. 4, p. 19371-19380, 2020. <https://doi.org/10.34117/bjd6n4-198>.

BRANDL, J.; ANDERSEN, M. R. Aspergilli: Models for systems biology in filamentous fungi. **Current Opinion in Systems Biology**, [s.l.], v. 6, p. 67–73, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.coisb.2017.09.005>.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Manual de análise sanitária de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009a. <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/lfd/legislacao-metodos-da-rede-lfd/sementes-mudas/manual-de-sementes-site.pdf>

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, p. 399, 2009b. http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/2946_regras_analise_sementes.pdf

BRINTHA, S.; AJITHA, M. Synthesis, Structural and Antibacterial Activity of Aluminium and Nickel Doped ZnO Nanoparticles by Sol-gel Method. **Asian Journal of Chemical Sciences**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 1–9, 10 jan. 2016. DOI: <https://doi.org/10.9734/AJOCS/2016/29704>

CANALES, M. A., VILLANUEVA, I. M. Actividad de nanoestructuras de ZnO biosintetizadas extracelularmente con *Mucor fragilis* frente a microorganismos fitopatógenos. **Revista de Energía Química y Física**, [s.l.], v. 5, n. 14, p. 1-6, 2018. https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Energia_Quimica_y_Fisica/vol5num14/Revista_de_Energ%C3%ADa_Qu%C3%ADmica_y_F%C3%ADsica_V5_N14_1.pdf

CARVALHO, E. R.; REIS, V. U. V.; CARVALHO, M. L. M.; ROCHA, D. K.; CAETANO, C. C.; FERNANDES, N. Validation of the methodology of the germination test using a rolled paper plus vermiculite for treated soybean seeds. **Journal of Seed Science**, [s.l.], v. 46, p. e202446020, 2024. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v46282001>

CARVALHO, E.R.; ROCHA, D.K.; ANDRADE, D.B.; PIRES, R.M.O.; PENIDO, A.C.; REIS, L.V. Phytotoxicity in soybean seeds treated with phytosanitary products at different application times. **Journal of Seed Science**, [s.l.], v. 42, p. e202042036, 2020. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42237847>

CARVALHO, N. M. **A secagem de sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994.

CASTAN, D.O.C.; GOMES-JUNIOR, F.G.; MARCOS-FILHO, J. Vigor-S, a new system for evaluating the physiological potential of maize seeds. **Scientia Agricola**, [s.l.], v.75, n.2, p.167-172, 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-992x-2016-0401>.

CHANDRA J, KESHAVKANT S (2018) Desiccation-induced ROS accumulation and lipid catabolism in recalcitrant *Madhuca latifolia* seeds. **Physiol Mol Biol Plants**, [s.l.], v. 24, n. 1, p. 75–87. <https://doi.org/10.1007/s12298-017-0487-y>

CHANDRASEKARAN, U.; LUO, X.; WANG, Q.; SHU K. Are there unidentified factors involved in the germination of nanoprimered seeds? **Front Plant Sci**, p. 11:832, 2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00832>

CHANG, K. F.; HWANG, S. F.; CONNER, R. L.; AHMED, H. U.; ZHOU, Q.; TURNBULL, G. D.; STRELKOV, S. E.; MCLAREN, D. L.; GOSSEN, B. D. First report of *Fusarium proliferatum* causing root rot in soybean (*Glycine max* L.) in Canada. **Crop Protection**, [s.l.], v. 67, p. 52-58, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.09.020>

CHRISTIANSEN, J. E. **Irrigation by Sprinkling**. University of California, Berkeley, CA, USA. (California Agriculture Experiment Station Bulletin, 670). 1942.

COÊLHO, J. D.. SOJA: v. 9, n. 346, agosto, 2024. **Caderno Setorial ETENE**, Fortaleza, v. 9, n. 343, 2024. Disponível em: <https://www.bnb.gov.br/revista/cse/article/view/3056>. Acesso em: 4 fev. 2025.

COMPANIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (Brasil). **Produção de grãos pode chegar a 322,4 milhões de toneladas na safra 2024/25**. Brasília, DF, 2024. Portal. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/5866-producao-de-graos-pode-chegar-a-322-4-milhoes-de-toneladas-na-safra-2024-25#:~:text=A%20estimativa%20para%20a%20safra,obtido%20no%20ciclo%202023%2F24>.

COSTA, N. L., DE SANTANA, A. C., CORONEL, D. A., BRUM, A. L., & DE MATTOS, C. A. C.. Aspectos da importância do complexo soja no Brasil e no Rio Grande do Sul: 1997–2017. Redes. **Revista do Desenvolvimento Regional**, [s.l.], v. 25, p. 1840-1863, 2020. <https://doi.org/10.17058/redes.v25i4.12735>

COSTA, S. S., MATOS, K. S., TESSMANN, D. J., SEIXAS, C. D., & PFENNING, L. H. *Fusarium paranaense* sp. nov., a member of the *Fusarium solani* species complex causes root rot on soybean in Brazil. **Fungal biology**, [s.l.], v. 120, n. 1, p. 51-60, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2015.09.005>

CRONQUIS, A. **An integrated system of clasification of flowering plants**. Columbia University, Press New York, 1262 pp, 1981.

CUNHA, J. P. A. R. DA; OLIVEIRA, P. DE; SANTOS, C. M. DOS; MION, R. L. Qualidade das sementes de soja após a colheita com dois tipos de colhedora e dois períodos de armazenamento. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 39, p. 1420-1425, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782009005000063>

CZYŻOWSKA, A.; BARBASZ, A. A review: zinc oxide nanoparticles – friends or enemies? **International Journal of Environmental Health Research**, Kraków, p. 1–17, 10 ago. 2020. <https://doi.org/10.1080/09603123.2020.1805415>.

DECHEN, A. R.; HAAG, H. P.; CARMELLO, Q. A. D. C. Funções dos micronutrientes nas plantas. **Micronutrientes na agricultura**. Piracicaba: Instituto de Potássio e Fosfato, p. 65 -78, 1991.

DIAS, G. H. O.; LISBOA, L. A. M.; FERREIRA, J. P. D. S.; ROCHA, E. A. Desenvolvimento de cultivares de soja de crescimento indeterminado após a poda apical. **Research Society and Development**, [s.l.], v.10, p.1-9, 2021. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i5.13688>

DÍAZ ARIAS, M. M.; LEANDRO, L. F.; MUNKVOLD, G. P. Aggressiveness of *Fusarium* species and impact of root infection on growth and yield of soybeans. **Phytopathology**, [s.l.], v. 103, n. 8, p. 822-832, 2013.

DUARTE, L. C.; CATÃO, H. C. R. M.; TEBALDI, N. D.. Nanoparticles and photodynamic therapy in the treatment and control of *Alternaria alternata* in wheat seeds. **Ciência e Agrotecnologia**, [s.l.], v. 46, p. e005222, 2022. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202246005222>

DUFOUR, E. K.; KUMARAVEL, T.; NOHYNEK, G. J.; KIRKLAND, D.; TOUTAIN, H. Clastogenicity, photo-clastogenicity or pseudo-photo-clastogenicity: genotoxic effects of zinc oxide in the dark, in pre-irradiated or simultaneously irradiated Chinese hamster ovary cells. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, [s.l.], v. 607, p. 215-24, 2006.

EDMOND, J.B.; DRAPALA, W.J. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seed. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, [s.l.], v. 71, p. 428-434, 1958.

ELLIS, M. L.; ARIAS, M. D.; LEANDRO, L. F.; MUNKVOLD, G. P. First report of *Fusarium armeniacum* causing seed rot and root rot on soybean (*Glycine max*) in the United States. **Plant disease**, [s.l.], v. 96, n. 11, p. 1693-1693, 2012. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-12-0429-PDN>

FERNANDO, S.S.N.; GUNASEKARA, T.D.C.P.; HOLTON, J. Antimicrobial Nanoparticles: applications and mechanisms of action. **Sri Lankan Journal Of Infectious Diseases**, [s.l.], v. 8, n. 1, p. 2, 6 maio 2018. <http://dx.doi.org/10.4038/sljid.v8i1.8167>.

FERRARI, M.; PELEGRIN, A.; SOUZA, V.; NARDINO, M.; CARVALHO, T. R.. Componentes de Rendimento sob diferentes Combinações de fungicidas e inseticidas. **Enciclopedia Biosfera**, [s.l.], v. 10, n 19, p. 532-540, 2014.

FISHER, F.; COOK, N.B. **Micologia Fundamentos e Diagnóstico**. 1. ed. Rio de Janeiro: Revinter. 337 p, 2001.

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**, [s.l.], v. 46, n. 4, p. 406-413, 19 maio 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s40858-021-00436-2>.

FRANÇA-NETO, J. D. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A.; DE PÁDUA, G. P.; LORINI, I., HENNING, F. A.; GILDA PIZZOLANTE DE PADUA, E. P. A. M. I. G. **Tecnologia da produção de sementes de soja de alta qualidade**. Embrapa, Documentos, n. 380, 2016. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/151223/1/Documentos-380-OL1.pdf>>

FU, Y. B.; AHMED, Z.; DIEDERICHSEN, A. Towards a better monitoring of seed ageing under ex-situ seed conservation. **Conservation Physiology**, [s.l.], v. 3, n. 1, p. 1-16, 2015. <https://doi.org/10.1093/conphys/cov026>

GABRIELIAN, L.; HAKOBYAN, L.; HOVHANNISYAN, A.; TRCHOUNIAN, A. Effects of iron oxide (Fe₃O₄) nanoparticles on *Escherichia coli* antibiotic-resistant strains. **Journal of applied microbiology**, [s.l.], v. 126, n. 4, p. 1108-1116, 2019. <https://doi.org/10.1111/jam.14214>

GAO, L.; YAN, X. Nanozymes: biomedical applications of enzymatic Fe₃O₄ nanoparticles from in vitro to in vivo. **Biological and Bio-inspired Nanomaterials**, [s.l.], p. 291-312, 2019. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9791-2_9

GHASEMI, F.; JALAL, R. Antimicrobial action of zinc oxide nanoparticles in combination with ciprofloxacin and ceftazidime against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Integrative Medicine Research**, [s.l.], v. 6, p. 118-122, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.04.007>

HARTMANN FILHO, C. P. **Efeito imediato e latente da temperatura do ar de secagem sobre a qualidade fisiológica e tecnológica de sementes de soja produzidas na segunda safra**. 96 f. 2015. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2015. Disponível em: <https://files.ufgd.edu.br/arquivos/arquivos/78/MESTRADO-DOCTORADO-AGRONOMIA/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20Cesar%20Pedro%20%20Hartmann%20Filho.pdf>

HARUN, K.; HUSSAIN, F.; PURWANTO, A.; SAHRAOUI, B.; ZAWADZKA, A.; MOHAMAD, A. A. Sol-Gel synthesized ZnO for optoelectronics applications: A characterization review. **Materials Research Express**, [s.l.], v. 4, n. 12, 2017. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/aa9e82>

HE, L.; LIU, Y.; MUSTAPHA, A.; LIN, M. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. **Microbiological Research**, [s.l.], v. 166, n. 3, p. 207-215, 2011.

HENNING, F., PÁDUA, G. D., LORINI, I. **Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade**. Londrina: Embrapa Soja, 2016.

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**, [s.l.], v. 19, n. 12, p. 7564-7573, 2019. <https://doi.org/10.1166/jnn.2019.16734>.

ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO/TC 229 – Nanotechnologies. 2019. Disponível em: <https://www.iso.org/committee/381983.html>.

JAMKHANDE, P. G., GHULE, N. W., BAMER, A. H., & KALASKAR, M. G.. Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [s.l.], v. 53, p. 101174, 1 out. 2019.

JAVADI, E., GHAFFARI, M., BAHLAKEH, G., & TAHERI, P. Photocatalytic, corrosion protection and adhesion properties of acrylic nanocomposite coating containing silane treated nano zinc oxide: A combined experimental and simulation study. **Progress in Organic Coatings**, [s.l.], v. 135, p. 496–509, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2019.06.039>

JIANG, S.; LIN, K.; CAI, M. ZnO Nanomaterials: Current Advancements in Antibacterial Mechanisms and Applications. **Frontiers in Chemistry**, [s.l.], v. 8, 2020. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00580>

KAH, M.; HOFMANN, T. Nanopesticide research: Current trends and future priorities. **Environment International**, Vienna, v. 63, p. 224–235, fev. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.11.015>.

KARASENKOV, Y.; FROLOV, G.; POGORELSKY, I.; LATUTA, N.; GUSEV, A.; KUZNETSOV, D.; LEONT'EV, V. Colloidal metal oxide nanoparticle systems: the new promising way to prevent antibiotic resistance during treatment of local infectious processes. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, [s.l.], v. 98, p. 012038, nov. 2015. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/98/1/012038>.

KENNEDY, J.; MURMU, P. P.; MANIKANDAN, E.; LEE, S. Y. Investigation of structural and photoluminescence properties of gas and metal ions doped zinc oxide single crystals. **Journal of Alloys and Compounds**, [s.l.], v. 616, p. 614–617, 15 dez. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2014.07.179>

KIMATA, K.; OIKE, Y.; ITO, K.; KARASAWA, K.; SUZUKI, S. The occurrence of low buoyant density proteoglycans in embryonic chick cartilage. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s.l.], v. 85, n. 4, p. 1431-1439, 1978.

KLICH, M. A. Environmental and developmental factors influencing aflatoxin production by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. **Mycoscience**, [s.l.], Tokyo, v. 48, n. 4, p. 1-80, 2007. <https://doi.org/10.1007/S10267-006-0336-2>

KOCSUBÉ, S.; PERRONE, G.; MAGISTÀ, D.; HOUBRAKEN, J.; VARGA, J.; SZIGETI, G.; HUBKA, V.; HONG, S. B.; FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A. *Aspergillus* is monophyletic: Evidence from multiple gene phylogenies and extrolites profiles. **Studies in Mycology**, [s.l.], v. 85, p. 199–213, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.simyco.2016.11.006>.

KRYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B.; MARCOS-FILHO, Julio. **VIGOR DE SEMENTES: Conceitos e Testes**. Londrina: Abrates, 2020.

KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. B.; HENNING, A. A. **A alta qualidade da semente de soja: fator importante para a produção da cultura**. EMBRAPA Londrina, p.

- 24, 2018. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/177391/1/CT136-online.pdf>.
- KUMAR, G. D., RAJA, K., NATARAJAN, N., GOVINDARAJU, K., SUBRAMANIAN, K. S. Invigouration treatment of metal and metal oxide nanoparticles for improving the seed quality of aged chilli seeds (*Capsicum annum* L.). **Materials Chemistry and Physics**, [s.l.], v. 242, p. 122492, 2020b. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.122492>
- KUMAR, R.; UMAR, A.; KUMAR, G.; NALWA, H. S. Antimicrobial properties of ZnO nanomaterials: A review. **Ceramics International**, [s.l.], v. 43, n. 5, p. 3940–3961, 2017.
- KUMAR, V. K.; MUTHUKRISHNAN, S.; RAJALAKSHMI, R.. Phytostimulatory effect of phytochemical fabricated nanosilver (AgNPs) on *Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC. seed germination: An insight from antioxidative enzyme activities and genetic similarity studies. **Curr Plant Biol**, [s.l.], v. 23, p. 100158, 2020a. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2020.100158>
- KUREK, K.; PLITTA-MICHALAK, B.; RATAJCZAK, E. Reactive oxygen species as potential drivers of the seed aging process. **Plants**, [s.l.], v. 8, n. 6, p. 174, 2019. <https://doi.org/10.3390/plants8060174>
- LAKSHMEESHA, T. R.; MURALI, M.; ANSARI, M. A., UDAYASHANKAR, A. C., ALZOHAIY, M. A.; ALMATROUDI, A.; ALOMARY, M. N.; ASIRI, S. M. M.; ASHWINI, B.s.; KALAGATUR, N. K. Biofabrication of zinc oxide nanoparticles from *Melia azedarach* and its potential in controlling soybean seed-borne phytopathogenic fungi. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [s.l.], v. 27, n. 8, p. 1923-1930, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.06.013>
- LES, N. **Potencial de controle de tombamento de plântulas causadas por fungos de solo com produtos biológicos nas culturas da soja e do feijão**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2016. Disponível em: <https://tede2.uepg.br/jspui/bitstream/prefix/2286/1/Nathaly%20Les.pdf>
- LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. The fusarium laboratory manual. **Revista Chilena de Infectología**, v. 31, p. 85-86, 2006.
- LI, B.; CHEN, Y.; ZHANG, Z.; QIN, G.; CHEN, T.; TIAN, S. Molecular basis and regulation of pathogenicity and patulin biosynthesis in *Penicillium expansum*. **Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety**, [s.l.], v. 19, n. 6, p. 3416-3438, 28 ago. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12612>.
- LU, C. M.; ZHANG, C. Y.; WEN, J. Q.; WU, G. R.; TAO, M. X. Research of the effect of nanometer materials on germination and growth enhancement of. *Glycine max*, p. 168-172, 2006.
- LUDWIG, M. P.; OLIVEIRA, S.; AVELAR, S. A. G.; ROSA, M. P.; FILHO, O. A. L.; CRIZEL, R. L. Armazenamento de sementes de soja tratadas e seu efeito no desempenho de plântulas. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, [s.l.], v. 9, n. 1, p. 51-56, 2015.
- MAHENDRA, C.; MURALI, M.; MANASA, G.; PONNAMMA, P.; ABHILASH, M. R.; LAKSHMEESHA, T. R. Antibacterial and antimitotic potential of bio-fabricated zinc oxide nanoparticles of *Cochlospermum religiosum* (L.). **Microb Pathog**, [s.l.], 2017. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.07.051>.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. Piracicaba: Fealq, p.495, 2005.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. ABRATES, Londrina, ed.2, 2015a.

MARCOS-FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B.; MARCOS-FILHO, J. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. ABRATES, 2020. p.197-204.

MARCOS-FILHO, Seed vigor testing: a overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 72, n.4, p. 363 – 374, 2015b. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0007>

MARESCIALLO, B. G.; EFFGEN, C. F. Avaliação de diferentes fungicidas no tratamento de sementes do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Eletrônica da Faculdade de Ciências Exatas e da Terra Produção/construção e tecnologia**, [s.l.], v.5, n.8, 2016.

MATTHEWS, S.; EL-KHADEM, R.; CASARINI, E.; KHAJEH-HOSSEINI, M.; NASEHZADEH, M.; WAGNER, M.H. Rate of physiological germination compared with the cold test and accelerated ageing as a repeatable vigour test for maize. **Seed Science and Technology**, [s.l.], v.38, n.2, p.379-389, 2010. <https://doi.org/10.15258/sst.2010.38.2.11>

MEDEIROS, A.D.; PEREIRA, M.D. SAPL[®]: a free software for determining the physiological potential in soybean seeds. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, [s.l.], v. 48, n. 3, p. 222-228, 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/1983-40632018v4852340>.

MENEZES, C. P.; PEREZ, A. L. A. L.; OLIVEIRA, E. L.. *Cladosporium* spp: morfologia, infecções e espécies patogênicas. **Acta Brasiliensis**, [s.l.], v. 1, n. 1, p. 23, 15 fev. 2017. <http://dx.doi.org/10.22571/actabra1120176>.

MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; SEIL, A. H.; DIAS, A. R.; JACCOUD FILHO, D. S.; BORGES, E. P.; JULIATTI, F. C.; NUNES JUNIOR, J.; SILVA, L. H. C. P.; SATO, L. N.; MARTINS, M. C.; VENANCIO, W. S.. Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2017/18: Resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina: **Embrapa Soja, Cir. Téc.** [s.l.], 140, p. 1-6, 2018.

MILLS, J. T. Postharvest insect-fungus associations affecting seed deterioration. In: WEST, S. H. (ed.). Physiological-pathological interactions affecting seed deterioration. **Madison: Crop Science Society of America**, [s.l.], p. 39-51, 1986.

MIRI, A.; MAHDINEJAD, N.; EBRAHIMY, O.; KHATAMI, M.; SARANI, M. Zinc oxide nanoparticles: Biosynthesis, characterization, antifungal and cytotoxic activity. **Materials Science and Engineering C**, [s.l.], v. 104, p 109981, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109981>.

MONTANHA, G. S.; RODRIGUES, E. S.; MARQUES, J. P. R.; DE ALMEIDA, E., COLZATO, M.; PEREIRA DE CARVALHO, H. W. Sementes nanorrevestidas de zinco: uma alternativa para impulsionar a germinação de sementes de soja e o desenvolvimento de plântulas. **SN Applied Sciences**, [s.l.], v. 2, p.857, 2020. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-2630-6>

NASCIMENTO, N. F.; SILVA, G. C. C.; REIS FREITAS, F. G.; SALES, N. D. L. P.; CARVALHO, L. R.; CABACINHA, C. D.; CARVALHO, C. C. S. G. Tratamentos antifúngicos e qualidade fisiológica de sementes de fava d'anta. In: BRAGA, D. L. S. (Org.). **Pesquisas e Inovações Nacionais em Engenharias, Ciências Agrárias, Exatas e da Terra**, p. 26-41, 2022.

NELSON, B. D.; HANSEN, J. M.; WINDELS, C. E.; HELMS, T. C. Reaction of soybean cultivars to isolates of *Fusarium solani* from the Red River Valley. **Plant Disease**, v. 81, p. 664- 668, 1997.

NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A.; MARASAS, W. F. **O. Fusarium species: An illustrated manual for identification**. Pennsylvania: Pennsylvania State University Press, 1983.

NENE Y. L.; THAPLIYAL, P. N. Systemic fungicides, p. 209-455. In Y.L. Nene & P.N. Thapliyal (eds.), **Fungicides in plant disease control**. New York, International Science, p. 455, 1993.

OHSE, S.; REZENDE, B. L. A.; LISIK, D., & OTTO, R. F. Germinação e vigor de sementes de melancia tratadas com zinco. **Revista Brasileira de Sementes**, [s.l.], v. 34, p. 288-292, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222012000200014>

PANDA, D.; MONDAL, S. Seed enhancement for sustainable agriculture: an overview of recent trends. **Plant Arch**, [s.l.], v. 20, n. 1, p. 2320-2332, 2020. Disponível em: https://www.academia.edu/download/88894446/2320_20-2332_20407.pdf

PANDEY, N.; PATHAK, G.C.; SHARMA, C.P.. Zinc is critically required for pollen function and fertilisation in lentil. **J. Trace Elem. Med. Biol.**, [s.l.], v. 20, p. 89-96, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2005.09.006>

PASQUET, J.; CHEVALIER, Y.; COUVAL, E.; BOUVIER, D.; NOIZET, G.; MORLIÈRE, C.; BOLZINGER, M. A. Antimicrobial activity of zinc oxide particles on five micro-organisms of the Challenge Tests related to their physicochemical properties. **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 460, p. 92–100, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.10.031>

PATHAK, T. K.; KROON, R. E.; CRACIUN, V.; POPA, M.; CHIFIRIUC, M. C.; SWART, H. C. Influence of Ag, Au and Pd noble metals doping on structural, optical and antimicrobial properties of zinc oxide and titanium dioxide nanomaterials. **Heliyon**, [s.l.], v. 5, n. 3, p. e01333, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01333>.

PAVÃO, D. P.; MORAES, F. C.; RIBEIRO, B. L. M.; COSTA, F. G. R.; CAMARA, M. B. P. Capacidade de formação de biofilme por cepas bacterianas e ação antibiofilme do extrato de *Lafoensia pacari* (Lythraceae). **Revista Fitos**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 153–165, 30 jun. 2021. DOI: <https://doi.org/10.32712/2446-4775.2021.1073>

PEDROSO, D. C.; LEMES, E. L.; OLIVEIRA, S. de.; TUNES, L. M. de.; JUNGES, E.; MUNIZ, M. F. B. Tratamento químico e biológico: qualidade fisiológica e sanitária de sementes de cenoura durante o armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, [s.l.], v.23, n.1, p.173, 2018. <https://doi.org/10.12661/pap.2018.001>

PESKE, S. T.; ROSENTHAL, M. D.; ROTA, G. R. M. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 3. ed. Pelotas: Editora Rua Pelotas, p. 573, 2012.

PRASAD, T. N. V. K. V.; SUDHAKAR, P.; SREENIVASULU, Y.; LATHA, P.; MUNASWAMY, V.; REDDY, K. R.; SREEPRASAD, T. S.; SAJANLAL, P. R.; PRADEEP, T. Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. **J Plant Nutr**, [s.l.], v. 35, n. 6, p.905–927, 2012. <https://doi.org/10.1080/01904167.2012.663443>

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2023. <http://www.R-project.org/>.

RAGHUPATHI, K R.; KOODALI, R. T.; MANNA, A. C. Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles. **Langmuir**, [s.l.], v. 27, n. 7, p. 4020–4028, 2011. <https://doi.org/10.1021/la104825u>

RAJPUT, V. D.; MINKINA, T.; SUSKOVA, S.; MANDZHIEVA, S.; TSITSUASHVILI, V.; CHAPLIGIN, V.; FEDORENKO, A. Effects of Copper Nanoparticles (CuO NPs) on Crop Plants: a Mini Review. **BioNanoScience**, Rostov, [s.l.], v. 8, n. 1, p. 36–42, mar. 2018. <https://doi.org/10.1007/s12668-017-0466-3>.

RAMOS-GARCIA, B.; SHAGARODSKY, T.; SANDOVAL-DENIS, M.; ORTIZ, Y.; MALOSSO, E.; COSTA, P. M.; GUARRO, J.; MINTER, D. W.; SOSA, D.; PÉREZ-MARTÍNEZ, S.; CASTANEDA-RUIZ, R. F. Morphology and phylogeny of *Cladosporium subuliforme*, causing yellow leaf spot of pepper in Cuba. **Mycotaxon**, [s.l.], v. 131, n. 3, p. 693–702, 2016. <http://dx.doi.org/10.5248/131.693>

REED, R. C.; BRADFORD, K. J.; KHANDAY, I. Seed germination and vigor: ensuring crop sustainability in a changing climate. **Heredity**, [s.l.], v. 128, n. 6, p. 450–459, 2022. <https://doi.org/10.1038/s41437-022-00497-2>

RESEARCH – WICH REASEACH LAB (WICHLAB). **Research**. Australia, 2013. Disponível em: <https://www.wichlab.com/research/>

RIZWAN, M.; ALI, S.; QAYYUM, M. F.; OK, Y. S.; ADREES, M.; IBRAHIM, M.; ZIA-UR-REHMAN, M.; FARID, M.; ABBAS, F. Effect of metal and metal oxide nanoparticles on growth and physiology of globally important food crops: A critical review. **Elsevier Enhanced Reader**, [s. l.], v. 322, n. 322, p. 2–16, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.05.061>.

ROCHA, D. K.; CARVALHO, E. R.; PIRES, R. M. D. O.; SANTOS, H. O. D.; PENIDO, A. C.; ANDRADE, D. B. D. Does the substrate affect the germination of soybean seeds treated with phytosanitary products? **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 44, p. e020119, 2020. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202044020119>.

ROCHA, F.S.; CATÃO, H.C.R.M.; BRANDÃO, A.A.; GOMES, L.A.A. Danos causados por diferentes potenciais de inóculo de *Aspergillus ochraceus* no vigor de sementes de soja. **Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 35, n. 6, p. 2895–2904, 2014. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n6p2895>

SAALLAH, S.; LENGGORO, I. W. Nanoparticles Carrying Biological Molecules: Recent Advances and Applications. **KONA Powder and Particle Journal**, [s.l.], v. 35, p. 89–111, 2018. <https://doi.org/10.14356/kona.2018015>

SAKO, Y.; MCDONALD, M.B.; FUJIMURA, K.; EVANS, A.F.; BENNETT, M.A. A system for automated seed vigor assessment. **Seed Science and Technology**, [s.l.], v.29, n.3, p.625–636, 2001. <https://www.eurofinsus.com/media/162083/seed-vigor-imaging-system.pdf>

SANTOS, S.F.; CARVALHO, S.F.; ROCHA, D.K.; NASCIMENTO, R.M. Composition and volumes of slurry in soybean seeds treatment in the industry and physiological quality during storage. **Journal of Seed Science**, [s.l.], v. 40, n. 1, p. 67-74, 2018. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v40n1185370>

ŠARIĆ, A., VRANKIĆ, M., LÜTZENKIRCHEN-HECHT, D., DESPOTOVIĆ, I., PETROVIĆ, Z., DRAŽIĆ, G., ECKELT, F. Insight into the growth mechanism and photocatalytic behavior of tubular hierarchical ZnO structures: an integrated experimental and theoretical approach. **Inorganic chemistry**, [s.l.], v. 61, n. 6, p. 2962-2979, 2022. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.1c03905>

SAVASSA, S. M., DURAN, N. M., RODRIGUES, E. S., DE ALMEIDA, E., VAN GESTEL, C. A., BOMPADRE, T. F., P. DE CARVALHO, H. W. Effects of ZnO nanoparticles on *Phaseolus vulgaris* germination and seedling development determined by X-ray spectroscopy. **ACS Applied Nano Materials**, [s.l.], v. 1, n. 11, p. 6414-6426, 2018. <https://doi.org/10.1021/acsanm.8b01619>

SAWAI, J.; YOSHIKAWA, T. Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO and ZnO) by an indirect conductimetric assay. **Journal of Applied Microbiology**, [s.l.], v. 96, n. 4, p. 803–809, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02234.x>

SEIXAS, C. D. S.; NEUMAIER, N.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; LEITE, R. M. V. B. DE C. **Tecnologias de produção de soja**. Londrina: Embrapa Soja, p. 347, 2020.

SHARMA, R. K.; GHOSE, R. Synthesis of zinc oxide nanoparticles by homogeneous precipitation method and its application in antifungal activity against *Candida albicans*. **Ceramics International**, [s.l.], v. 41, n. 1, p. 967–975, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2014.09.016>

SHI, D.; LU, G.; MEI, H.; SHEN, Y.; QIU, Y.; LIU, W. A rare case of onychomycosis induced by *Cladosporium cladosporioides*. **Journal of Clinical and Medicine Case Reports**, [s.l.], v. 2, n. 2, p. 1072, 2016.

SHYLA, K. K.; NATARAJAN, N. Customizing zinc oxide, silver and titanium dioxide nanoparticles for enhancing groundnut seed quality. **Indian J Sci Technol**, [s.l.], v. 7, n. 9, p. 1376–1381, 2014. <https://sciresol.s3.us-east-2.amazonaws.com/IJST/Articles/2014/Issue-9/Article20.pdf>

SILVA, A. C. A. *et al.* **Biocompatibilidade de semicondutores dopados, nanocristais e nanocompósitos**. In: CELIK, T. A. (Ed.) *Citotoxicidade*. Londres, Reino Unido: InTech. pág. 149-161, 2018.

SILVA, B. L.; CAETANO, B. L.; CHIARI-ANDRÉO, B. G.; PIETRO, R. C. L. R.; CHIAVACCI, L. A. Increased antibacterial activity of ZnO nanoparticles: influence of size and surface modification. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [s.l.], v. 177, p. 440-447, 2019a. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.02.013>.

SILVA, F. C. D.; CHALFOUN, S. M.; BATISTA, L. R.; SANTOS, C.; LIMA, N. **Taxonomia polifásica para a identificação de *Aspergillus* seção Flavi: uma revisão**, **Revista Ifes Ciência**, n. 1, v. 1, 2015. Disponível em: https://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/70364/1/document_54207_1.pdf

SILVA, L. J.; MEDEIROS, A. D.; OLIVEIRA, A. M. S. SeedCalc, a new automated R software tool for germination and seedling length data processing. **Journal Of Seed Science**, [s.l.], v. 41, n. 2, p. 250-257, 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v42n2217267>.

SILVA, L. P.; BONATTO, C. C.; PEREIRA, F. D. E. S.; SILVA, L. D.; ALBERNAZ, V. L.; POLEZ, V. L. P. Nanotecnologia verde para síntese de nanopartículas metálicas. **Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria**, [s.l.], v. 4, p. 967–1012, 2017. <http://dx.doi.org/10.5151/9788521211150-26>

SIRELKHATIM, A., MAHMUD, S., SEENI, A., KAUS, N. H. M., ANN, L. C., BAKHORI, S. K. M., HASAN, H., MOHAMAD, D. Review on Zinc Oxide Nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. **Nano-Micro Letters**, [s.l.], v. 7, n. 3, p. 219-242, 19 abr. 2015.. <http://dx.doi.org/10.1007/s40820-015-0040-x>.

SOBRINHO, C. A.; SANTOS, A. R. B.; DA SILVA, P. H. S. **Fungos em sementes de Feijão Caupi: detecção, qualidade sanitária e controle alternativo**. 1 ed. Brasília, DF: Embrapa, 2020.

SOLBERG, S.O.; YNDGAARD, F.; ANDREASEN, C.; VON BOTHMER, R.; LOSKUTOV, I. G.; ASDAL, A. Long-term storage and longevity of orthodox seeds: A systematic review. **Front Plant Sci**, [s.l.], v. 11, p. 1007, 2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01007>

SOMASUNDARAM, G.; BHASKARAN, M. Standardization of accelerated ageing duration for screening of rice genotypes for seed longevity. **Int J Agric Sci**, [s.l.], v. 7, p. 397-404, 2017.

SOUSA, C. J. A.; PEREIRA, M. C.; ALMEIDA, R. J.; LOYOLA, A. M.; SILVA, A. C. A.; DANTAS, N. O. Synthesis and characterization of zinc oxide nanocrystals and histologic evaluation of their biocompatibility by means of intraosseous implants. **International Endodontic Journal**, [s. l.], v. 47, n. 5, p. 416–424, maio 2014. <https://doi.org/10.1111/iej.12164>.

SOUZA, P. A.; SANTOS, A. F.; GONÇALVES, D. S.; VENTURIN, N. Efeito da reidratação na germinação de sementes de açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.). **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.17, n. 2, p. 286-291, 2018. <https://doi.org/10.5965/223811711722018286>

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A.. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6.ed.- Porto Alegre: Artmed, 168 p. 2017.

THORNE, Wynne. Deficiência de zinco e seu controle. **Avanços na Agronomia**, [s.l.], v. 9, p. 31-65, 1957.

VADLAPUDI, V.; BORAH, N.; YELLUSANI, K. R.; GADE, S.; REDDY, P.; RAJAMANIKYAM, M.; VEMPATI, L. N. S.; GUBBALA, S. P.; CHOPRA, P.; UPADHYAYULA, S. M.; AMANCHY, R. *Aspergillus* Secondary Metabolite Database, a resource to understand the Secondary metabolome of *Aspergillus* genus. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 7, n. 1, p. 1–10, 2017. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-07436-w>.

VALENCA, D. P.; BOUCHONNEAU, N.; VIEIRA, M. R. S.; ALVES, K. G. B.; MELO, C. P.; URTIGA FILHO, S. L. Synthesis and characterization of nanocomposites ZnO/polypyrrole for anti corrosive application. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS, 21., 2014. Cuiabá. **Anais [...]**. Cuiabá: CBECIMAT, 2014. p. 8https://inis.iaea.org/collection/NCLCollectionStore/_Public/48/047/48047198.pdf?r=1 VAN DER MORTEL, J. E.; VILLANUEVA, L. A.; SCHAT, H.; KWEKKEBOOM,

J.; COUGHLAN, S.; MOERLAND, P. D.; VAN THEMAAT, E. V. L.; KOORNNEEF, M.; AARTS, M. G. M. Large expression differences in genes for iron and zinc homeostasis, stress response, and lignin biosynthesis distinguish roots of *Arabidopsis thaliana* and the related metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* **Plant Physiol**, [s.l.], v. 142, p. 1127–1147, 2006.

VANZOLINI, S.; CARVALHO, N. M. Efeito do vigor de sementes de soja sobre o seu desempenho em campo. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v. 24, n.1, p.33-41, 2002. <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/30fd1b5f-257e-4fda-94cd-15de764a7463/content>

VARIER, A.; VARI, A. K.; DADLANI, M. The subcellular basis of seed priming. **Curr Sci**, [s.l.], v. 99, n. 4, p. 450–456, 2010. <https://www.jstor.org/stable/24109568>

VERMA, S. K.; DAS, A. K.; GANTAIT, S.; KUMAR, V.; GUREL E. Applications of carbon nanomaterials in the plant system: a perspective view on the pros and cons. **Sci Total Environ**, [s.l.], v. 667, p. 485–499, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.409>

VIJAYAPRASATH, G.; MURUGAN, R.; PALANISAMY, S.; PRABHU, N. M.; MAHALINGAM, T.; HAYAKAWA, Y.; RAVI, G. Role of nickel doping on structural, optical, magnetic properties and antibacterial activity of ZnO nanoparticles. **Materials Research Bulletin**, [s. l.], v. 76, p. 48–61, abr. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2015.11.053>.

VOGEL, J. T.; LIU, W.; OLHOFT, P.; CRAFTS-BRANDNER, S. J.; PENNYCOOKE, J. C.; CHRISTIANSEN, N. Soybean yield formation physiology—a foundation for precision breeding based improvement. **Frontiers in plant science**, [s.l.], v. 12, p. 719706, 2021. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.719706>

WAWRZYNIAK, M. K.; KALEMBA, E. M.; RATAJCZAK, E.; CHMIELARZ, P.; Oxidation processes related to seed storage and seedling growth of *Malus sylvestris*, *Prunus avium* and *Prunus padus*. **PLoS ONE**, [s.l.], v. 15, n. 6, p. e0234510, 2020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234510>

YILMAZ, N.; SANDOVAL-DENIS, M.; LOMBARD, L.; VISAGIE, C.M.; WINGFIELD, B.D.; CROUS, P.W. Redefining species limits in the *Fusarium fujikuroi* species complex. **Persoonia - Molecular Phylogeny And Evolution Of Fungi**, [s.l.], v. 46, n. 34, p. 129-162, jun. 2021. Naturalis Biodiversity Center. <http://dx.doi.org/10.3767/persoonia.2021.46.05>.

YIN, X.; HE, D.; GUPTA, R.; YANG, P. Physiological and proteomic analyses on artificially aged *Brassica napus* seed. **Front Plant Sci**, [s.l.], v. 6, p. 112, 2015. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00112>

YOKEL, R.A., MACPHAIL, R.C. Nanomateriais projetados: exposições, perigos e prevenção de riscos. **J Occup Med Toxicol**, [s.l.], v. 6, p. 7, 2011. <https://doi.org/10.1186/1745-6673-6-7>

ZALAR, P.; DE HOOG, G.; SCHROERS, H.; CROUS, P.; GROENEWALD, J.; GUNDE CIMERMAN, N. Phylogeny and ecology of the ubiquitous saprobe *Cladosporium sphaerospermum*, with descriptions of seven new species from hypersaline environments. **Studies in Mycology**, [s.l.], v. 58, p. 157-183, 2007.

ZANDONÁ, R. C.; PAZDIORA, P. C.; PAZINIENIO, J. B., JR.; ETHUR, S. L. Chemical and biological seed treatment and their effect on soybean development and yield. **Revista Caatinga**, [s.l.], v. 32, n. 2, p. 559-565, 2019. <https://doi.org/10.1590/1983-21252019v32n229rc>