

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

ANA CARLA CORDEIRO

**ANÁLISE DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE TRIGO TRATADAS
COM TIAMETOXAM ATRAVÉS DE TÉCNICAS ÓTICAS**

CURITIBA

2022

ANA CARLA CORDEIRO

**ANÁLISE DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE TRIGO TRATADAS
COM TIAMETOXAM ATRAVÉS DE TÉCNICAS ÓTICAS**

**Analysis of the physiological quality of wheat seeds treated with
Thiamethoxam using optical techniques**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), como requisito para obtenção do título de “Doutora em Ciências” - Área de Concentração: Fotônica em Engenharia.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Canute Kamikawachi.
Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Giometti Bertogna.

CURITIBA

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença



**Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Curitiba**



ANA CARLA CORDEIRO

**ANÁLISE DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE TRIGO TRATADAS COM TIAMETOXAM
ATRAVÉS DE TÉCNICAS ÓTICAS**

Trabalho de pesquisa de doutorado apresentado como requisito para obtenção do título de Doutora Em Ciências da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Fotônica Em Engenharia.

Data de aprovação: 13 de Dezembro de 2021

Prof Ricardo Canute Kamikawachi, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof Fernando Augusto Henning, Doutorado - Embrapa

Prof.a Graciela Ines Bolzon De Muniz, Doutorado - Universidade Federal do Paraná (Ufpr)

Prof.a Ilda Abe, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof Rubens Alexandre De Faria, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 13/12/2021.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus e a N. Sra. Aparecida por me proporcionar a oportunidade de realizar os meus sonhos, em especial, o sonho de estudar. À minha mãe, Roseli de Fátima Hey, e ao meu pai, Carlos Glodes Cordeiro, pela dedicação, esforços e muito trabalho árduo para que eu pudesse continuar meus estudos. Ao meu noivo Victor Gati que me ajudou a superar os obstáculos com paciência e amor e a Roseli Regina dos Santos Gati por sempre me incentivar.

Ao meu orientador Prof. Dr. Ricardo Canute Kamikawachi pela orientação e por acreditar em mim e em meus objetivos. Ao meu coorientador Prof. Dr. Eduardo Giometti Bertogna por sua dedicação, orientação e incentivo pessoal e profissional.

À Mutuca Sementes, ao engenheiro agrônomo José Bento Cavalcanti Germano, ao Sr. Antônio Carlos Bentin, à engenheira agrônoma Rubiane Roskosz de Castro e à analista Aline Carneiro de Mattos pelas contribuições e parceria. À Embrapa Soja pelo amparo no desenvolvimento da pesquisa. Ao Prof. Dr. Gustavo Henrique Couto pela sua dedicação na pesquisa. À Profa. Dra. Maria Giovana Binder Pagnoncelli. Ao Laboratório Multiusuário de Análises Químicas (LAMAQ) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), em especial, à Rúbia Camila Ronqui Bottini. Aos laboratórios de pesquisa em bioenergia e biotecnologia (LAPREBB) e Bromatologia e Tratamento de Águas Residuárias (LATAR). À UTFPR, campus Curitiba, pela oportunidade. Aos meus professores do departamento acadêmico de eletrotécnica (DAELT). Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial (CPGEI). Aos meus amigos, em especial, a Prof. Dra. Rosângela Winter, a Roseli Aparecida Voltolini e Prof. Dr. Jair Urbanetz Júnior pelos inúmeros momentos de alegria e colaboração.

Ao Dr. Fernando Augusto Henning, à Prof. Dra. Graciela Bolzón de Muniz, à Prof. Dra. Ilda Abe e ao Prof. Dr. Rubens Alexandre de Faria por aceitarem avaliar e contribuir para este trabalho. À Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro. O presente trabalho foi realizado com apoio da CAPES - Código de Financiamento 001.

"A mente que abre uma nova janela jamais volta ao seu tamanho original"
Albert Einstein

RESUMO

A prática de tratamentos de sementes com inseticidas confere proteção contra as pragas iniciais de campo, porém são necessárias avaliações nas respostas fisiológicas e bioquímicas das culturas submetidas aos produtos. Os ensaios padrão (não óticos) são aplicados com o objetivo de avaliar a qualidade fisiológica de sementes. Todavia, alguns testes podem produzir resultados variáveis. Uma das alternativas encontradas para auxiliar os ensaios tradicionais são através de técnicas óticas, como a bioluminescência ultrafraca ou UWPE (do inglês, *Ultra-Weak Photon Emission* - UWPE) e a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (do inglês, *Fourier Transform Infrared* - FTIR). Dessa forma, o objetivo principal deste trabalho é comparar os resultados das técnicas tradicionais com os das técnicas óticas. Assim, foi utilizado um lote de sementes de trigo da cultivar FPS Certero. As amostras foram divididas em cinco grupos: grupo controle e grupos tratados com 75, 150 (dose recomenda), 225 e 300 mL do ingrediente ativo (i.a.) Tiametoxam (THX). Os resultados dos ensaios óticos foram associados à primeira contagem de emergência em areia (PCE), índice de velocidade de emergência em areia (IVE), contagem final de emergência em areia (CFE), comprimentos das partes aéreas (CPA) e raízes primárias (CR) e massa seca (MS). Nos testes de emergência em areia, a PCE e o IVE obtiveram 90 % e 66 %, respectivamente, de correlação simples com somatórios totais das fotocontagens dos ensaios das UWPEs. Os resultados da técnica FTIR e das leituras dos CPA, CR e das MS não indicaram alterações significativas entre os grupos. Além disso, foram empregados outros dois lotes com diferentes níveis de vigor da cultivar ORS Madrepérola. As técnicas óticas para a análise foram as mencionadas anteriormente e foram realizadas as leituras dos CPA, CR e das MS. Os resultados indicaram que os ensaios tradicionais não foram sensíveis para observar os diferentes níveis de vigor, porém os resultados da FTIR, através da análise dos componentes principais (do inglês, *Principal Component Analysis* - PCA), indicaram os diferentes níveis de vigor dos grupos. Portanto, as técnicas óticas podem ser utilizadas como ferramentas auxiliares para a análise da qualidade fisiológica de sementes.

Palavras - chave: emissão de fótons ultrafraca; espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier; técnicas padrão; inseticida; triticultura.

ABSTRACT

The practice of seed treatments with insecticides confers protection against early field pests, but evaluations are needed on the physiological and biochemical responses of crops subjected to these products. Standard tests (non-optical) are applied to evaluate the physiological quality of seeds. However, some tests can produce variable results. One of the alternatives found to assist traditional tests are through optical techniques, such as Ultra-Weak Photon Emission - UWPE and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). Thus, the main objective of this work is to compare the results of traditional techniques with those of optical techniques. Thus, it was used a sample of wheat seeds of the cultivar FPS Certero. The samples were divided into five groups: control group and groups treated with 75, 150 (recommended dose), 225 and 300 mL of the active ingredient Thiamethoxam (THX). The results of the optical tests were associated with first sand emergence count, sand emergence speed index, final sand emergence count, aerial part lengths, primary root lengths and dry mass. In sand emergence tests, final sand emergence count and sand emergence speed index obtained 90 % and 66 %, respectively, of simple correlation with photo-counts summation of the UWPEs trials. The results of the FTIR technique and the readings of the aerial part and primary root lengths and dry mass indicated no significant changes between the groups. In addition, it was used two samples with different vigor levels of the cultivar ORS Madrepérola. The optical techniques were the same as previously mentioned and it were read the aerial part lengths, primary root lengths and dry mass. The results indicated that traditional tests were not sensitive to observe the different levels of vigor. The FTIR results, through principal component analysis (PCA), indicated the different levels of vigor of the groups. Therefore, optical techniques can be used as auxiliary tools for the analysis of the physiological quality of seeds.

Keywords: ultra-weak photon emission; Fourier transform infrared spectroscopy; standard techniques; insecticide; triculture.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Seção Longitudinal da semente de trigo e suas partes	33
Figura 2 -	Plântula de trigo	34
Figura 3 -	Representação esquemática do mecanismo de ação do i.a. THX na produtividade	44
Figura 4 -	Diagrama do arranjo da experiência de Gurwitsch com duas raízes de cebola	46
Figura 5 -	Diagrama do decaimento de espécies eletronicamente excitadas.....	52
Figura 6 -	Diagrama em blocos do sistema de aquisição dos perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs.....	64

LISTA DE FOTOGRAFIAS

Fotografia 1 - Amostras de sementes de trigo tratadas com a dose de 300 mL do i.a. THX	63
Fotografia 2 - Amostra de sementes de trigo - grupo controle (a) e grupo de sementes tratadas com a dose de 150 mL do i.a. THX (b) - no terceiro dia após a instalação do teste.....	66
Fotografia 3 - Espectrofotômetro de UV-Vis	67
Fotografia 4 - a) Sementes sobre duas folhas de papel (primeira repetição); b) Sementes sobre duas folhas de papel cobertas com a terceira folha de papel (primeira repetição); c) Rolos formados para um dos grupos de análise	71
Fotografia 5 - a) Quatro repetições do grupo controle acomodadas no saco plástico; b) repetições de cada grupo de sementes acomodadas na câmara de germinação	71
Fotografia 6 - Sementes de trigo no: a) terceiro; b) quinto dia após a instalação do teste.....	72
Fotografia 7 - a) Partes aéreas; b) Pericarpos externos e internos e os tegumentos; c) Raízes no oitavo dia após a instalação do teste.....	73
Fotografia 8 - a) Espectrofotômetro; b) Detalhe ATR.....	74
Fotografia 9 - a) Plântulas de trigo sem tratamento; b) Plântulas de trigo tratadas com a dose de 300 mL do i.a. THX na PCE - emergência em areia.....	88
Fotografia 10 - a) Plântulas de trigo sem tratamento; b) Plântulas de trigo tratadas com a dose de 300 mL do i.a. THX na CFE - emergência em areia.....	90

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Três perfis temporais das fotocontagens - ruído de escuro da câmara de fotocontagem vazia.....	77
Gráfico 2 -	Três perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs	78
Gráfico 3 -	Médias dos três perfis temporais das fotocontagens para o ruído de escuro da câmara de fotocontagem vazia e perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs das sementes de trigo	80
Gráfico 4 -	Relação entre a média do CPA das plântulas normais, o somatório total das fotocontagens e ganho total de biomassa logo após o fim dos testes - resultados pareados	82
Gráfico 5 -	Relação entre os somatórios totais e as inclinações dos perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs	84
Gráfico 6 -	Absorvâncias das diferentes doses do i.a. THX	85
Gráfico 7 -	Ajuste polinomial de segundo grau para as porcentagens médias de emergência das plântulas normais na PCE em relação às doses do i.a. THX - emergência em areia	87
Gráfico 8 -	Ajuste polinomial de segundo grau para as porcentagens médias de emergência das plântulas normais na CFE em relação às doses do i.a. THX - emergência em areia	90
Gráfico 9 -	Ajuste polinomial de segundo grau para as médias do IVE em relação às doses do i.a. THX - emergência em areia	92
Gráfico 10 -	Ajustes polinomiais de segundo grau para as médias dos CPA das plântulas normais do terceiro ao quinto dia após a instalação do teste em relação às doses do i.a. THX	95
Gráfico 11 -	Ajustes polinomiais de segundo grau para as médias dos CR das plântulas normais do terceiro ao quinto dia após a instalação do teste em relação às doses do i.a. THX	95
Gráfico 12 -	Ajustes polinomiais de segundo grau para as médias das MS das plântulas normais do terceiro ao quinto dia após a instalação do teste em relação às doses do i.a. THX	97
Gráfico 13 -	Ajuste polinomial de segundo grau para as médias dos CPA das plântulas normais no oitavo dia após a instalação do teste em relação às doses do i.a. THX	98
Gráfico 14 -	Ajuste polinomial de segundo grau para as médias dos CR das plântulas normais no oitavo dia após a instalação do teste em relação às doses do i.a. THX	99
Gráfico 15 -	Ajuste polinomial de segundo grau para as médias das MS das plântulas normais no oitavo dia após a instalação do teste em relação à dose do i.a. THX.....	99
Gráfico 16 -	Relações entre as porcentagens médias de emergência das plântulas normais na PCE, as médias dos somatórios totais das fotocontagens e as médias dos IVE - resultados não pareados	101
Gráfico 17 -	Espectro de absorção FTIR de sementes de trigo do grupo controle elaboradas no primeiro dia após a instalação do teste.....	103

Gráfico 18 -	Resultados dos ajustes lorentzianos para a determinação das bandas da região (b) de absorção que compõem o espectro	104
Gráfico 19 -	Resultados dos ajustes lorentzianos para a determinação das bandas da região (c) de absorção que compõem o espectro	105
Gráfico 20 -	Resultados dos ajustes lorentzianos para a determinação das bandas da região (d) de absorção que compõem o espectro	106
Gráfico 21 -	Resultados dos ajustes lorentzianos para a determinação das bandas da região (e) de absorção que compõem o espectro	107
Gráfico 22 -	Resultados dos ajustes lorentzianos para a determinação das bandas da região (f) de absorção que compõem o espectro	108
Gráfico 23 -	Análise da banda 2852 cm⁻¹ ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX	110
Gráfico 24 -	Análise da banda 2872 cm⁻¹ ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX	110
Gráfico 25 -	Análise da banda 2923 cm⁻¹ ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX	111
Gráfico 26 -	Análise da banda 2959 cm⁻¹ ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX	111
Gráfico 27 -	Análise da banda 3008 cm⁻¹ ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX	112
Gráfico 28 -	PCA - Análise dos espectros referente às amostras do primeiro dia após a instalação do teste	113
Gráfico 29 -	PCA - Análise dos espectros referente às amostras do segundo dia após a instalação do teste	114
Gráfico 30 -	PCA - Análise dos espectros referente às amostras do terceiro dia após a instalação do teste	114
Gráfico 31 -	PCA - Análise dos espectros referente às amostras do quarto dia após a instalação do teste	115
Gráfico 32 -	PCA - Análise dos espectros referente às amostras do quinto dia após a instalação do teste	115
Gráfico 33 -	Médias dos dois perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs dos grupos de sementes de trigo não tratadas e tratadas com a dose de 150 do i.a. THX	118
Gráfico 34 -	Ajuste polinomial de segundo grau para as médias dos CPA das plântulas normais no oitavo dia após a instalação do teste em relação aos grupos de sementes	120
Gráfico 35 -	Ajuste polinomial de segundo grau para as médias dos CR das plântulas normais no oitavo dia após a instalação do teste em relação aos grupos de sementes	120
Gráfico 36 -	Ajuste linear para as médias das MS das plântulas normais no oitavo dia após a instalação do teste em relação aos grupos de sementes	121
Gráfico 37 -	PCA - Análise dos espectros FTIR referentes às sementes com diferentes níveis de vigor	122

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Principais enzimas hidrolíticas envolvidas na mobilização nutricional das sementes	37
Tabela 2 -	Bandas de Análise dos Compostos Orgânicos	59
Tabela 3 -	Volume das caldas referentes às diferentes doses	62
Tabela 4 -	Parâmetros estatísticos das fotocontagens dos três testes - ruído de escuro da câmara de fotocontagem vazia.....	77
Tabela 5 -	Parâmetros estatísticos das fotocontagens dos testes para cada um dos grupos de sementes de trigo	79
Tabela 6 -	Médias dos somatórios totais das fotocontagens, médias dos ganhos totais de biomassas logo após o fim dos testes e médias dos CPA das plântulas normais - Ensaio das UWPEs	81
Tabela 7 -	Médias das inclinações dos perfis temporais das fotocontagens - Ensaio das UWPEs.....	83
Tabela 8 -	Coeficiente de correlação de Pearson entre as médias das inclinações dos perfis temporais e as médias dos somatórios totais das fotocontagens	83
Tabela 9 -	Porcentagens médias das plântulas normais emergidas no quarto dia após a instalação do teste - PCE.....	86
Tabela 10 -	Porcentagens médias das plântulas normais emergidas no oitavo dia após a instalação do teste - CFE	89
Tabela 11 -	Médias das razões entre os números de plântulas emergidas e o número de dias do primeiro ao último dia de leitura após a instalação do teste - IVE.....	91
Tabela 12 -	Médias dos CPA e CR das plântulas normais referentes às leituras realizadas do terceiro ao quinto dia após a instalação do teste	94
Tabela 13 -	Médias das MS dos pericarpos externos e internos e os tegumentos das sementes referente às leituras no primeiro e segundo dia após a instalação do teste e médias das MS das plântulas normais referente às leituras do terceiro ao quinto dia após a instalação do teste	96
Tabela 14 -	Médias dos CPA, CR e das MS das plântulas normais referente às leituras no oitavo após a instalação do teste.....	98
Tabela 15 -	Coeficiente de correlação de Pearson entre os resultados dos testes de emergência em areia e os das UWPEs	100
Tabela 16 -	Coeficiente de correlação de Pearson entre os resultados dos CPA, CR, e MS das plântulas normais medidas no oitavo dia após a instalação do teste e os das UWPEs	102
Tabela 17 -	Valores dos números de onda das bandas na região (b) obtidos pelos ajustes lorentzianos, os valores encontrados na literatura e as respectivas vibrações	105
Tabela 18 -	Valores dos números de onda das bandas na região (c) obtidos pelos ajustes lorentzianos, os valores encontrados na literatura e as respectivas vibrações	106

Tabela 19 -	Valores dos números de onda das bandas na região (d) obtidos pelos ajustes lorentzianos, os valores encontrados na literatura e as respectivas vibrações	107
Tabela 20 -	Valores dos números de onda das bandas na região (e) obtidos pelos dos ajustes lorentzianos, os valores encontrados na literatura e as respectivas vibrações	108
Tabela 21 -	Valores dos números de onda das bandas na região (f) obtidos pelos ajustes lorentzianos, os valores encontrados na literatura e as respectivas vibrações	109
Tabela 22 -	Médias das inclinações dos perfis temporais e dos somatórios totais das fotocontagens - Ensaio da UWPE.....	117
Tabela 23 -	Médias dos CPA, CR e das MS das plântulas normais - Ensaio das UWPEs	119
Tabela 24 -	Médias dos CPA, CR e das MS referente às leituras no oitavo após a instalação do teste	119

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

a.C.	Antes de Cristo
ABITRIGO	Associação Brasileira da Indústria do Trigo
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOSA	<i>Association of Official Seed Analysts</i>
ATP	Adenosina Trifosfato
ATR	Reflexão Total Atenuada - <i>Attenuated Total Reflectance</i>
BPE	Emissão de biofótons - <i>Biophotons Emission</i>
C.V.	Coeficiente de Variância
CAT	Catalase
CFE	Contagem final de emergência
CFG	Contagem final de germinação
CONAB	Companhia Nacional do Abastecimento
CPA	Comprimentos das partes aéreas das plântulas
CR	Comprimentos das raízes primárias
CTP	Comprimentos totais das plântulas
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
DL	Luminescência Retardada - <i>Delayed Luminescence</i>
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FIR	Infravermelho distante - <i>Far Infrared</i>
FS	Suspensão Concentrada para Tratamento de Sementes
FT	Transformada de Fourier - <i>Fourier Transform</i>
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier - <i>Fourier Transform Infrared</i>
FTMIR	Espectroscopia de Infravermelho Médio com transformada de Fourier - <i>Fourier Transform Mid Infrared Spectroscopy</i>
HCA	Análise de Agrupamento Hierárquico - <i>Hierarchical Cluster</i>
i.a.	Ingrediente Ativo
IR	Infravermelho
ISTA	<i>International Seed Testing Association</i>
IoT	internet das coisas - <i>Internet of Thing</i>
IUPAC	União internacional da Química Pura e Aplicada -
IVE	Índice de velocidade de emergência
IVG	Índice de velocidade de germinação
MGR	Radiação Mitogenética - <i>Mitogenetic Radiation</i>
MIR	Infravermelho médio - <i>Mid Infrared</i>
MS	Massas Secas
NIR	Infravermelho próximo - <i>Near Infrared</i>
PC	Principais Componentes
PCA	Análise dos Componentes Principais - <i>Principal Component</i>
PCE	Primeira contagem de emergência
PCG	Primeira contagem de germinação
PMT	Válvula Fotomultiplicadora - <i>Photomultiplier Tube</i>
RAS	Regras para análise de sementes
RNA	Ácido Ribonucleico
SOD	Superóxido Dismutase

THX	Tiametoxam - <i>Thiamethoxam</i>
u.a.	Unidade Arbitrária
UV	Ultravioleta
UWPE	Emissão de fótons ultrafraca - <i>Ultra-weak Photon Emission</i>
Vis	Visível
WS	Pó dispersível para tratamento de sementes

LISTA DE SÍMBOLOS

A	Absorvância
k_B	Constante de Boltzmann
T_c	Constante de decaimento
h	Constante de Planck
ρ	Deformação angular do tipo balanço no plano
ω	Deformação angular do tipo oscilação fora do plano
δ	Deformação angular do tipo tesoura no plano
δ_s	Deformação angular do tipo tesoura no plano simétrico
τ	Deformação torção do tipo fora do plano
ν	Frequência do fóton
#/10 s	Integração a cada 10 s
I_o	Intensidade da radiação incidente antes de passar pela amostra
I_s	Intensidade da radiação incidente depois de passar pela
$i(\nu)$	Intensidade espectral
u_{as}	Movimento de estiramento assimétrico
u_s	Movimento de estiramento simétrico
$D_1, D_2...D_n$	Número de dias contados após a instalação dos testes
$\tilde{\nu}$	Número de onda
$N_1, N_2...N_n$	Número de plântulas emergidas
pH	Potencial Hidrogeniônico
$f(\nu)$	Probabilidade de ocupação dos estados excitados
T	Transmitância

LISTA DE FÓRMULAS E COMPOSTOS MOLECULARES

H ₂ O	Água
³ R = O	Carbonila no estado tripleto
C	Carbono
NaCl	Cloreto de Sódio
Cl	Cloro
K ₂ Cr ₂ O ₇	Dicromato de Potássio
ROOR	Dioxetano
TiO ₂	Dióxido de Titânio
NaF	Fluoreto de Sódio
CO ₂	Gás Carbônico
Ge	Germânio
NH ₂	Grupo Amina
H	Hidrogênio
KRS-5	Iodeto de tálio-tálio brometo
Hg	Mercúrio
N	Nitrogênio
O	Oxigênio
O ₂	Oxigênio molecular
¹ O ₂	Oxigênio singleto
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
¹ P*	Pigmentos excitados no estado singleto
³ P*	Pigmentos excitados no estado tripleto
•COOH	Radical Ácido Carboxílico
R•	Radical Alquila
•OH	Radical Hidroxila
ROO•	Radical Peroxil
O ₂ ⁻ •	Radical superóxido ou Ânion superóxido
ZnSe	Seleneto de zinco
Si	Silício
ROOOO	Tetróxido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
1.1	Estado da arte	23
1.1.1	Emissão de fótons ultrafraca	23
1.1.2	Análise do Tiametoxam aplicado no tratamento de sementes através de ensaios não óticos	27
1.1.3	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier	29
1.2	Objetivos	31
1.2.1	Objetivo geral	31
1.2.2	Objetivos específicos	31
1.3	Estrutura do trabalho	31
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	33
2.1	Sementes de trigo	33
2.1.1	Composição química das sementes de trigo	34
2.1.2	Processo de germinação das sementes de trigo	38
2.1.3	Qualidade de sementes	40
2.2	Inseticida com ingrediente ativo Tiametoxam	43
2.3	Emissões de fótons ultrafraca	45
2.3.1	Breve histórico da UWPE	45
2.3.2	Definição da UWPE	49
2.4	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta - visível	53
2.5	Ensaio para a análise da qualidade fisiológica de sementes - não óticos	54
2.6	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier	56
3	MATERIAIS E MÉTODOS	61
3.1	Preparo dos grupos de sementes de trigo	61
3.2	Instrumentação e metodologia para obter os perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs	63
3.2.1	Metodologia para os perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs	65
3.3	Instrumentação e metodologia para obter os espectros de absorção na região do ultravioleta até o visível	67

3.4	Metodologia para obter os resultados não óticos	68
3.4.1	Emergência em areia	68
3.4.2	Medidas dos comprimentos das partes aéreas, das raízes primárias e da massa seca das plântulas de trigo do primeiro ao quinto dia e no oitavo dia após a instalação do teste.....	70
3.5	Instrumentação e metodologia aplicadas para obter os espectros de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier	73
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	76
4.1	Ensaio das UWPEs	76
4.1.1	Perfil temporal do ruído de escuro da câmara de fotocontagem vazia	76
4.1.2	Perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs	78
4.1.3	Análises dos resultados - ensaios das UWPEs	80
4.2	Espectros UV-VIS das doses de tratamento	84
4.3	Ensaio não óticos	85
4.3.1	Emergência em areia	86
4.3.1.1	<u>Primeira contagem de emergência</u>	86
4.3.1.2	<u>Contagem final de emergência</u>	88
4.3.1.3	<u>Índice de velocidade de emergência em areia</u>	91
4.3.2	Medidas dos comprimentos das partes aéreas, das raízes primárias e da massa seca das plântulas de trigo do primeiro ao quinto dia após a instalação do teste.....	93
4.3.3	Medidas dos comprimentos das partes aéreas, das raízes primárias e da massa seca das plântulas de trigo no oitavo após a instalação do teste.....	97
4.3.4	Correlações entre os resultados dos testes de emergência em areia e os dados das UWPEs.....	100
4.4	Ensaio de FTIR	103
4.4.1	Número onda centrais das bandas determinados por ajustes lorentzianos	103
4.4.2	Análise dos principais componentes - análise do primeiro ao quinto dia após a instalação do teste	112
4.5	Análises com a metodologia proposta com sementes de trigo com diferentes níveis de vigor	116

4.5.1	Ensaio das UWPEs	117
4.5.2	Ensaio não ótico	119
4.5.3	Ensaio de FTIR.....	121
5	CONCLUSÕES FINAIS	123
	REFERÊNCIAS.....	124
	APÊNDICE A - Análise quantitativa das bandas espectrais ao longo dos cinco dias após a instalação do teste e diferentes doses do i.a. THX.....	139
	APÊNDICE B - Germinação entre papel	151

1 INTRODUÇÃO

O trigo é um dos três cereais mais importantes cultivados mundialmente, juntamente com o arroz e o milho, devido aos seus aspectos nutricionais e econômicos (COSTA; SOUZA; STAMFORD, 2008; DEMIR; ONDE; SEVERCAN, 2014). Foi na Mesopotâmia, em uma região conhecida como Crescente Fértil, que o trigo começou a ser cultivado e usado na forma de grãos como alimento (ABITRIGO, 2021). Por volta de 4000 a.C., os egípcios iniciaram a produção de pães colaborando com a expansão do trigo pelo mundo (CONAB, 2017, p.16). Por volta de 2000 a.C., os chineses utilizavam o trigo para o preparo de massas. Além disso, o trigo também era usado como símbolo religioso (ABITRIGO, 2021). Atualmente, o trigo é um dos principais componentes da alimentação humana e também é aplicado na nutrição animal.

Segundo a Companhia Nacional do Abastecimento - (CONAB), devido ao aprimoramento genético que ocorreu com o passar dos anos, a semente de trigo adquiriu ampla adaptação a muitos tipos de solos e climas. Com isso, ela pode ser cultivada em regiões de clima desértico até regiões com alto índice de precipitação (CONAB, 2017, p.30). O Brasil está na décima quinta colocação no ranking mundial da produção de trigo (USDA, 2021). Em nosso país, o trigo é cultivado da região Sul até a região de cerrados (MIRANDA, 2006). O destaque da produção é da região Sul, com 88,71 % do total nacional, sendo o Paraná o maior produtor com 49,54 % seguido do Rio Grande do Sul com 34,04 %, representando 83,59 % do total nacional (CONAB, 2021).

Devido à grande importância alimentar que a cultura do trigo representa, deve-se garantir a qualidade das sementes com objetivo de obter alta produtividade da cultura em campo. Além disso, a cultura do trigo tem grande importância socioeconômica para a sustentabilidade das propriedades agrícolas e na busca pela autossuficiência na produção (FRANCESCHI *et al.*, 2009).

A qualidade de sementes é definida como um conjunto de características inerentes que determinam o valor para a semeadura, indicando o potencial de desempenho das sementes. Com isso, a qualidade da semente é identificada através dos atributos de natureza genética, física, fisiológica e sanitária de forma conjunta (CONAB, 2017, p.36; MARCOS FILHO, 2005, p. 430).

Com a intensificação do uso de sementes e a importância do estabelecimento rápido e uniforme da população de plantas o interesse na identificação da qualidade

fisiológica aumentou. Assim, dos quatro atributos que determinam a qualidade de sementes, o componente fisiológico é o de maior interesse, pois ele reúne informações sobre a viabilidade (germinação) e o vigor de sementes (MARCOS FILHO, 2005, p. 459 - 460; MARCOS FILHO, 2017, p.28).

A investigação da qualidade fisiológica das amostras de sementes é realizada em laboratório a fim de avaliar a germinação e a identificação das sementes com maior probabilidade de apresentar desempenho adequado durante o armazenamento e em campo (MARCOS FILHO, 2005, p.431 - 432; MARCOS FILHO, 2013).

Há fatores capazes de afetar a qualidade fisiológica das sementes. Alguns desses fatores são: fatores genéticos; a ocorrência de patógenos; danos mecânicos ocasionados nas sementes; à ocorrência de insetos e microrganismos nocivos; e os tratamentos químicos com fungicidas, bactericidas e inseticidas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000, p. 227 - 237; MARCOS FILHO, 2005, p.438 - 440; MARCOS FILHO, 2013). Desse modo, com boas características genéticas, evitando a ocorrência dos fatores mencionados, garantindo a produção de sementes em condições favoráveis e o manejo adequado após a maturidade, à alta produtividade e estabelecimento da densidade de plantio em campo é alcançado, como consequência da alta qualidade das sementes semeadas (MARCOS FILHO, 2005, p. 431).

Para o aumento do desempenho inicial das safras, muitas vezes, faz-se o tratamento de sementes com agroquímicos que conferem às sementes e as plântulas proteção contra as pragas e insetos (CASTRO *et al.*, 2008; MACEDO; CASTRO, 2011). Todavia, alguns desses defensivos agrícolas podem ser capazes também de promover efeitos na qualidade fisiológica de sementes, como é o caso dos agroquímicos de controle hormonal (MACEDO; CASTRO, 2011). Dentro desse grupo de agroquímicos há o subgrupo classificado como bioativadores, onde se encontra o inseticida sistêmico do grupo químico neonicotinóide contendo o ingrediente ativo (i.a.) Tiametoxam (do inglês, *Thiamethoxam* - THX) (CASTRO, 2006).

Alguns artigos descrevem que defensivos agrícolas que contêm o i.a. THX demonstraram efeitos na qualidade fisiológica de sementes, como aumento do vigor, elevação da taxa fotossintética, síntese de fitomassa, formação de raízes mais profundas e o consequente melhor aproveitamento do potencial produtivo da cultura (ALMEIDA *et al.*, 2012; CASTRO *et al.*, 2008). Porém, ainda não são de pleno conhecimento os efeitos provocados na qualidade fisiológica de sementes por esses produtos durante o ciclo de vida da planta, sendo necessária a verificação do seu

potencial uso na agricultura (MACEDO; CASTRO, 2011; MACEDO, 2012). Assim, ao tratar as sementes com produtos químicos, como i.a. THX, os testes que avaliam a qualidade fisiológica das sementes tornam-se ainda mais importantes para compreender os efeitos das moléculas químicas na redução dos patógenos e verificar o impacto causado por este tratamento na qualidade fisiológica das plantas e/ou sementes (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Diante desse cenário, neste trabalho, são apresentados os resultados do estudo da associação das técnicas alternativas com as técnicas tradicionais para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes tratadas com o i.a. THX. Com o objetivo de analisar o pressuposto, sementes de trigo foram tratadas com diferentes doses do produto comercial (P.C.) Cruiser[®] 350 FS (Suspensão Concentrada para Tratamento de Sementes) contendo o i.a. THX avaliando a qualidade fisiológica dessas sementes com e sem tratamento. Nas Regras de Análises de Sementes (RAS) são descritos métodos para avaliar a qualidade fisiológica das sementes, como o teste de germinação (fisiológico), o teste de tetrazólio (bioquímico), o teste de envelhecimento acelerado (resistência/físico) e os testes baseados no desempenho ou características de plântulas (BRASIL, 2009a; MARCOS FILHO, 2005, p. 459 - 486). Esses testes podem consumir grandes períodos de tempo, podem ser trabalhosos e produzir resultados mais variáveis que os desejados (MARCOS FILHO, 2005, p. 484; WIJEWARDANA; REDDY; BELLALLOUI, 2018), como é o caso do teste de germinação, que devido ao tempo mínimo de oito dias requerido para a análise das sementes de trigo possibilita o aparecimento de fungos podendo interferir nos resultados (AMARAL; PESKE, 2000).

Neste contexto, as técnicas óticas de emissão de fótons ultrafraca (do inglês, *Ultra-Weak Photon Emission* - UWPE) e de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (do inglês, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* - FTIR), operando no modo reflexão total atenuada (do inglês, *Attenuated Total Reflectance* - ATR) exibem potencial para avaliar a qualidade fisiológica das sementes, pois tecnologias rápidas, de baixo custo e robustas são necessárias à agricultura (FAN; MA; WU, 2020). A técnica UWPE possibilita a análise do vigor (YU; WANG, 2010; WANG; YU, 2009). Já a FTIR - ATR fornece informações sobre os compostos orgânicos (CALABRÒ; MAGAZÙ, 2016, p.2) permitindo diferenciar espécies da mesma semente e pode ser aplicada no processo de avaliação da qualidade de

sementes (SUCHOWILSKA *et al.*, 2012). Como vantagens, as técnicas óticas proporcionam rapidez e não são invasivas.

Portanto, neste trabalho são apresentadas técnicas alternativas e complementares para a análise da qualidade fisiológica de sementes de trigo tratadas com diferentes doses do P.C. contendo i.a. THX avaliando suas diferenças no perfil temporal das UWPEs, nos seus componentes moleculares e parâmetros fisiológicos, em relação às sementes sem tratamento (grupo controle).

1.1 Estado da arte

Nesta seção serão descritas algumas pesquisas já realizadas relacionadas às técnicas abordadas neste trabalho. Além disso, serão apresentadas pesquisas relacionadas ao uso do tratamento de sementes com as doses do P.C. contendo i.a. THX para cada 100 kg de sementes.

Com o objetivo de sintetizar, a frase “dose (s) do P.C. contendo i.a. THX para cada 100 kg sementes” será usada no decorrer do texto como “dose (s) do i.a. THX”.

1.1.1 Emissão de fótons ultrafraca

Na subseção 2.3 a UWPE será descrita e caracterizada, mas em relação aos estudos com o objetivo de aplicar a UWPE em medições na agricultura eles têm sido desenvolvidos desde os anos 1990.

Com esses estudos foram desenvolvidas técnicas empregando a UWPE para medir de forma não destrutiva as respostas das plantas em funções de agentes externos. Alguns dos estudos desenvolvidos encontraram respostas das plantas a fungos, hormônios vegetais, mudanças de temperatura e a herbicidas (KATO *et al.*, 2014).

Em 2007, Gallep e Santos estudaram as fotocontagens durante a germinação das sementes de trigo embebidas em diferentes soluções. Essas soluções com diferentes concentrações foram produzidas com sedimentos obtidos durante o tratamento de esgoto doméstico. Naquele trabalho, foi observado que a intensidade da UWPE, bem como seu aumento ao longo de um período de tempo, está relacionada com o crescimento das plântulas. Os perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs são modificados com as diferentes concentrações das

soluções empregadas para irrigar as sementes. Algumas concentrações de esgoto resultaram em perfis temporais das UWPEs maiores do que os perfis associados à germinação das sementes do grupo controle. As plantas com maior desenvolvimento resultaram em uma UWPE maior do que a encontrada em organismos com maiores concentrações da solução (mais estressadas). Com esse estudo, os autores concluíram que os dados das fotocontagens podem ser empregados como uma ferramenta para investigar a germinação de sementes submetidas às diferentes condições ambientais (GALLEP; SANTOS, 2007).

Em 2009, Xie investigou a luminescência retardada (do inglês, *Delayed Luminescence* - DL) que é um tipo da UWPE estimulada por uma excitação luminosa, peso seco e fresco das folhas e as espécies reativas de oxigênio (EROs) de plântulas de milho em várias concentrações de cloreto de sódio (NaCl). Através da metodologia aplicada, o autor encontrou que as EROs aumentaram significativamente com o aumento das concentrações de NaCl usadas (0, 100, 150 e 200 mmol/L), bem como a lesão no milho. Além disso, a intensidade da DL diminuiu gradualmente e a taxa de atenuação foi mais rápida com o aumento das concentrações de NaCl. Com isso, a UWPE pode refletir com precisão os estados fisiológicos das plantas, podendo ser usado como uma ferramenta para estudar a resposta das plantas ao estresse salino (XIE, 2009).

Os autores Wang e Yu, em 2009 e 2010, estudaram a relação entre a intensidade da UWPE e o nível de vigor de sementes com cascas irradiadas com diferentes doses de radiação gama, e a intensidade da UWPE da farinha dessas sementes com a dose de radiação aplicada. Primeiramente, eles realizaram testes de germinação padrão em sementes sem e com diferentes tempos de armazenamento. Após isso, os autores confirmaram que a intensidade da UWPE é diferente para as diferentes doses de irradiação aplicada e tempo de armazenamento. Com o aumento do tempo de armazenamento, a porcentagem de germinação e a intensidade da UWPE para as sementes não irradiadas diminuem. Assim, os autores acreditam que a análise da intensidade da UWPE pode ser usada para distinguir a diferença no nível de vigor de sementes de trigo e arroz (YU; WANG, 2010; WANG; YU, 2009).

Moraes *et al.* (2010) realizaram um trabalho envolvendo emissão espontânea de luz com plântulas de trigo. Eles utilizaram o estressor dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) e as fotocontagens foram medidas em uma câmara escura, com posterior determinação do desempenho da germinação. Através da pesquisa, eles concluíram

que o estresse químico causado pelo $K_2Cr_2O_7$, mesmo sendo um forte oxidante, pode ser neutralizado pelo metabolismo das plantas até um determinado limite de concentração, a partir do qual começa uma ação deletéria no desenvolvimento do gérmen provocando a redução no comprimento das raízes e/ou taxa de germinação total. Além disso, com o aumento da concentração de $K_2Cr_2O_7$ as fotocontagens diminuíram no decorrer do tempo quando comparadas ao grupo de controle (MORAES *et al.*, 2010).

Bertogna *et al.* (2013) estudaram os padrões das UWPEs em testes de germinação de trigo em estado de estresse químico por soluções de mercúrio (Hg) e fluoreto de sódio (NaF). Verificaram que as séries de amostras com as soluções de Hg e NaF apresentam padrões distintos quando comparadas ao grupo controle. Os pesquisadores concluíram que as sementes irrigadas com as soluções químicas apresentaram menor desenvolvimento e maiores fotocontagens comparadas às sementes empregadas nos testes de controle, pois nesse trabalho após um período de germinação as sementes foram embebidas com a solução (Hg ou NaF) e esse fato revelou que o estresse oxidativo é rapidamente induzido após a embebição, onde as plântulas já estão bem desenvolvidas e podem reagir contra agentes tóxicos (BERTOGNA *et al.*, 2013).

Gallep (2014) afirmou que foram realizados testes exibindo a correlação entre as UWPEs e o desenvolvimento da raiz. A taxa de germinação total é diretamente associada à intensidade das emissões e os hormônios empregados para estimular e inibir o desenvolvimento das sementes alteram o perfil temporal e a intensidade média das UWPEs (GALLEP, 2014).

Os pesquisadores Rafieiolhosseini *et al.* (2016) utilizaram plântulas de feijão e analisaram as propriedades estatísticas do padrão das UWPEs durante o crescimento em duas diferentes situações. Na primeira delas, as sementes foram embebidas com água pura e na outra situação foram expostas à sacarose a 1 %. Como resultado, o ganho total do comprimento e peso das plântulas não foi afetado pela introdução da sacarose, porém a UWPE exibiu uma pequena diminuição estatisticamente significativa quando comparada ao grupo controle. Além disso, os valores médios das UWPEs aumentaram durante o crescimento das plântulas. Assim, os autores acreditam que as UWPEs podem ser exploradas para analisar o metabolismo oxidativo durante o desenvolvimento e crescimento das plântulas em tempo real,

demandando baixa operação e com potenciais aplicações na agricultura (RAFIEIOLHOSSEINI *et al.*, 2016).

A germinação de dois lotes (lote A e lote B) da mesma cultivar de sementes de melancia foi avaliada pela técnica UWPE por Grasso *et al.* (2018). Nesse trabalho, os autores empregaram a espectroscopia da DL correlacionando seus resultados com a porcentagem de germinação das sementes. O lote A apresentou maior porcentagem de sementes germinadas do que as sementes do lote B pelos ensaios não óticos aplicados. Para os resultados da DL, as sementes com maior porcentagem de germinação apresentaram maior DL em 550 nm e as do lote B apresentaram maior DL em 650 nm. Os autores também encontraram uma correlação entre a porcentagem de germinação e a velocidade de decaimento da DL. Portanto, os autores descrevem que o método pode ser empregado para analisar rapidamente a viabilidade de sementes e promover medições do nível de vigor facilitando a seleção de sementes (GRASSO *et al.*, 2018).

Gallep e Robert (2020) analisaram parâmetros de germinação usando sementes individuais de feijão, milho e trigo através da técnica da UWPE. Ao final dos testes, os autores mediram os comprimentos das partes aéreas das plântulas (CPA) e das raízes primárias (CR) de cada uma das amostras e relacionaram esses resultados aos perfis temporais individuais das fotocontagens. Como resultado, os autores descrevem que os dados da UWPE podem ser relacionados aos desenvolvimentos das plântulas germinadas das sementes analisadas e que há uma relação direta entre o crescimento das plântulas e as UWPEs (GALLEP; ROBERT, 2020).

Apesar das inúmeras pesquisas ainda não se encontrou a relevância fisiológica das UWPEs, mas há evidências experimentais que essa técnica pode ser empregada como ferramenta diagnóstica não invasiva para monitoramento de processos na agricultura, como efeitos de estresse abióticos e bióticos nas plantas (POSPÍŠIL, 2014). Portanto, a UWPE pode ser utilizada para avaliar a qualidade de sementes, sendo uma técnica que utiliza equipamentos não complexos, podendo exibir resultados em tempo real, ser não invasiva e não destrutiva (NEMATOLLAHI *et al.*, 2020).

1.1.2 Análise do Tiametoxam aplicado no tratamento de sementes através de ensaios não óticos

Um dos trabalhos encontrados na literatura abordando o uso do THX em trigo é o de Macedo e Castro (2011). Nesse trabalho, os autores investigaram os efeitos fisiológicos gerados pelo i.a. THX durante o ciclo de vida da planta de trigo. Eles empregaram as doses 0, 8,75, 17,5, 35 e 70 g de i.a. para cada 100 kg de sementes. As avaliações foram realizadas através de algumas análises, dentre elas: porcentagem de emergência, altura, massas secas (MS) da parte aérea da plântula, CR, área e volume da raiz e conteúdo de clorofila. Ao final dos testes, eles concluíram que o uso do produto no tratamento das sementes influenciou o crescimento inicial das plantas e induziu um aumento linear no desenvolvimento da raiz (MACEDO; CASTRO, 2011).

Há outras sementes que passam por tratamentos químicos nos estágios iniciais para garantir a proteção da lavoura. Dentre elas, podem-se citar as sementes de soja, arroz e milho.

Em relação à soja, o trabalho desenvolvido por Dan *et al.* (2012) avaliou o efeito do tratamento de sementes com inseticidas na germinação e vigor das sementes. As sementes foram divididas em sete grupos de diferentes tratamentos. Um desses grupos é o de sementes tratadas com a dose de 0,175 kg do P.C. (Cruiser® 700 WS) do i.a. THX. As variáveis analisadas foram porcentagem de germinação, índice de velocidade de emergência (IVE), CR, comprimentos totais das plântulas (CTP) e porcentagem das plântulas normais no teste de envelhecimento acelerado. Os resultados indicaram que a porcentagem de germinação das sementes tratadas com o inseticida tem resultados semelhantes aos encontrados para o grupo controle. Além disso, no nível de vigor determinado pelo IVE, não foram encontradas diferenças significativas entre o grupo tratado com o inseticida contendo i.a. THX e o grupo controle. Ademais, o CR e CTP das sementes tratadas com i.a. THX também não são diferenciáveis dos resultados encontrados para o grupo controle. Assim, os resultados inferem que o i.a. THX não interfere no desenvolvimento inicial das plantas (DAN *et al.*, 2012).

Almeida *et al.* (2014) estudaram a influência do i.a. THX na qualidade fisiológica das sementes de arroz submetidas ao armazenamento. Duas cultivares de arroz foram tratadas com as doses de 100, 200, 300, 400 e 500 g do i.a. THX. Os

testes de germinação, de frio, de envelhecimento acelerado e de emergência em casa de germinação foram realizados logo após o tratamento e depois de 3, 6, 9 e 12 meses de armazenamento. Como resultado, os autores apresentaram que o i.a. THX produziu efeito positivo na porcentagem de germinação e no nível de vigor das sementes tratadas quando comparado ao grupo controle antes do armazenamento. Além disso, o armazenamento influencia negativamente a qualidade fisiológica das sementes de arroz (ALMEIDA *et al.*, 2014).

Ferreira *et al.* (2016) estudaram os efeitos na qualidade de sementes de soja submetidas ao tratamento com fungicidas e inseticidas antes e após o armazenamento das sementes. O estudo avaliou seis combinações de fungicidas e inseticidas. Dentre essas combinações estão: Cruiser[®] (2,5 mL para cada kg) + Derosal Plus[®] (2 mL para cada kg) e Cruiser[®] (2,5 mL para cada kg) + Maxim xl[®] (1 mL para cada kg). Para a avaliação da qualidade das sementes foram empregados o teste de germinação, emergência das plântulas, envelhecimento acelerado, de frio e sanidade. Os resultados dos testes com os grupos tratados com as combinações do i.a. THX mostraram que a qualidade fisiológica da semente de soja não é afetada quando são tratadas e avaliadas e quando o tratamento ocorre 2 meses após o armazenamento (FERREIRA *et al.*, 2016).

Oliveira *et al.* (2020) estudaram as alterações bioquímicas e na qualidade fisiológica de sementes de milho submetidas aos diferentes tratamentos químicos e tempos de armazenamento. Assim, duas cultivares de sementes de milho híbridas foram submetidas às várias combinações de tratamento, sendo uma delas o padrão (composto por 17% de carbendazim) + THX (dose de 210 g do i.a. THX). Além disso, as sementes foram armazenadas por diferentes períodos de tempo: 0, 3, 6 e 9 meses. Para a avaliação da qualidade fisiológica foram empregados o teste de germinação, teste de frio sem solo e o teste de sanidade. Como um dos resultados obtidos, as sementes híbridas tratadas com o i.a. THX apresentaram redução na primeira contagem de germinação (PCG) após 3 meses e 6 meses de armazenamento. Nesse trabalho, os autores mencionam que a variação da qualidade fisiológica das sementes de milho depende do tipo de produto químico utilizado, do tempo de armazenamento e do tipo da cultivar (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

1.1.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

A técnica FTIR foi por um tempo empregada exclusivamente em análises de materiais na indústria química, porém atualmente a técnica também tem sido aplicada em análises biológicas e biomédicas (ALAWAN, 2014).

Na agricultura, especificamente em sementes, há grande necessidade de encontrar metodologias que sejam capazes de aprimorar ou até mesmo substituir as técnicas que são aplicadas rotineiramente. Assim, a FTIR é uma das técnicas que podem ser empregadas na análise da qualidade de sementes.

Um dos exemplos encontrados na literatura é o trabalho de Amir *et al.* (2011) na qual a FTIR foi utilizada para a identificação das variedades de trigo. A técnica FTIR permitiu visualizar a composição química de diferentes variedades. Nesse estudo, observou-se que as diferentes variedades estudadas apresentam diferenças com base em suas propriedades físicas e parâmetros químicos que podem ser avaliadas através dos espectros resultantes da técnica. Os autores observaram mudanças nos níveis das proteínas, dos lipídios e do amido nas diferentes variedades da espécie através das mudanças de intensidades das bandas de absorção determinadas para cada macromolécula. Esses resultados foram corroborados com a aplicação de técnica padrão de análise de composição química de sementes (AMIR *et al.*, 2011).

Em 2015, Demir, Onde e Servercan aplicaram a FTIR - ATR com o objetivo de entender a relação filogenética entre as espécies de trigo *Triticum* e *Aegilops*. Assim, foram realizadas análises em 70 amostras pertencentes a quatro espécies de *Triticum* e a oito espécies de *Aegilops*. A análise de agrupamento hierárquico (do inglês, *Hierarchical Cluster Analysis* - HCA) de cluster e a análise dos componentes principais (do inglês, *Principal Component Analysis* - PCA) que são métodos de classificação não supervisionados revelaram que através da banda de lignina (centrada em 1514 cm^{-1}) é possível discriminar as espécies de trigo *Triticum* e *Aegilops*. Por fim, o método foi considerado sensível, rápido e de baixo custo capaz de discriminar em nível de gênero e espécie sementes de trigo (DEMIR; ONDE; SERVERCAN, 2015).

Pedersen *et al.* (2017) explicam que os fungicidas e os reguladores de crescimento podem apresentar alterações no crescimento das plantas, além dos seus efeitos em patógenos. Naquele trabalho, foi avaliada a capacidade da técnica de espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (do inglês,

Fourier Transform Mid Infrared Spectroscopy - FTMIR) para observar alterações que ocorrem nos componentes mitocondriais quando as sementes são tratadas com agroquímicos. As amostras de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.) foram tratadas com sete fungicidas diferentes e um regulador de crescimento vegetal. Através dos resultados, os autores descrevem que diferenças significativas foram encontradas nos espectros de FTMIR dos tratamentos de Amisulbrom e Piraclostrobina em relação ao grupo controle. O estudo contemplou também a análise através da HCA, onde se verificou a classificação dos diferentes clusters foi consistente com a inibição da respiração mitocondrial. Por fim, os autores descrevem que dados biológicos podem ser extraídos dos espectros e a técnica FTMIR pode ser aplicada para entender os efeitos biológicos de produtos químicos no crescimento das plantas (PEDERSEN *et al.*, 2017).

Czekus *et al.* (2019) investigaram as microestruturas de frutos e sementes de dois genótipos de quinoa e determinaram a composição qualitativa de sementes inteiras através das técnicas espectroscópicas complementares, a FTIR e a Raman. Além das duas técnicas espectroscópicas, foi analisado o nível de proteínas e amido por métodos não óticos. Assim, a técnica FTIR não revelou diferenças na composição bioquímica entre os dois genótipos, tal resultado é semelhante à análise das proteínas brutas e do nível de amido. Além disso, os autores descrevem que a espectroscopia Raman é um método que pode ser usado para diferenciar genótipos de sementes de quinoa (CZEKUS *et al.*, 2019).

Larios *et al.* (2020b) apresentaram a técnica FTIR - ATR associada aos métodos quimiométricos para distinguir o nível de vigor de sementes de soja (*Glycine max* L.). Para obter os resultados, os autores utilizaram dois lotes de sementes de soja com diferentes níveis de vigor. Naquele trabalho, foram realizados os testes descritos na literatura como teste padrão para identificar os níveis de vigor de cada um dos lotes da mesma cultivar e os resultados mostraram que os dois lotes de sementes possuem níveis diferentes de vigor. Os espectros médios brutos das 40 amostras (20 amostras de cada nível de vigor), com sua dimensionalidade reduzida através da análise multivariada pela técnica PCA, foram analisados com alguns algoritmos de aprendizado e, com isso, foi possível diferenciar os lotes de sementes. Por fim, os autores acreditam que a técnica FTIR associada aos métodos quimiométricos é uma das alternativas para diferenciar os lotes com diferentes níveis de vigor (LARIOS *et al.*, 2000b).

1.2 Objetivos

Nesta seção serão descritos o objetivo geral e os objetivos específicos do trabalho.

1.2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar os efeitos na qualidade fisiológica de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.) submetidas às diferentes doses de tratamento do P.C. contendo i.a. THX mediante a associação dos testes padrão (técnicas tradicionais de laboratório), emissões de fótons ultrafracas e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier.

1.2.2 Objetivos específicos

- Analisar os perfis temporais das fotocontagens associados às emissões de fótons ultrafracas referente à germinação, os espectros obtidos através da técnica de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e os resultados obtidos pelos testes padrão das amostras de sementes de trigo.
- Avaliar o uso das técnicas óticas em sementes de trigo com diferentes níveis de vigor.
- Correlacionar os resultados obtidos pelas técnicas óticas com os resultados dos testes padrão.
- Avaliar a possibilidade de uso das técnicas óticas para a análise da qualidade fisiológica de sementes de trigo.

1.3 Estrutura do trabalho

Este trabalho está estruturado em cinco capítulos.

- O primeiro capítulo contém as considerações iniciais, o estado da arte e o objetivo geral e objetivos específicos deste trabalho;

- No segundo capítulo é apresentada a fundamentação teórica descrevendo as estruturas das sementes de trigo, a composição química das sementes de trigo, o processo de germinação e a qualidade das sementes. Também é descrito o inseticida THX e as técnicas: emissão de fótons ultrafraca; espectroscopia de absorção na região do ultravioleta (UV) até a região do espectro visível (Vis); ensaios não óticos; e a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier;
- No terceiro capítulo são apresentados os métodos e os instrumentos empregados para os ensaios com sementes de trigo;
- O quarto capítulo apresenta os resultados e as discussões das técnicas de emissão de fótons ultrafraca, de espectroscopia de absorção na região do UV-Vis, dos ensaios não óticos e de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier descrevendo seus resultados com foco na qualidade fisiológica das sementes de trigo;
- No quinto capítulo são dispostas as conclusões finais.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

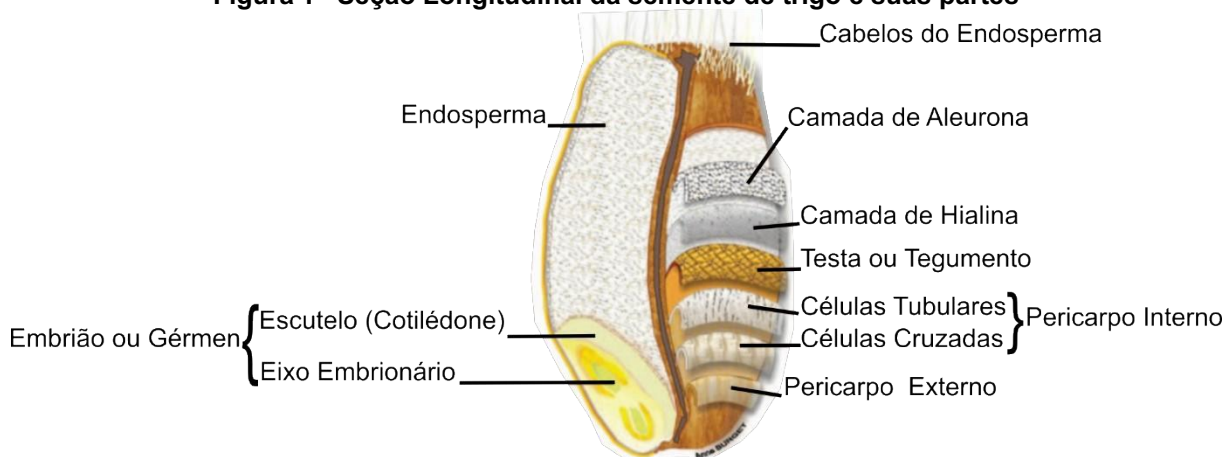
Neste capítulo serão descritas informações sobre as sementes de trigo, incluindo informações sobre a estrutura, composição molecular, processo de germinação e qualidade de semente, seguido por considerações sobre o i.a. THX. Além disso, serão abordadas as técnicas: UWPE, espectroscopia de absorção na região do UV - Vis, FTIR e ensaios não óticos.

2.1 Sementes de trigo

Tendo em vista que, as análises deste trabalho são realizadas em sementes de trigo, fazem-se necessárias algumas informações sobre elas, como as que serão apresentadas a seguir.

A semente de trigo tem sua classificação científica no reino: *Plantae*; divisão: angiosperma (*Magnoliophyta*); classe: monotiledônea (*Liliopsida*); ordem: *Poales*; família: *Poaceae* (Antiga nomenclatura *Gramineae*); e gênero: *Triticum* (DEMIR; ONDE; SERVERCAN, 2015; REIS, 2018). As principais espécies de cultivo são *Triticum monococcum* L., *Triticum durum* L. e *Triticum aestivum* L. (CONAB, 2017, p. 148).

Figura 1 - Seção Longitudinal da semente de trigo e suas partes

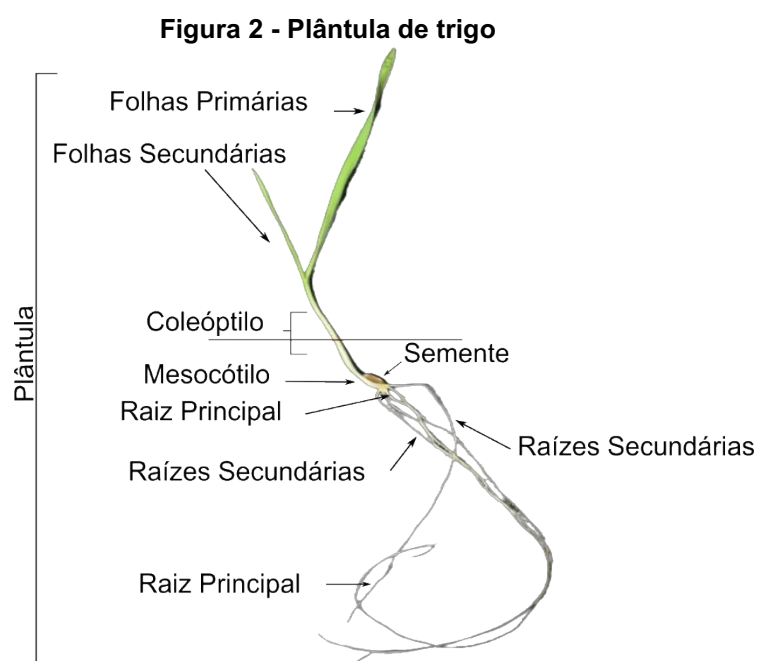


Fonte: Adaptado de Surget e Barron (2005).

A semente de trigo, assim como os outros membros da sua família, é uma cariopse ou grão de forma oval e arredondada nas extremidades (CONAB, 2017, p.18; MIRANDA, 2006). Ela é constituída de quatro partes principais que possuem funções diferentes quanto ao aspecto da qualidade de sementes. O pericarpo e o tegumento

(ou testa), localizado mais externamente, têm a função de proteger as estruturas internas. Já a camada de aleurona concentra proteínas e minerais importantes para a síntese de enzimas que iniciam o processo germinativo. O endosperma armazena principalmente o amido. No gérmen (ou embrião) estão localizadas as estruturas necessárias para a formação da futura planta (EICHELBERGER, 2011), conforme pode ser observado na Figura 1.

Uma plântula de trigo é formada, após a germinação da semente. O conjunto das folhas primárias, coleóptilo e mesocótilo formam a parte aérea da plântula e a parte que fica abaixo do solo são as raízes secundárias e a radícula (raiz principal) que formam a parte das raízes das plântulas (BRASIL, 2009b, p. 301; MORGENSTERN; ZUNINO, 2020), como pode ser observado na Figura 2.



Fonte: Autoria Própria (2021).

Então, conhecendo a semente e a plântula de trigo, na próxima subseção será discutida a composição molecular das sementes de trigo.

2.1.1 Composição química das sementes de trigo

As sementes apresentam composição química variável (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000, p. 66). As diferentes propriedades de ligação do carbono permitem o surgimento de inúmeras moléculas orgânicas que constituem a composição química das sementes (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007, p.18).

As sementes apresentam dois grupos de componentes químicos. Os que, normalmente, constituem todos os tecidos da planta e aqueles que são substâncias de reserva (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000, p. 66).

A composição química das sementes é determinada pelos fatores genéticos que variam entre as diferentes espécies e por fatores ambientais como: a disponibilidade de água, temperatura, fertilidade do solo e práticas culturais (COPELAND; MCDONALD, 2001, p. 41).

Nas sementes as principais substâncias de reservas armazenadas são os carboidratos, as proteínas e os lipídios (MARCOS FILHO, 2005, p. 150).

Com base no tipo predominante de molécula armazenada nas sementes de trigo, elas são classificadas como amiláceas, pois a sua principal reserva é o amido. A proporção das reservas armazenadas do trigo são 75 - 82 % de carboidratos, 12 - 14 % de proteínas, 2 % de lipídios e 2 a 13 % outros (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000, p. 67; CONAB, 2017, p.19; MARCOS FILHO, 2005, p. 150 - 151).

Os hidratos de carbono são os componentes quantitativos mais importantes nos cereais (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000, p. 74). Os carboidratos são constituídos por açúcares e cadeias de açúcares (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007, p.18). Eles contêm hidrogênio e oxigênio na mesma proporção que a água, sendo representado pela fórmula geral CH_2O_n . São divididos em três grupos: monossacarídeos (representado pela glicose, frutose, levulose e galactose), oligossacarídeos (representado pela sacarose e maltose) e polissacarídeos (representado pelo amido, hemicelulose e celulose). Sua principal função é o fornecimento de energia para induzir o desenvolvimento do gérmen durante a fase de germinação (MARCOS FILHO, 2005, p. 151 - 152), porém é necessário que os polissacarídeos sejam hidrolisados a monossacarídeos e dissacarídeos para promover o crescimento e desenvolvimento da planta. Além disso, os polissacarídeos, como a celulose, são componentes estruturais da planta (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007, p.19).

De maneira geral, os açúcares representam uma pequena porcentagem entre os carboidratos que constituem as sementes de trigo. Já o amido constitui aproximadamente 65 % da semente de trigo e 79 % do seu endosperma. Ele é um polímero de glicose e pode ser encontrado de duas formas: amilose e amilopectina. Sendo que, 25 % do amido encontrado no trigo é amilose e os outros 75 % são amilopectina (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000, p. 74).

A celulose, que é também um polímero de glicose, é o principal constituinte das paredes celulares das sementes. Ainda há outro polissacarídeo que não pertence ao grupo do amido e é insolúvel em água, a hemicelulose, que faz parte da constituição química das sementes de trigo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000, p.75).

Os lipídios (gorduras e óleos) são conhecidos por glicerídeos, especificamente triglicerídeos. Apresentam em sua composição apenas átomos de carbono (C), hidrogênio (H) e oxigênio (O). Sua principal função é fornecer energia, que foi armazenada em forma de gordura e óleos, para a retomada de desenvolvimento do gérmen durante a fase de germinação e são constituintes das estruturas das plantas (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007, p.21; MARCOS FILHO, 2005, p. 154). Há também nas sementes de trigo outros tipos de lipídios, como os fosfolipídios. Dentre os fosfolipídios, a fosfatidilcolina (lecitina) representa 45,4 % do total de 0,4 % de fosfolipídios do trigo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000, p.77).

As proteínas são macromoléculas nitrogenadas de tamanho considerável e estrutura complexa, constituídas pela combinação de aminoácidos, em proporções variadas, ou de outra forma, são polipeptídios de cadeia longa resultado da união de centenas de aminoácidos (OLIVEIRA, 2015). Os aminoácidos são substâncias orgânicas com moléculas compostas por um grupo amina (NH_2) e um radical ácido ou carboxila (-COOH). As sementes de trigo acumulam quantidade significativa de proteínas. A função das proteínas é estrutural, nutritiva ou enzimática, participando da estrutura dos tecidos, liberando aminoácidos usados como substratos para a respiração e monitorando reações químicas, respectivamente. Além disso, algumas atuam no mecanismo de transporte, defesa ou como reguladoras de processos metabólicos (MARCOS FILHO, 2005, p. 156 - 157).

As proteínas nas sementes de trigo são divididas em metabolicamente inativas e metabolicamente ativas. As inativas são utilizadas na formação de novos tecidos durante a germinação e podem ser de quatro classes: albuminas, globulinas, prolaminas (gliadinas) e glutelinas (glutenina). As albuminas e globulinas são solúveis e a gliadina e a glutenina são proteínas de reserva (CONAB, 2017, p.19). Já as metabolicamente ativas são representadas pelas enzimas e pelas nucleoproteínas (ácido desoxirribonucleico (DNA) e ácido ribonucleico (RNA)) (MARCOS FILHO, 2005, p. 157 - 158).

As enzimas são catalisadores orgânicos que influenciam na velocidade das reações químicas, onde sua influência na velocidade é proporcional à sua quantidade

presente. Com base no tipo das reações que as enzimas atuam podem ser classificadas como: hidrolíticas (como, amilases, lipases, proteases e peptidases) e desmolíticas. As enzimas têm natureza proteica e, por isso, as atividades são afetadas pela concentração do substrato, temperatura, pH e presença de inibidores (MARCOS FILHO, 2005, p. 222 - 223). As nucleoproteínas participam da síntese de proteínas e são responsáveis pela estrutura e funcionamento dos cromossomos (MARCOS FILHO, 2005, p. 158). Além dessas proteínas, as fitohemaglutininas (lectinas) estão presentes nas sementes de trigo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000, p. 86).

As principais substâncias de reserva armazenadas nas sementes precisam ser simplificadas para que ocorra o transporte entre a região de reserva e os pontos de crescimento embrionário (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000, p. 132). Dessa forma, ocorre a digestão das reservas que é caracterizado pelo processo de hidrólise das reservas e sua transformação em substâncias solúveis e difusíveis no controle enzimático (MARCOS FILHO, 2005, p. 222).

Nas fases I e II do processo de germinação (que será abordado na subseção 2.1.2) com o progresso da hidratação das células, as enzimas são sintetizadas e ativadas. Com isso, as substâncias de reserva armazenadas no endosperma são decompostas e os produtos solúveis desse processo são translocados para o embrião (MARCOS FILHO, 2005, p. 223). As principais enzimas hidrolíticas envolvidas no processo de germinação e seus produtos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Principais enzimas hidrolíticas envolvidas na mobilização nutricional das sementes

Substância de Reserva	Enzimas	Produtos da Hidrólise
Amido	Amilases	Maltose, Glicose
	Maltase	Glicose
	Fosforilase	Glicose-1-fosfato
Hemicelulose	Citases	Hexoses, pentoses
Lipídios	Lipases	Ácidos graxos e glicerol
Proteínas	Proteases	Aminoácidos, peptídeos
	Peptidases	Aminoácidos
Fitina	Fitase	Fosfato inorgânico e inositol
RNA	Ribonuclease	Ribonucleotídeos
Celulose	Celulase	Celobiase
	Celobiose	Glicose

Fonte: Adaptado de Marcos Filho (2005, p. 224).

Durante a germinação, os carboidratos de reserva, principalmente o amido, são transformados em glicídios, com a ação da amilase. Enquanto as proteínas são convertidas em aminoácidos e peptídeos pela atividade da protease. Já as lipases hidrolisam os triglicerídeos, originando hidratos de carbono solúveis, glicerol e ácidos

graxos. Nas últimas fases de germinação, os hidratos de carbono solúveis não estão presentes na mesma quantidade que o amido ou a outros hidratos de carbono de reserva, pois esses são consumidos durante a respiração ou assimilados na formação de hidratos de carbono que constituem as paredes celulares (MARCOS FILHO, 2005, p. 223).

Os produtos finais de carboidratos e de lipídios são sacarose e adenosina trifosfato (ATP) empregados como fonte de energia e para a formação de paredes celulares e protoplasma. As proteínas digeridas são transportadas para os pontos de crescimento do eixo embrionário, onde são utilizadas para a formação de tecidos vivos ou na participação de reação da cadeia respiratória (MARCOS FILHO, 2005, p. 223 - 224).

Há também outros componentes das sementes como as vitaminas, cinzas, amidas e fitohormônios (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000, p. 88-92).

As quantidades dos componentes químicos presentes nas sementes influenciam no vigor e no potencial de armazenamento das sementes (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000, p. 68). Portanto, conhecer o processo de germinação da semente de trigo é importante, pois nesta fase os componentes químicos serão necessários para o desenvolvimento da futura planta. Dessa forma, na próxima subseção será descrito o processo de germinação e suas fases.

2.1.2 Processo de germinação das sementes de trigo

Sob o aspecto botânico e tecnológico, a germinação é o processo que se inicia com a absorção da água pela semente seca. Já no aspecto botânico, o processo finaliza com a emergência do eixo embrionário, geralmente a radícula, transpondo seus tecidos circundantes. Assim, a germinação não inclui o estabelecimento da plântula e a rápida mobilização das reservas estimulando o crescimento inicial da plântula sendo esses considerados processos pós-germinativos. No entanto, sob o aspecto tecnológico é necessário o desenvolvimento da estrutura embrionária e a formação de uma plântula com suas partes constituintes para que seja possível avaliar o potencial de estabelecimento em campo, pois o sucesso da semeadura em campo é um fator importante (MARCOS FILHO, 2005, p. 199; TAIZ *et al.*, 2017, p. 520).

Há dois tipos de germinação caracterizados pela posição dos cotilédones durante o crescimento do caule. Na germinação do tipo epígea, as plântulas erguem

os cotilédones acima da superfície do solo, onde continuam a fornecer o suporte nutritivo, como é o caso das sementes de feijão. Já a germinação hipógea, os cotilédones ou órgãos de armazenamento permanecem no solo, enquanto a plúmula é empurrada e emerge acima do solo, como é o caso das sementes de trigo (COPELAND; MCDONALD, 2001, p.73; TAIZ *et al.*, 2017, p. 526). Além disso, na hipógea a parte aérea é colocada acima do solo, envolta por uma estrutura tubular chamada de coleóptilo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000, p. 137).

Há alguns requisitos para que aconteça a germinação de sementes. Dessa forma, a semente precisa ter alcançado a maturidade fisiológica, água e umidade, oxigênio e temperatura precisam ser adequados e a presença de luz é essencial (COPELAND; MCDONALD, 2001, p.74, 75, 77, 78 e 82).

A grande parte das sementes obedece a uma sequência específica de eventos durante a germinação. Os principais eventos são embebição, ativação enzimática, início do crescimento do embrião, ruptura do tegumento e emergência da plântula (COPELAND; MCDONALD, 2001, p. 89).

Pode-se dividir a germinação, em condições normais, em três etapas que correspondem às fases de absorção de água. Sendo elas:

Fase I: As sementes secas absorvem a água do substrato pelo processo de embebição. A absorção deve-se ao fato de que a água flui do potencial hídrico mais alto para o mais baixo. A reidratação das macromoléculas celulares ativa os processos metabólicos basais, incluindo a respiração, a transcrição e a tradução;

Fase II: A taxa de absorção de água pela embebição e a atividade respiratória declinam. Com isso, ocorrem os processos de digestão, translocação e assimilação das substâncias de reservas. Iniciam-se também funções metabólicas adicionais, como a reestruturação do citoesqueleto e a ativação de mecanismos de reparo do DNA. Além disso, o embrião se expande e a radícula emerge da semente;

Fase III: Na última fase, há uma diferença no gradiente de potencial hídrico entre as sementes e o substrato associado ao crescimento da plântula. Assim, a absorção de água se reinicia. Nessa fase, as reservas de nutrientes das sementes são completamente mobilizadas (MARCOS FILHO, 2005, p. 204 e 229; TAIZ *et al.*, 2017, p. 521).

As condições internas, práticas de manejo durante e após a colheita e fatores ambientais podem afetar a velocidade, a porcentagem e a uniformidade de germinação de sementes (MARCOS FILHO, 2005, p. 231). Dentre os fatores intrínsecos que afetam a germinação, podem-se citar a vitalidade e viabilidade, grau de maturidade, dormência, longevidade (período que a semente pode viver determinado pelo fator genético), genótipo e a sanidade (MARCOS FILHO, 2005, p. 232- 234). Em relação aos fatores ambientais abióticos, podem-se citar a luz, água, oxigênio, temperatura e promotores químicos (MARCOS FILHO, 2005, p. 234 - 249).

O estresse causado por algum desses fatores abióticos, fora de seus limites normais, resulta na acumulação de compostos intermediários que podem ser convertidos em subprodutos tóxicos, sendo que o mais comum do grupo dos intermediários tóxicos produzidos é o das EROs (TAIZ *et al.*, 2017, p.734).

Portanto, a qualidade fisiológica das sementes está intimamente conectada às condições de estresse que a semente é submetida durante o processo de germinação. Assim, a avaliação de sementes tratadas quimicamente é essencial. Com isso, faz-se necessário compreender o que é a qualidade de sementes e como ela pode ser influenciada. Dessa forma, na próxima subseção, será apresentada a sua definição.

2.1.3 Qualidade de sementes

A qualidade de sementes é a interação dos atributos de natureza genética, física, fisiológica e sanitária que determinam o seu valor para semeadura. Assim, o potencial de desempenho das sementes é identificado através da associação desses conjuntos de características (MARCOS FILHO, 2005, p. 430).

Os atributos genéticos das sementes são definidos pelos programas de melhoramento de plantas e envolvem características como: pureza varietal, homogeneidade, potencial de rendimento e qualidade de produto, entre outros (EICHELBERGER, 2011; MUGNOL; EICHELBERGER, 2008).

A qualidade física pronuncia-se pela pureza e pelas condições físicas das sementes como: danos causados mecanicamente ou por insetos, teor de umidade, cor, tamanho e densidade. Pela análise da pureza, realizada em laboratório, são separados, quantificados e identificados todos os componentes do lote (EICHELBERGER, 2011; MUGNOL; EICHELBERGER, 2008). Dessa forma, amostras que possuem qualidade física são sementes com suas integridades físicas mantidas e sem nenhum material inerte e/ou outros tipos de sementes misturadas (MUGNOL; EICHELBERGER, 2008).

O fator sanitário refere-se à presença de espécies de plantas daninhas e de patógenos como: fungos, insetos, bactérias, vírus e nematoides que podem causar danos às sementes ou ainda transmitir esses danos às plantas afetando a produtividade da lavoura (EICHELBERGER, 2011). Com isso, sementes com qualidade sanitária são as sementes que não apresentam nenhum dos fatores citados.

Já o atributo fisiológico abrange as informações sobre a viabilidade e o vigor de sementes (MARCOS FILHO, 2005, p. 431).

A viabilidade está relacionada ao potencial da semente germinar e produzir uma planta considerada normal em condições favoráveis, por isso, muitas vezes, é usada como sinônimo de capacidade de germinação. Além disso, a viabilidade representa o grau em que a semente está viva, metabolicamente ativa e possui enzimas capazes de catalisar as reações metabólicas necessárias para a germinação e o crescimento da planta. A viabilidade de uma semente é mais alta no momento que ela atinge a maturidade fisiológica, ou seja, quando a semente atinge o máximo de massa seca cessando seu acúmulo (COPELAND; MCDONALD, 2001, p. 125; MARCOS FILHO, 2017, p.28).

Comercialmente, a viabilidade de sementes é avaliada pelo teste padrão de germinação (AMARAL; PESKE, 2000). Esse teste avalia o potencial de um lote de germinar em condições padronizadas e favoráveis que não são encontradas pelo agricultor em campo. Mesmo assim, o teste de germinação possui reprodutibilidade e com ele é possível conhecer a porcentagem máxima de germinação de um lote de sementes (COPELAND; MCDONALD, 2001, p. 128 - 137). Devido às condições favoráveis não acontecerem em campo, o teste de germinação pode falhar em fornecer as informações sobre a qualidade fisiológica em campo de um lote de sementes (AMARAL; PESKE, 2000; COPELAND; MCDONALD, 2001, p. 165 - 166). Assim, o teste de germinação não permite a diferenciação do nível de vigor entre os lotes (KRZYZANOWSKI, 1999).

A *International Seed Testing Association* - (ISTA) define vigor como a soma total das propriedades da semente que determinam o nível potencial de atividade e desempenho da semente ou do lote de semente durante a germinação e emergência das plântulas (MARCOS FILHO, 2005, p. 436). Já a *Association of Official Seed Analysts* - (AOSA) define o vigor como um conjunto de propriedades (características) que determinam o potencial para a emergência e desenvolvimento rápidos e uniformes das plântulas normais, em variadas condições de ambiente (AOSA, 1983). Segundo Marcos Filho (2005), o vigor é um parâmetro utilizado para caracterizar a qualidade fisiológica de sementes, indicando os lotes com maior ou menor probabilidade de sucesso após a semeadura em campo ou durante o armazenamento. Diferentemente das informações encontradas na viabilidade de sementes, o vigor proporciona informações em amplas condições de ambiente (MARCOS FILHO, 2005,

p. 436). Assim, os testes de vigor avaliam os níveis de vigor de um grupo de sementes e podem diferenciar lotes com germinação semelhantes (MARCOS FILHO, 2005, p. 469).

Os testes de vigor podem ser realizados por métodos diretos e indiretos. Os testes diretos simulam as condições adversas que podem ocorrer em campo, como o teste de frio. Já os indiretos avaliam os atributos físicos, biológicos e fisiológicos das sementes que indiretamente estão relacionados ao nível de vigor. Como exemplos dos testes indiretos, têm-se: o de tetrazólio (bioquímico), primeira contagem de germinação ou emergência (PCE), velocidade de germinação (IVG) ou IVE, CR, CPA e MS (todos fisiológicos baseados no desempenho das plântulas, em condições favoráveis). Além disso, tem-se o teste de envelhecimento acelerado (fisiológicos, em condições de resistência) (CARVALHO, NAKAGAWA, 2000, p. 237 - 238).

Na maturidade, a semente alcança a máxima qualidade fisiológica, ou seja, tem maior potencial para a germinação e maior nível de vigor (COPELAND; MCDONALD, 2001, p. 169). Condições ambientais severas durante a maturação podem influenciar negativamente no vigor das sementes. Além disso, outros fatores podem influenciar, destacando-se: as condições climáticas durante a geração das sementes e da planta-mãe, fatores genéticos, a nutrição da planta-mãe, a época e o manejo durante e após a colheita, danos mecânicos ocasionados nas sementes, operações de secagem e beneficiamento, forma de embalagem e o período, condições ambientais no decorrer do armazenamento, densidade, tamanho e a idade da semente, baixas temperaturas durante a embebição, ocorrência de insetos e microrganismos nocivos, fertilidade do solo e tratamento químico (CARVALHO, NAKAGAWA, 2000, p. 227 - 237; KRZYZANOWSKI, 1999; MARCOS FILHO, 2005, p.438 - 440; MARCOS FILHO, 2013).

Os atributos genéticos, físicos, sanitários e fisiológicos que constituem a qualidade de sementes têm importância equivalente (MARCOS FILHO, 2005, p. 431). Assim, a associação dos quatro atributos que constituem a qualidade de sementes abrange fatores primordiais para a alta produtividade da triticultura, porém o atributo fisiológico é o fator que tem ganhado maior interesse, pois ele está relacionado à capacidade da semente de desempenhar suas funções vitais, reunindo as informações sobre a germinação, a emergência rápida e uniforme das plântulas e a longevidade. Assim, a utilização de sementes de alta qualidade fisiológica permite o

estabelecimento da densidade do plantio que é a base para a obtenção da alta produtividade da lavoura (MARCOS FILHO, 2013).

A aquisição e o uso de lotes de sementes com níveis de vigor baixos apresentam reduções na velocidade e na porcentagem de emergência das plântulas podendo provocar problemas durante o desenvolvimento das plantas e perda de produtividade (ABATI, 2018; MARCOS FILHO, 2013).

A importância do estabelecimento rápido e uniforme da densidade de plantio exige que a avaliação laboratorial da qualidade fisiológica permita a identificação de lotes de sementes com maior probabilidade de se estabelecer em campo ou durante o armazenamento (MARCOS FILHO, 2005, p. 431 - 432; MARCOS FILHO, 2013).

Sabendo que, a qualidade fisiológica das sementes pode sofrer influência dos tratamentos químicos aos quais as sementes possam ser submetidas, faz-se necessário o conhecimento das características do inseticida empregado neste trabalho.

2.2 Inseticida com ingrediente ativo Tiametoxam

Os estágios iniciais de desempenho da cultura no campo, muitas vezes, são afetados pela presença de microrganismos e insetos. Então, as sementes são tratadas com agroquímicos que conferem às sementes e às plântulas proteção contra as pragas e doenças, porém o uso desses defensivos pode afetar a qualidade fisiológica das sementes, como é o dos agroquímicos de controle hormonal (CASTRO *et al.*, 2008; MACEDO; CASTRO, 2011; MARCOS FILHO, 2005, p.439).

Dentre os defensivos agrícolas de controle hormonal há o subgrupo dos bioativadores, onde se encontra o inseticida sistêmico do grupo químico neonicotinóide contendo o i.a. THX (CASTRO, 2006). O THX é o primeiro representante dos neonicotinóides da segunda geração e é comercializado desde 1998. Esse inseticida pode ser utilizado em pulverização sobre as folhas ou no tratamento de sementes. O tratamento de sementes é uma ferramenta estratégica para controlar as pragas iniciais que podem reduzir a produtividade da lavoura e a população inicial de plantas. As doses utilizadas são baixas e possuem amplo espectro de ação em insetos e pragas e segurança ambiental favorável (CARVALHO; PERLIN; COSTA, 2011).

Segundo a literatura e o fabricante, além do controle de pragas, essa substância pode possuir propriedades bioativadoras (CARVALHO; PERLIN; COSTA, 2011; SYNGENTA, 2019). Os bioativadores são substâncias orgânicas complexas que são capazes de alterar o crescimento das plantas (CASTRO, 2006). Há evidências que eles podem atuar em fatores de transcrição da planta e na expressão gênica que atua em proteínas transportadoras das membranas celulares, implicando em um maior transporte iônico, incrementando a nutrição mineral da planta. Além disso, pode atuar em enzimas metabólicas que podem afetar o metabolismo primário e secundário que implicam nas sínteses de aminoácidos precursores de novas proteínas (CARVALHO; PERLIN; COSTA, 2011; CASTRO, 2006).

Figura 3 - Representação esquemática do mecanismo de ação do i.a. THX na produtividade



Em relação à produtividade, nas plantas, os bioativadores, em especial o THX, podem induzir a maior atividade enzimática nas sementes e nas plantas submetidas ao tratamento com a substância. Com isso, há o aumento do teor de alguns hormônios vegetais. Esses hormônios induzem a maior taxa de germinação e conseqüentemente promovem o maior desenvolvimento radicular, indicando maior nível de vigor das plântulas. Devido ao maior desenvolvimento do sistema radicular, há o aumento do teor de citocinas, melhor absorção de água e nutrientes minerais, maior resistência estomática, incremento da atividade do metabolismo primário, proporcionando aumento do desenvolvimento vegetal e aumento da atividade do metabolismo secundário, proporcionando maior resistência aos estresses. Esses processos foram apresentados na Figura 3 (CASTRO, 2006; MACEDO, 2012).

A maior resistência ao estresse permite que a planta suporte às condições adversas de forma aprimorada. As condições adversas podem ser: secas, baixo pH, radicais livres (tais como os EROs), alta salinidade do solo, ataques de vírus e até deficiências de nutrientes (ALMEIDA *et al.*, 2011).

Resumindo, o inseticida contendo o i.a. THX pode produzir o efeito fitotônico¹ (ALMEIDA *et al.*, 2012; CASTRO *et al.*, 2008). Esse efeito pode promover mudanças em certos processos na fisiologia vegetal melhorando o desenvolvimento das plantas, como no IVE e os CR e CPA, na morfologia ou bioquímica vegetal (ALMEIDA *et al.*, 2013; CARVALHO; PERLIN; COSTA, 2011). Assim, o inseticida com a capacidade bioativadora, segundo alguns autores, interage com o potencial germinativo das sementes tratadas estimulando o crescimento radicular de forma mais rápida, proporcionando maior absorção dos nutrientes minerais pela planta e, conseqüentemente, maior desempenho comparado ao grupo controle (ALMEIDA *et al.*, 2009).

Portanto, o i.a. THX pode incrementar a produtividade e a qualidade do produto final quando as sementes são submetidas ao tratamento com o bioativador, porém são necessárias avaliações nas respostas fisiológicas e bioquímicas das culturas (CARVALHO; PERLIN; COSTA, 2011; MACEDO, 2012).

2.3 Emissões de fótons ultrafraca

Nessa seção será apresentado um breve histórico sobre a técnica da UWPE e suas definições.

2.3.1 Breve histórico da UWPE

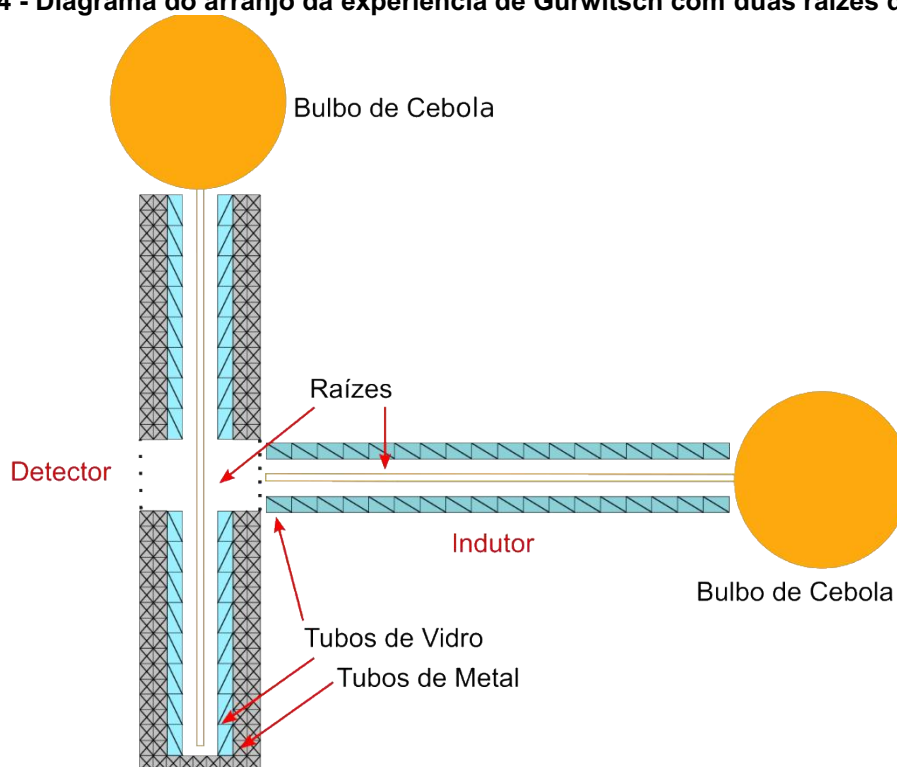
Na década de 1920, Alexander Gavrilovich Gurwitsch iniciou os estudos com a UWPE em amostras biológicas através de suas pesquisas sobre morfogenética. Ele descobriu a emissão espontânea de luz em células vegetais, constatando que essa emissão estimulava ou induzia a multiplicação de outras células similares sem o contato físico. Com isso, aparece o termo Radiação Mitogenética (do inglês,

¹ Efeito caracterizado pelas vantagens positivas no crescimento e no desenvolvimento das plantas, proporcionadas pela aplicação de algum ingrediente ativo (CASTRO *et al.*, 2008).

Mitogenetic Radiation - MGR) cujo objetivo é compreender o fenômeno que implicava as divisões celulares (GURWITSCH, 1988).

A explicação encontrada por Gurwitsch para descrever a Radiação Mitogénica, não proveniente de nenhuma substância química, é o “Campo Morfogenético”. Ele usou detectores biológicos (raízes de cebolas) para comprovar esta radiação. O experimento consistiu-se em utilizar vários testes executados da seguinte forma: uma raiz indutora envolvida por um tubo de metal orientado na horizontal com 1,5 a 2,0 mm de distância da superfície do meristema e outra raiz detectora também envolvida por outro tubo de metal, mas orientado verticalmente durante um período de 1 a 2 h, como exposto na Figura 4 (GURWITSCH, 1988).

Figura 4 - Diagrama do arranjo da experiência de Gurwitsch com duas raízes de cebola



Fonte: Adaptado de Popp (2003a, 2003b).

O número de mitoses foi maior na zona “iluminada” quando comparadas às outras partes do meristema. Para justificar tais resultados, Gurwitsch colocou filtros de vidro e de quartzo entre as duas raízes, em dois momentos diferentes, promovendo o isolamento químico e ainda podendo verificar a natureza do processo de incremento da taxa de mitose. Dessa forma, ele provou que o fenômeno não se baseava em mediação química, mas se dava através de radiação eletromagnética na faixa de 260 nm, já que somente com o filtro de quartzo o fenômeno do incremento mitótico se mantinha. Assim, com o emprego de filtros de vidro de quartzo e do isolamento

químico entre as raízes indutoras e detectoras, conseguiu-se comprovar a natureza física da Radiação Mitogenética (GURWITSCH, 1988).

Entre os anos de 1923 a 1935 houve vários artigos publicados sobre a Radiação Mitogenética, a origem e a interação das funções biológicas com a UWPE, porém a Radiação Mitogenética foi considerada uma patologia e os estudos publicados por Hollander e Claus refutaram os estudos de Gurwitsch, colaborando para o desinteresse do assunto (NIGGLI, 1991).

Os primeiros dispositivos capazes de detectar as UWPEs foram válvulas fotomultiplicadoras (do inglês, *Photomultiplier Tube* - PMT), que surgiram em 1936, produzidas pela empresa RCA. Foi, portanto, a partir dessa data que um novo impulso no estudo das UWPEs ocorreu e foi possível confirmar sua existência produzida por todos os seres vivos (POPP, 2003a, 2003b).

As UWPEs em sementes (trigo, feijão, lentilhas e milho) foram demonstradas por Colli e Facchini (COLLI; FACCHINI, 1954; 1955). Eles observaram que o fenômeno aumenta durante a germinação e é mais forte nas raízes que nas demais partes da planta, como caules e sementes, e a UWPE é maior logo após as sementes sofrerem danos mecânicos. Além disso, a emissão ocorreu em uma ampla faixa espectral de 400 a 600 nm (COLLI; FACCHINI, 1954, 1955). Em decorrência dos estudos de Colli e Facchini, outras pesquisas foram realizadas evidenciando as mudanças que ocorrem na intensidade das emissões em relação aos fatores ambientais sob as quais as plantas são submetidas (KATO *et al.*, 2014).

A Rússia foi a responsável por colaborar com os estudos das UWPEs em espécies de plantas e animais na década de 1960. No mundo ocidental, os laboratórios Inaba no Japão, Boveris nos EUA, o pesquisador Quickenden na Austrália e o pesquisador Popp na Alemanha exploram as UWPEs pelos sistemas vivos. Esses cientistas desenvolveram métodos distintos com sistemas sensíveis capazes de realizar a fotocontagem com sinal de ruído extremamente baixo que permitiram explorar a capacidade das válvulas fotomultiplicadoras (NIGGLI, 1991; POPP, 2003a, 2003b).

Em 1975, Seliger realizou fotocontagens em seres vivos e apresentou a “Teoria da Imperfeição”, onde teorizava que elas são provenientes de uma imperfeição dos eventos metabólicos acontecendo constantemente dentro das células orgânicas, ou seja, as emissões ocorrem desde que o sistema vivo esteja na situação de um estado excitado permanente sujeito à volta ao equilíbrio térmico. Nessas condições,

alguns cientistas consideraram ser óbvio que os compostos altamente reativos, tais como radicais e reagentes de oxidação, são os candidatos mais prováveis para fontes das UWPEs (POPP, 2003b, 2003b; SELIGER, 1975).

Em 1981, Slawinski, Grabikowski e Ciesla apresentaram dados que indicaram que cada parte da plântula contribui para uma determinada banda na distribuição espectral das UWPEs, em especial, as raízes são as principais responsáveis pela emissão. Além disso, eles demonstraram que organismos estressados ou até mesmo morrendo podem apresentar uma taxa das UWPEs maior devido às perturbações do meio externo (SLAWINSKI; GRABIKOWSKI; CIESLA, 1981).

Em 1989, o grupo Hamamatsu Photonics KK observou que as pontas das raízes das plantas são as responsáveis pela maior parte das UWPEs (ICHIMURA *et al.*, 1989), pois nesta região o metabolismo é mais ativo em relação às outras regiões ocorrendo maior divisão e alongamento celular (GALLEP; ROBERT, 2020).

Em 1994, o grupo italiano de Catania explorou a relação entre o perfil da DL e a sua capacidade de detectar estresses térmicos causados nas sementes de soja. Com isso, eles mostraram que o perfil de remissão em sementes de soja pode ser relacionado ao seu nível de vigor vegetativo (MUSUMECI *et al.*, 1994). Além disso, os mesmos autores mostraram que a UWPE pode ser relacionada aos processos de germinação de sementes vivas e observou-se que nas bandas espectrais na região do vermelho e do UV as UWPEs têm maior intensidade (GRASSO *et al.*, 1991).

Os pesquisadores Kai, Mitani e Fujikawa (1993) e Kai, Moriya e Fujimoto (1995) descreveram que há um relacionamento entre a dinâmica de crescimento e a UWPE. Os seus estudos sugerem que a intensidade da emissão aumenta linearmente com o crescimento da raiz. Além disso, a porcentagem de germinação das plântulas pode ser estimada medindo a intensidade da UWPE (KAI; MITANI; FUJIKAWA, 1993; KAI; MORIYA; FUJIMOTO, 1995).

O pesquisador Zeiger, em 1998, avaliou a viabilidade e o vigor de sementes através do estudo e análise do padrão das UWPEs. Ele avaliou as emissões em amostras de trigo submetidas às diferentes temperaturas e as relacionou com o potencial de germinação e do nível de vigor de sementes (ZEIGER, 1998).

2.3.2 Definição da UWPE

O biofísico Fritz Albert Popp introduziu o termo biofótons (do inglês, *Biophotons Emissions* - BPE) em 1976, como resultados de suas pesquisas das UWPEs em sistemas biológicos (POPP; CHANG, 1998). Na literatura, encontram-se outros termos para se referir às emissões de fótons ultrafracas, dentre eles: Radiação Mitogenética, Luminescência Escura, Bioluminescência Ultrafraca, Luminescência de Baixo Nível, Quimioluminescência (espontânea), Bioluminescência e Autoluminescência (BERTOGNA, 2013; CHANG; FISCH; POPP, 1998, p.9; CIFRA; POSPÍŠIL, 2014). Neste trabalho, os termos UWPE (do inglês, *Ultra-Weak Photon Emission*), emissão de fótons ultrafraca e biofótons serão empregados.

A UWPE refere-se ao fenômeno da emissão espontânea de fótons individuais extremamente fracos e permanentes de origem biológica. Sendo caracterizada por uma emissão eletromagnética espontânea que abrange uma faixa contínua desde a região UV até o infravermelho próximo (do inglês, *Near Infrared* - NIR), ou seja, variando de 200 a 800 nm, porém não sendo possível de ser detectado pelo olho humano devido à baixíssima intensidade de que variam de dezenas até milhares de fótons / cm² x s (CIFRA; POSPÍŠIL, 2014; DEVARAJ; USA; INABA, 1997; POPP; CHANG, 1998; POPP, 2003a, 2003b).

A intensidade espectral ($i(\nu)$) da UWPE nunca exhibe pequenos picos em torno de frequências (ν). Em vez disso, a sua distribuição espectral que se apresenta plana dentro da faixa entre 200 a 800 nm deve ser atribuída a um sistema fora de equilíbrio térmico. Isso significa que, a probabilidade de ocupação dos estados excitados ($f(\nu)$) não segue uma Distribuição de Boltzmann (equação 1), mas o $f(\nu) = \text{constante}$ (POPP, 2003a, 2003b). Assim, a UWPE não pode ser confundida com radiação de calor (BERTOGNA, 2013). Ademais, a probabilidade de registrar os biofótons segue a distribuição de probabilidade de Poisson ($n, \Delta t$), registrando os n fótons ($n = 0, 1, 2, \dots$) em um intervalo de tempo predefinido (Δt) (POPP, 2003a, 2003b).

$$f(\nu) = \exp \frac{-h \times \nu}{k_B \times \text{temperatura}} \quad (1)$$

Em que:

$f(\nu)$ = Probabilidade de ocupação;

h = Constante de Planck = $6,626 \times 10^{-34}$ J.s;

ν = Frequência do fóton;

k_B = Constante de Boltzmann = $1,380 \times 10^{-23}$ J. K⁻¹.

A UWPE também não pode ser confundida com a bioluminescência comum, que é atribuída a reações fotoquímicas em algumas espécies como os vagalumes, pois, bioquimicamente, a bioluminescência comum necessita de oxigênio, uma fonte de energia, da enzima luciferase e de um aldeído de cadeia longa para ocorrer (CIFRA; POSPÍŠIL, 2014; SANTOS; SANTOS; COSTA, 1992).

Há um fenômeno que acontece durante as UWPEs, conhecido como DL, que surge em amostras biológicas após a exposição a uma fonte luminosa, produzindo uma reemissão de radiação com longos períodos de duração, da ordem de minutos a horas. Ela apresenta um perfil de decaimento hiperbólico ($1/t$, t é o tempo após a excitação) diferentemente das amostras inanimadas que apresentam decaimento exponencial (e^{-t/T_c} , T_c é a constante de decaimento). Ao final do decaimento hiperbólico da DL, a intensidade das UWPEs, que caracteriza a amostra biológica, retoma parcialmente ou totalmente (POPP; CHANG, 1988). Portanto, a distribuição Poissoniana de estatísticas de fotocontagem e o decaimento hiperbólico da DL indicam que a UWPE é um processo coerente (POPP, 2003a, 2003b).

Há uma diferença entre as UWPEs e a DL. As primeiras são originadas dos processos metabólicos oxidativos e de processos de estresse oxidativos. Já a DL é essencialmente apenas outro termo para a fosforescência de extrema longa vida (CIFRA; POSPÍŠIL, 2014).

A UWPE pode ser dividida em dois tipos: a espontânea e a estimulada. As UWPEs espontâneas são geradas durante reações metabólicas oxidativas, sem influência de estressores externos ou estímulos. Por outro lado, as UWPEs estimuladas são iniciadas devido aos estresses bióticos (como, infecções por vírus, bactérias, fungos) e/ou abióticos (como, temperatura, oxigênio e umidade). Além disto, processos oxidativos podem perturbar a homeostase bioquímica e fisiológica das células, muitas vezes, associadas à formação das EROs e ao dano oxidativo, e como consequência provocar alterações nas intensidades das UWPEs, tanto nas espontâneas, quanto nas estimuladas (CIFRA; POSPÍŠIL, 2014; HAVAUX, 2003). Portanto, a intensidade das UWPEs do tipo estimulada pode ser levada a várias ordens de magnitude maior que a emissão do tipo espontânea (CIFRA; POSPÍŠIL, 2014).

Em relação à fonte da UWPE, Cifra e Pospíšil (2014), Gallep e Robert (2020) e Nematollahi *et al.* (2020) explicam que ela é um subproduto do relaxamento de

espécies eletronicamente excitadas que são geradas quimicamente durante processos metabólicos oxidativos e estresse oxidativos associadas às EROs (CIFRA; POSPÍŠIL, 2014; GALLEP; ROBERT, 2020; NEMATOLLAHI *et al.*, 2020).

As EROs são moléculas instáveis e extremamente reativas geradas pela redução parcial do oxigênio. Nas plantas, as EROs são produtos naturais do metabolismo celular, porém, em condições de estresse, o equilíbrio entre a produção e a eliminação das EROs é perturbado nos componentes celulares. Assim, quando as plantas são submetidas à situação de estresse biótico e/ou abiótico o equilíbrio entre a produção e a capacidade do sistema de desintoxicar os intermediários tóxicos ou reparar o dano é desacoplado. Isso resulta no fenômeno do estresse oxidativo que promove uma série de oxidações espontâneas indesejáveis no interior das células. Dessa forma, as EROs podem inativar rapidamente as enzimas, inibir a síntese de proteínas, danificar os ácidos nucleicos e as organelas celulares vitais das plantas, destruir as membranas, induzir a degradação de pigmentos resultando em perdas de funções e até mesmo a morte celular (KARUPPANAPANDIAN *et al.*, 2011; MANKE; WANG; ROJANASAKUL, 2013; TAIZ *et al.*, 2017, p.734). Causando, assim, efeitos indesejados no crescimento e na produtividade das plantas (NEMATOLLAHI *et al.*, 2020).

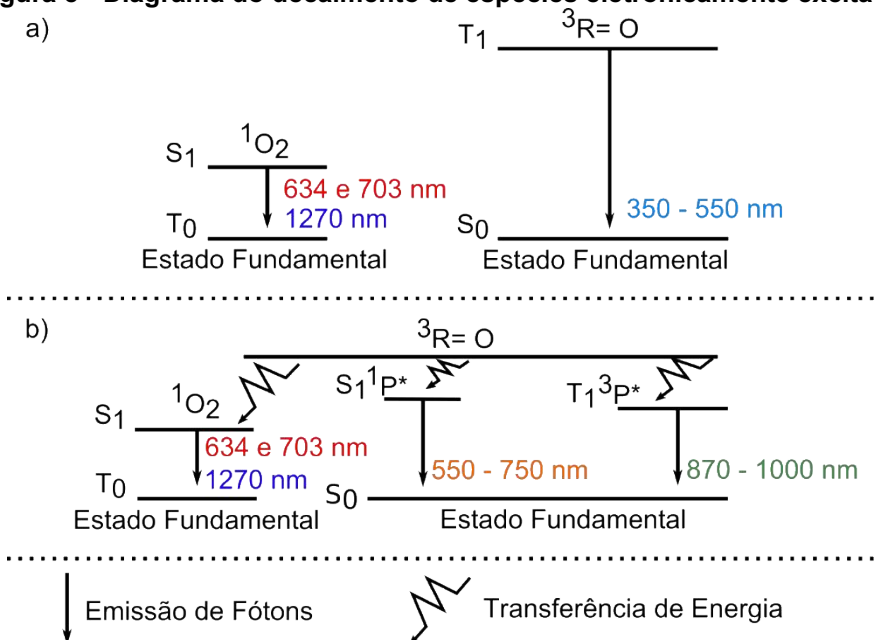
No caso das sementes expostas às doses de inseticidas, com objetivo de remover as EROs que podem intoxicar as células das sementes/plantas, as enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) são estimuladas (YÜCEL; HEYBET; GOKMEN, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2020). Caso ocorra a falha dos mecanismos de defesa antioxidantes isso ocasiona a diminuição da atividade enzimática e do metabolismo da planta devido a danos estruturais (BASHIR; SIDDIQI; IQBAL, 2007). Devido a isso, a viabilidade das sementes, a germinação e o nível de vigor das sementes podem ser prejudicados (COSKUN; KILIC; DURAN, 2015).

As formas comumente encontradas das EROs em células vegetais são os radicais superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e hidroxila ($\cdot OH$) e os não radicais peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o oxigênio singleto (1O_2) (TAIZ *et al.*, 2017, p.734).

Nos processos metabólicos oxidativos, a oxidação das biomoléculas, como proteínas, ácidos nucleicos e lipídios, ocorre através da abstração de hidrogênio pelo $\cdot OH$ resultando na formação de um radical alquila ($R\cdot$). O $R\cdot$ pode reagir com o oxigênio molecular (O_2) e produzir o radical peroxil ($ROO\cdot$). A ciclização do $ROO\cdot$ e a recombinação com dois $ROO\cdot$ promovem a formação de intermediários instáveis de

alta energia, o tetróxido (ROOOOR) e o dioxietano (ROOR) que também pode ser formado por cicloadição de $^1\text{O}_2$. Então, a decomposição desses intermediários dá origem às carbonilas excitadas no estado tripleto ($^3\text{R}=\text{O}$) (CIFRA; POSPÍŠIL, 2014).

Figura 5 - Diagrama do decaimento de espécies eletronicamente excitadas



634 e 703 nm - relaxamento bimolecular do $^1\text{O}_2$

1270 nm - relaxamento monomolecular do $^1\text{O}_2$

Nota: a) nível de energia da carbonila no estado excitado tripleto ($^3\text{R}=\text{O}$) e nível de energia do oxigênio excitado singleto ($^1\text{O}_2$); b) a energia da carbonila no estado excitado tripleto transferida para pigmentos gerando pigmentos excitados no estado singleto ($^1\text{P}^*$) ou tripleto ($^3\text{P}^*$). Além disso, a energia pode ser transferida para o oxigênio molecular formando oxigênio no estado excitado singleto.

Fonte: Adaptado de Cifra e Pospíšil (2014).

As emissões com comprimentos de onda entre 350 a 550 nm estão associadas ao relaxamento da $^3\text{R}=\text{O}$. As UWPEs em comprimentos de onda de 634 nm e 703 nm estão associadas ao relaxamento bi moleculares do oxigênio $^1\text{O}_2$ e as UWPEs em 1270 nm estão associadas ao relaxamento monomolecular do $^1\text{O}_2$, conforme a Figura 5 (a) (CIFRA; POSPÍŠIL, 2014; POSPIŠIL; PRASAD; RAC, 2014).

Quando outras moléculas tais como, pigmentos ou O_2 , estão na proximidade imediata de espécies eletronicamente excitadas a transferência de energia de excitação resulta na formação de pigmentos excitados no estado singleto ($^1\text{P}^*$) ou tripleto ($^3\text{P}^*$) e $^1\text{O}_2$, respectivamente. Então, a transição eletrônica de espécies excitadas para o estado fundamental é acompanhada da emissão de fótons em determinados comprimentos de onda (BERTOGNA, 2013; CIFRA; POSPÍŠIL, 2014; FOOTITT *et al.*, 2016; NEMATOLLAHI *et al.*, 2020; POSPIŠIL; PRASAD; RAC, 2014).

A faixa de comprimentos de onda das emissões dos fótons provenientes das transições eletrônicas dos $^1P^*$ encontra-se entre 550 a 750 nm, já para os $^3P^*$ as UWPEs ocorrem entre 870 a 1000 nm. A representação dessas emissões pode ser observada na Figura 5 (b) (CIFRA; POSPÍŠIL, 2014; POSPIŠIL; PRASAD; RAC, 2014).

Para o caso do estresse oxidativo, os mesmos processos ocorrem, porém são acentuados (POSPIŠIL; PRASAD; RAC, 2014).

As plantas e suas partes exibem UWPEs e esse sinal origina-se nos cloroplastos, nas mitocôndrias, peroxissomos, retículo endoplasmático, apoplasto, membranas plasmáticas e paredes celulares (ABOUZARI; FAKHERI, 2015; HIDEK, 1993).

2.4 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta - visível

A técnica espectroscopia de absorção na região do UV até a região do Vis, ou seja, comprimentos de onda de 200 a 800 nm é empregada em várias áreas do conhecimento e é uma técnica analítica usada para detectar várias moléculas (FABUNMI, 2019).

Quando um analito é atingido por uma intensidade de radiação incidente (I_0) há a absorção de energia, fazendo com que algumas espécies do analito sofram uma transição (que ocorre entre níveis de energia eletrônicos) de um estado de energia mais baixo ou fundamental para um estado de maior energia ou excitado. Esse processo é quantizado e as informações do analito são obtidas medindo a radiação eletromagnética emitida quando as espécies retornam ao estado fundamental ou a quantidade de radiação absorvida durante o processo (PAIVA *et al.*, 2010, p. 365; SKOOG *et al.*, 2005, p. 675).

Na espectroscopia de absorção a quantidade de luz absorvida é medida em função do comprimento de onda, fornecendo informações quantitativas e qualitativas da amostra (SKOOG *et al.*, 2005, p. 676).

As espécies moleculares são capazes de absorver as suas frequências características da radiação eletromagnética. Assim, esse processo transfere energia para a molécula, e conseqüentemente I_0 é atenuada de acordo com a lei de Beer - Lambert. Essa lei descreve quantitativamente que a atenuação da radiação incidente depende da concentração de moléculas do analito e do caminho ótico. Com isso, a intensidade incidente decresce de I_0 para I_s . A relação I_s / I_0 é chamada de

transmitância (T) e a absorvância (A) de uma solução se relaciona com a T da seguinte forma: $A = -\log_{10} T$ (SKOOG *et al.*, 2005, p. 678).

Para obter as medidas de T e A, a solução em análise deve ser vertida em uma cubeta ou algo semelhante. Com isso, perdas por reflexão ou espalhamento podem ocorrer nas paredes das cubetas e podem ser consideradas substanciais. Para compensar as perdas, a potência transmitida pela cubeta é comparada à potência resultante da passagem do feixe através do solvente empregado na solução. Ao final, são obtidos espectros de absorção que são gráficos da absorvância *versus* o comprimento de onda que é único para o composto analisado (FABUNMI, 2019; SKOOG *et al.*, 2005, p. 679 - 680, 684).

2.5 Ensaio para a análise da qualidade fisiológica de sementes - não óticas

A avaliação da qualidade fisiológica das sementes é fundamental. O objetivo dos testes padrão é identificar os lotes que apresentam maior probabilidade de estabelecimento em campo e conseqüentemente maior produtividade (MARCOS FILHO, 2005, p. 459).

Dentre os principais procedimentos para determinar da qualidade fisiológica de sementes de plantas cultivadas podem-se citar: teste de germinação (fisiológico), teste de tetrazólio (bioquímico), teste de envelhecimento acelerado (resistência/físico) e os testes baseados no desempenho ou características de plântulas (fisiológicos) (MARCOS FILHO, 2005, p. 460 - 486).

O teste de germinação é realizado em laboratórios de análises de sementes em condições padronizadas e favoráveis que não são encontradas pelo agricultor em campo e segue as instruções descritas pelas RAS.

O teste de germinação possui reprodutibilidade e com ele é possível conhecer a porcentagem máxima de germinação de um lote de sementes, por esse motivo, esse teste se aproxima do teste de viabilidade (COPELAND; MCDONALD, 2001, p. 128-137; BRASIL, 2009a). Esse teste pode ser empregado para comparar a qualidade dos lotes e estimar a aptidão para semeadura em campo. As condições de realização do teste são padronizadas para que os resultados atendam aos padrões legais segundo a Instrução Normativa número 45 de 17 de setembro de 2013 no anexo XXVII (BRASIL, 2013) e possam ser reproduzidos e comparados. As sementes germinadas que produziram plântulas normais são contadas. A temperatura e o tempo de realização

do teste variam entre as espécies, no caso das sementes de trigo, elas são submetidas à temperatura de 20°C e levam 8 dias para a finalização do teste. Pode-se determinar o nível de vigor através da PCG no teste de germinação (para as sementes de trigo, realizada após quatro dias no início do ensaio), pois as amostras que apresentam maior porcentagem de plântulas normais na PCG são as mais vigorosas. A contagem final de germinação (CFG) é realizada ao final do oitavo dia. Como vantagem, esse teste apresenta alto grau de padronização e com ampla possibilidade de repetição dos resultados, porém em condições de campo, onde as variáveis ambientais não podem ser controladas, o teste não pode ser fielmente reproduzido e é necessária a complementação das informações desse teste (BRASIL, 2009a; LOBO JÚNIOR; BRANDÃO; MARTINS, 2013; MARCOS FILHO, 2005, p. 460 - 463).

A rápida avaliação da qualidade fisiológica de sementes é de extrema importância. Assim, o teste de tetrazólio é um método rápido para estimar a viabilidade e o nível de vigor de sementes, em particular, quando elas apresentam dormência e germinação lenta. Esse teste segue as instruções descritas pelas RAS e é aplicado, por exemplo, quando há a necessidade de semeadura das sementes logo após a colheita, para estimar o nível de vigor e a viabilidade de sementes quando submetidas aos tratamentos pré-germinativos. Nesse teste, as sementes são embebidas em uma solução incolor de 2, 3, 5 - trifenil cloreto de tetrazólio usada como um indicador para revelar o processo de redução do oxigênio que acontece dentro das células vivas. Assim, os tecidos vivos sofrem alteração de cor já os tecidos mortos não colorem. A alteração de cor dos tecidos vivos reflete a atividade do sistema de enzimas desidrogenases relacionado à viabilidade das sementes. O teste possui duas etapas, na etapa de pré-umedecimento com água ou entre papel o tempo de execução varia de 4 a 18 h (dependendo do substrato) em 20 °C. Ademais, para o cumprimento da etapa de coloração o tempo empregado pode levar até 24 h em temperatura de 30 °C dependendo do preparo para expor os tecidos do gérmen para facilitar a absorção da solução de cloreto de tetrazólio (BRASIL, 2009a; LOBO JÚNIOR; BRANDÃO; MARTINS, 2013; MARCOS FILHO, 2005, p. 463 - 466).

Outra técnica, descrita na literatura, para avaliar o nível de vigor das sementes é o teste de envelhecimento acelerado. Esse teste é um dos mais sensíveis e eficientes para a avaliação do vigor. No caso do trigo, as sementes são submetidas à temperatura de 42 °C por um período de 60 h com alta umidade relativa do ar

ocasionando a deterioração das sementes e proporcionando o aparecimento de anormalidades ou morte das plântulas durante a germinação. O resultado desse teste expressa a porcentagem de plântulas normais após o estresse. Ele é capaz de fornecer informações com alto grau de consistência, identificando pequenas diferenças do nível de vigor e estimando o potencial de armazenamento dos lotes (LOBO JÚNIOR; BRANDÃO; MARTINS, 2013; MARCOS FILHO, 2005, p. 474 - 478).

O grupo dos testes baseados no desempenho ou características de plântulas incluem os testes de primeira contagem de germinação (emergência), velocidade de germinação (emergência), medida do seu comprimento ou de suas partes constituintes (como, raiz primária e parte aérea), massa de matéria seca de plântulas e classificação do nível de vigor de plântulas. Esses testes não geram dificuldades para a sua execução e alguns deles podem ser realizados juntos, aproveitando a instalação do teste de germinação (MARCOS FILHO, 2005, p. 483 - 484).

2.6 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier

O estudo na região do infravermelho (IR) iniciou-se em 1800 com o experimento de William Herschel. Nesse experimento ele empregou um prisma de cristal para criar um espectro a partir da luz branca. Utilizando um termômetro de mercúrio para medir o calor emitido em cada cor. Dessa forma, ele descobriu que o calor era mais intenso ao lado da região vermelha do espectro, sendo a primeira observação dos efeitos da radiação na região do IR (RODRIGUEZ-SAONA; AYVAZ; WEHLING, 2017, p. 109).

A radiação na região do IR é uma energia eletromagnética com comprimentos de onda maiores que a luz visível, mas menores do que micro-ondas (maiores que 1 mm). Essa radiação é apresentada, muitas vezes, em termos de número de onda ($\tilde{\nu}$) dado em cm^{-1} , em vez de comprimentos de onda, pois, o $\tilde{\nu}$ é diretamente proporcional à energia (RODRIGUEZ-SAONA; AYVAZ; WEHLING, 2017, p. 109). Assim, o $\tilde{\nu}$ entre 12800 a 10 cm^{-1} é empregado na espectroscopia no IR que geralmente pode ser dividida em três regiões. Na região do infravermelho próximo (NIR) de 12800 a 4000 cm^{-1} , no infravermelho médio (do inglês, *Mid Infrared* - MIR) de 4000 a 200 cm^{-1} e na região do infravermelho distante (do inglês, *Far Infrared* - FIR) de 200 a 10 cm^{-1} (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002, p.343).

Para análises qualitativas e quantitativas de compostos orgânicos e bioquímicos a região MIR é mais aplicada, pois nessa faixa há a região de individualização ou *fingerprint* ($\tilde{\nu}$ entre 800 a 1500 cm^{-1} (AMIR *et al.*, 2011)) que apresenta diferenças significativas na aparência e na distribuição dos picos de absorção quando ocorrem diferenças nas estruturas e na constituição das moléculas. Dessa forma, a análise qualitativa é realizada. Além disso, os picos possuem pequena largura, permitindo que os espectros resultantes das amostras sejam interpretados com maior facilidade (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002, p.363, 366, 374).

A espectroscopia de absorção na região do IR aplica o princípio que as vibrações moleculares dos compostos que possuem ligações covalentes, orgânicas e inorgânicas, podem absorver diferentes frequências da radiação na região do IR (CALABRÒ; MAGAZÙ, 2016, p.2; DWIVEDI *et al.*, 2017; PAIVA *et al.*, 2010, p.17; RODRIGUEZ-SAONA; AYVAZ; WEHLING, 2017, p. 109).

A interação da radiação na região do IR com a matéria pode induzir mudanças nos dipolos moleculares associados aos movimentos vibracionais e rotacionais, porém geralmente não é suficientemente energética para causar transições eletrônicas (CALABRÒ; MAGAZÙ, 2016, p.2; SKOOG *et al.*, 2005, p. 687). Dessa forma, os espectros na região do IR de amostras biológicas são apenas vibracionais (NAUMANN, 2000, p.104). Assim, quando uma molécula vibra há uma variação regular do momento dipolo e surge um campo que é capaz de interagir com o campo elétrico alternado associado à radiação incidente. Se a frequência vibracional natural da molécula coincidir com a frequência da radiação incidente no sistema, ocorre uma transferência de energia efetiva e resulta em uma variação da amplitude de um dos movimentos da molécula, sendo a absorção da radiação uma consequência desse processo (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002, p.343).

A frequência de ressonância pode ser observada como um pico no espectro de absorção. Esta frequência de vibração é única e depende da força de ligação química entre os átomos e da massa de cada átomo. Assim, o espectro na região do IR da amostra origina-se da fração da radiação transmitida pela amostra em comparação com a radiação incidente (CALABRÒ; MAGAZÙ, 2016, p.6). Dessa forma, o espectro na região do IR é exibido como a resultante da relação $T = I_s / I_0$ em função do $\tilde{\nu}$. A absorvância é usada, pois em determinados comprimentos de onda, ela é diretamente proporcional à concentração de uma amostra, segundo a lei de Beer

- Lambert (NAUMANN, 2000, p.104), tal como a espectroscopia de absorção na região do UV-Vis.

Os espectros resultantes apresentam uma grande quantidade de bandas de absorção (NAUMANN, 2000, p.104). A intensidade da banda de absorção é proporcional à mudança no momento do dipolo. Além disso, a intensidade de uma banda de vibração também depende da população ou da ocupação correspondente a essa vibração (CALABRÒ; MAGAZÙ, 2016, p.4). É importante salientar que, a absorção de radiação na região do IR é um processo quantizado e as moléculas absorvem apenas frequências específicas que coincidem com as suas frequências vibracionais naturais (PAIVA *et al.*, 2010, p. 17).

Existem muitas vibrações possíveis em uma molécula poliatômica, porém as vibrações moleculares mais importantes que produzem uma mudança no momento dipolar são os movimentos de estiramento ou axial (simétrico (u_s) e assimétrico (u_{as})) e deformação angular (ou dobramento) (balanço no plano (ρ), oscilação fora do plano (ω), tesoura no plano (δ) e torção fora do plano (τ)) (RODRIGUEZ-SAONA; AYVAZ; WEHLING, 2017, p.109; SKOOG *et al.*, 2005, p. 687).

Os espectros na região do IR resultantes fornecem informações sobre as composições orgânicas de uma amostra. Cada composto orgânico possui um espectro específico, pois esta informação está diferentemente ligada às vibrações dos átomos de cada molécula (ALAWAM, 2014; AMIR *et al.*, 2011; CZEKUS *et al.*, 2019). Portanto, os espectros de absorção na região do IR de duas moléculas de estruturas diferentes nunca são exatamente idênticos, ou seja, as frequências absorvidas em duas moléculas podem ser iguais, mas em nenhum caso os padrões de absorção das duas moléculas serão idênticos (PAIVA *et al.*, 2010, p.17).

Como mencionado anteriormente, os espectros resultantes consistem em várias bandas de absorção associadas às vibrações de diferentes grupos funcionais (WEI; JIAO; XU, 2015). Esses grupos funcionais pertencem aos componentes químicos presentes na amostra, como, por exemplo, água, proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos (AMIR *et al.*, 2011).

Os resultados analíticos são associados aos comprimentos de onda de absorção (CALABRÒ; MAGAZÙ, 2016, p.7). Assim, algumas bandas importantes são aquelas associadas à água e que são observadas na faixa entre 3000 a 3600 cm^{-1} com base no movimento de estiramento (ν) do grupo funcional O-H e no movimento de deformação (δ) do grupo funcional O-H em 1650 cm^{-1} . As proteínas são observadas

nas faixas entre 1600 a 1700 cm^{-1} , 1550 a 1570 cm^{-1} e 1230 a 1330 cm^{-1} , com base na ligação amida I (movimento de estiramento (ν) do C=O do grupo peptídico na proteína mais movimento de deformação do tipo oscilação fora do plano (ω) do N-H), amida II (movimento de deformação (δ) do N-H e movimento de estiramento (ν) do C-N) e amida III (movimento de deformação (δ) do N-H e movimento de estiramento (ν) do C-N), respectivamente. Além dessas bandas, a banda localizada entre 3000 a 3600 cm^{-1} (movimento de estiramento (ν) do N-H) representa vibrações causadas principalmente pelas proteínas. A forte absorvância do trecho N-H no espectro indica que a variedade de trigo é rica em proteínas. Os lipídios são observados nas faixas entre 1350 a 1470 cm^{-1} (movimento de deformação simétrico (δ_s) do C-H), entre 1700 a 1750 cm^{-1} (movimento de estiramento (ν) do C=O) e entre 2800 a 3000 cm^{-1} (movimento de estiramento simétrico e (ν_s) e assimétrico (ν_{as}) do C-H). Já os carboidratos podem ser encontrados nas bandas localizadas entre 1072 a 1040 cm^{-1} (movimento de estiramento (ν) do C-O) e entre 1152 a 1168 cm^{-1} (movimento de estiramento assimétrico (ν_{as}) do C-O-C) (AMIR *et al.*, 2011; GUO *et al.*, 2017; KURDZIEL *et al.*, 2015; RICO; PERALTA-VIDEA; GARDEA-TORRESDEY, 2015; RODRIGUEZ-SAONA; AYVAZ; WEHLING, 2017; SCHULZ; BARANSKA, 2006; SINGH *et al.*, 2017; TULUKCU; CEBI; SAGDIC, 2019; WEI; JIAO; XU, 2015). Na Tabela 2 são apresentados os $\tilde{\nu}$ e sua respectiva assinatura da banda.

Tabela 2 - Bandas de Análise dos Compostos Orgânicos

Faixa do $\tilde{\nu}$ (cm^{-1})		Assinatura da banda
1040	1072	Celulose e Hemicelulose
1152	1168	Celulose e Hemicelulose
1230	1330	Proteínas
1350	1470	Lipídios
1550	1570	Proteínas
1600	1700	Proteínas
	1650	Água
1700	1750	Lipídios
2800	3000	Lipídios
3000	3600	Água
3000	3600	Proteínas

Fonte: Autoria Própria (2021).

Técnicas espectroscópicas, em especial a FTIR descoberta por Peter Fellgett em 1949, são excelentes ferramentas para a análise de compostos químicos e sistemas biológicos (CALABRÒ; MAGAZÙ, 2016, p.1; DEMIR; ONDE; SEVERCAN, 2015). A FTIR é uma técnica analítica rápida, ecológica, repetível e simples. Essa técnica permite determinar qualitativa e quantitativamente o tipo de função química

presente nos compostos analisados através de suas vibrações (SUJKA *et al.*, 2017; FABUNMI, 2019). Ela é uma das ferramentas mais importantes e emergentes empregadas para a análise das estimativas dos diferentes parâmetros da qualidade fisiológica de sementes. Além disso, a técnica é não destrutiva fornecendo medidas precisas e que requer preparação mínima da amostra em análise (AMIR *et al.*, 2011), porém algumas das formas de preparação das amostras podem ser destrutivas, pois é necessário macerar as amostras.

O equipamento utilizado na FTIR é sensível, rápido e robusto. Nesse equipamento há a combinação do interferômetro de Michelson com o procedimento matemático da transformada de Fourier (SKOOG *et al.*, 2005, p. 734 - 740).

O espectrômetro empregado para obter os espectros FTIR pode ser acoplado a um acessório conhecido como ATR que possibilita o uso de uma técnica de amostragem amplamente aplicada na FTIR (RODRIGUEZ-SAONA; AYVAZ; WEHLING, 2017, p. 113). As vantagens do uso da técnica FTIR - ATR estão no fato dela fornecer amostragens mais rápidas com pouca ou até mesmo nenhuma preparação da amostra, não destrutiva e excelente reprodutibilidade amostra-a-amostra (FABUNMI, 2019).

A ATR funciona com base no efeito de atenuação da luz IR quando direcionada a uma interface entre um elemento de reflexão interna (cristal) com propriedades de alto índice de reflexão (ou seja, seleneto de zinco (ZnSe), iodeto de tálio-tálio brometo (KRS-5), germânio (Ge), silício (Si) e diamante) e um material com baixo índice de refração (amostra) em sua superfície. A reflexão interna total ocorre na interface amostra/elemento de reflexão, porém após a interação com a superfície refletora é formada uma onda evanescente que sai do cristal e penetra na amostra e é absorvida. Com isso, a intensidade da radiação refletida diminui nos comprimentos de onda para os quais houve absorção pela amostra. Ao final, a radiação atenuada do cristal é medida (RODRIGUEZ-SAONA; AYVAZ; WEHLING, 2017, p. 113). A limitação encontrada na técnica FTIR-ATR é que se deve garantir o melhor contato ótico possível entre a amostra e o elemento de reflexão interna (FABUNMI, 2019).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste trabalho, foi aplicada a técnica da detecção dos padrões temporais da UWPE associada à técnica da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e as técnicas não óticas que abrangem os ensaios tradicionais descritos pelas RAS.

A associação tem como objetivo permitir a detecção e a análise das possíveis consequências que o i.a. THX pode induzir nas sementes de trigo. Assim, por meio da aquisição de dados dos perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs associadas às sementes, usando-se para tanto uma instrumentação apropriada, e procedendo-se a análise desses perfis, pode-se relacioná-los com os parâmetros da germinação e desenvolvimento das sementes de trigo com e sem o tratamento com as diferentes doses do i.a. THX. Já os ensaios não óticos permitem compreender e avaliar as possíveis influências das diferentes doses de tratamento com o i.a. THX nos parâmetros fisiológicos dessas sementes. Além disso, pelas análises dos espectros adquiridos pela técnica FTIR, busca-se avaliar a influência das diferentes doses de tratamento com o i.a. THX na composição molecular das sementes ao longo dos dias de análise. Portanto, os dados obtidos pelas três técnicas são complementares. Para o desenvolvimento do trabalho, a metodologia adotada dividiu-se em três etapas. Na primeira, foram obtidos os perfis temporais das fotocontagens. Já na segunda etapa, foram realizados ensaios não óticos (tradicionais) de análises da qualidade fisiológica de sementes. Por fim, foram obtidos os espectros dia a dia das amostras de sementes de trigo.

3.1 Preparo dos grupos de sementes de trigo

Foram empregadas sementes de trigo da espécie *Triticum aestivum* L., cultivar FPS Certero, lote número 037, safra de 2018, cultivadas na cidade de Arapoti - Paraná e cedidas pela Empresa Mutuca Sementes.

As sementes foram tratadas com o P.C. Cruiser® 350 FS (Syngenta Proteção de Cultivos Ltda., São Paulo, SP) e número do Lote 0070-17-11860. Contendo 350 g de i.a de THX por litro (SYNGENTA, 2019). Segundo o regulamento técnico publicado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em 2004, as especificações técnicas desse produto são: i.a. ou nome comum: Tiametoxam; número CAS: 153719-

23-4; fórmula bruta: C₈H₁₀ClN₅O₃S; nome químico, segundo a União Internacional da Química Pura e Aplicada (do inglês, *International Union of Pure and Applied Chemistry* - IUPAC): 3 - (2 - cloro - 1,3 - tiazol - 5 - ilmetil) - 5 - metil - [1,3,5] - oxadiazinan - 4 - ilideno - N - nitroamina; massa molecular relativa de 291,7 g/mol; grupo químico: neonicotinóide; classe: inseticida; classificação toxicológica: classe III (ANVISA, 2004). Além disso, a solubilidade em água é de 4,1 g/L a 25 °C (IBAMA, 2019).

Para cada calda da Tabela 3 foram calculadas as proporções que correspondem aos tratamentos para 1 kg de sementes para cada grupo. Assim, as quantidades do P.C. correspondente às diferentes doses de tratamento, com as devidas proporções, foram vertidas em um Becker de 10 mL de volume e adicionados 5 mL de água deionizada (marca Cloroquímica® com pH 7, 5 µS/cm de condutividade). Com isso, formou-se uma calda homogênea que proporciona o recobrimento total de cada uma das sementes, como descrito por Dan *et al.* (2010).

Tabela 3 - Volume das caldas referentes às diferentes doses

Grupo	Volume de Calda de Tratamento para cada 100 kg de sementes de trigo
1	0 mL - sementes de trigo sem tratamento (grupo controle)
2	75 mL do i.a. THX diluídos em 500 mL de água deionizada
3	150 mL do i.a. THX diluídos em 500 mL de água deionizada
4	225 mL do i.a. THX diluídos em 500 mL de água deionizada
5	300 mL do i.a. THX diluídos em 500 mL de água deionizada

Fonte: Autoria Própria (2021).

Em seguida, cada calda foi aplicada, com o auxílio de uma pipeta graduada, nas sementes dispostas em sacos plásticos transparentes. Então, o saco plástico foi agitado vigorosamente durante 10 min com o objetivo de homogeneizar a distribuição do tratamento sobre todas as sementes.

Após o tratamento, as sementes foram colocadas para a secagem à sombra e então, embaladas em sacos de papel, até o início imediato dos ensaios. As sementes de trigo foram tratadas e logo se iniciou os ensaios, pois, segundo Lorenzetti *et al.* (2014) e Oliveira *et al.* (2020), as sementes submetidas ao tratamento químico com inseticidas podem sofrer efeitos desfavoráveis em sua qualidade fisiológica que aumentam com o tempo de armazenamento.

Destaca-se que a dose recomendada pelo fabricante é de 150 mL do i.a. THX para cada 100 kg de semente (SYNGENTA, 2019). Assim, há cinco grupos de análise: grupo controle - sementes sem tratamento, grupos das tratadas com a dose de 75 mL do i.a. THX (50% a menos da dose de tratamento recomendada pelo fabricante), o grupo das sementes tratadas com a dose de 150 mL do i.a. THX (dose de tratamento

recomendada pela especificação da bula do produto para sementes de trigo), o grupo das sementes tratadas com a dose de 225 mL do i.a. THX (75 % a mais da dose recomendada pelo fabricante) e o grupo das sementes tratadas com a dose de 300 mL do i.a. THX (100 % a mais da dose de tratamento recomendada), representado na Fotografia 1.

Fotografia 1 - Amostras de sementes de trigo tratadas com a dose de 300 mL do i.a. THX



Fonte: Autoria Própria (2021).

Para a padronização, neste trabalho, as diferentes doses de tratamento com o i.a. THX empregadas, serão referidas como: sementes de trigo sem tratamento (0 mL) e sementes de trigo tratadas com a dose de 75, 150, 225 e 300 mL do i.a. THX. Assim, a informação que as doses foram diluídas em 500 mL de água deionizada para cada 100 kg de sementes ficará omitida.

3.2 Instrumentação e metodologia para obter os perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs

Os perfis temporais das fotocontagens das amostras das sementes de trigo foram obtidos utilizando uma instrumentação concebida e implementada por BERTOGNA *et al.* (2016).

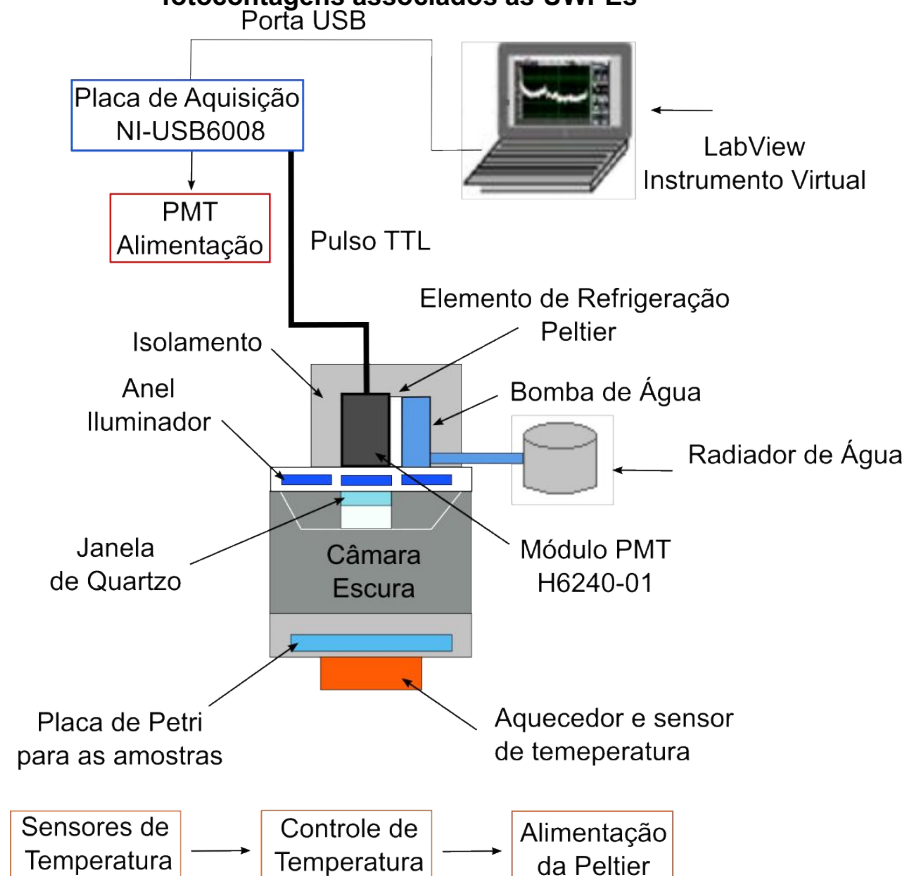
Esta instrumentação tem como elemento central um módulo de contagem de fótons, da empresa japonesa Hamamatsu (H6240-01), constituído de uma válvula fotomultiplicadora de baixo ruído e com uma faixa de resposta espectral de 185 - 850 nm (HAMAMATSU PHOTONICS KK, 2004). Este módulo de contagem de fótons está alojado dentro de uma câmara usinada em alumínio e a instrumentação conta ainda

com sistemas eletrônicos para aquisição dos pulsos de contagem, estabilização térmica do módulo de fotocontagem, e de um programa na forma de um instrumento virtual para a aquisição dos dados de contagem de fótons. Integrando, assim, um sistema automático que tem como objetivo fazer aquisições de dados das fotocontagens provenientes de amostras das sementes de trigo.

A placa de contagem é baseada na placa da National Instruments® (NI-USB6008) com um circuito condicionador de sinal dedicado associado. O controle da aquisição de dados das fotocontagens foi realizado através de um programa, elaborado em ambiente LabVIEW®, implementando um instrumento virtual (VI) desenvolvido por Bertogna *et al.* (2016), que salva os dados de fotocontagem em arquivo texto em padrão de uma série temporal de valores de contagem com um tempo de integração escolhido de 10 s (#/10 s).

Na Figura 6 é apresentado o diagrama em blocos da câmara de fotocontagem, a qual é equipada com um elemento de refrigeração por meio de uma pastilha Peltier que controla a temperatura da válvula fotomultiplicadora mantendo-a em 10 ± 1 °C para os testes de forma a manter o ruído de escuro estável.

Figura 6 - Diagrama em blocos do sistema de aquisição dos perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs



Fonte: Adaptado de Bertogna *et al.* (2016).

Antes de qualquer ensaio de ruído ou aquisição das UWPEs a câmara de fotocontagem é desinfetada com álcool 70 % e mantida com temperatura ambiente de 22 ± 1 °C controlada com o auxílio de um ar condicionado externo. Aguarda-se que a válvula fotomultiplicadora se normalize em 10 ± 1 °C e que as contagens de ruído de escuro se estabilizem. Além disso, a base aquecida abaixo do local da disposição da placa de Petri na câmara de fotocontagem é ligada e por meio de um controle de temperatura é mantida em 22 ± 1 °C.

3.2.1 Metodologia para os perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs

O instrumento utilizado para a aquisição dos dados de fotocontagem, sem amostra biológica em seu interior, apresenta taxas estáveis de fotocontagem ao longo do tempo de acordo com a temperatura de estabilização, como o comportamento de ruído de escuro. As taxas de ruído de escuro variam em função de vários fatores, sendo um dos mais importantes o fator temperatura, que segundo o fabricante, influencia diretamente no comportamento da válvula fotomultiplicadora elevando as taxas de ruído exponencialmente (HAMAMATSU, 2004).

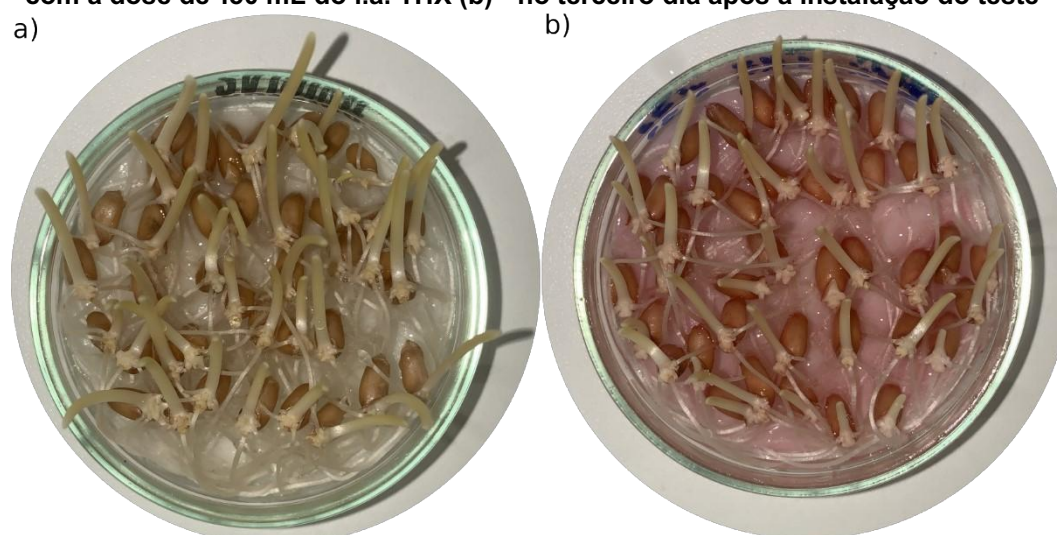
Os ensaios das medidas de ruído de escuro da câmara escura foram realizados durante 24 h na ausência de amostras biológicas para que fosse possível estabelecer o comportamento da câmara de fotocontagens, e assim, se diferenciar das emissões de origem biológica, provenientes das amostras de sementes de trigo, das emissões de ruído. No teste de perfil temporal do ruído de escuro da câmara de fotocontagem as contagens de fótons da câmara são geradas a partir do ambiente, incluindo: radiação térmica, raios cósmicos e isótopos radioativos presentes na composição dos materiais que constituem a própria câmara de fotocontagem (BERTOGNA, 2013).

Além disso, foram realizadas as coletas dos perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs das sementes de trigo. Esses ensaios foram realizados nos cinco grupos de sementes preparados, conforme descrito na seção 3.1. O ensaio foi realizado em triplicata com 40 sementes de cada grupo. Assim, a preparação para cada teste ocorreu individualmente. Primeiramente, as 40 sementes foram pesadas utilizando a balança de precisão de leitura de 0,01 g (Pocket Scale[®], MH-500). Após isso, elas foram dispostas em uma placa de Petri (80 x 15 mm) previamente lavada com água e sabão neutro, desinfetada com álcool 70 %, e

esterilizada em temperatura de 120 ± 10 °C por 15 min e preenchida com cinco folhas de papel filtro do tipo qualitativo que foi empregado como substrato.

Nas placas de Petri foram acomodadas as 40 sementes de trigo e embebidas com 6 mL de água deionizada (marca Cloroquímica® com pH 7,0, $5 \mu\text{S}/\text{cm}$ de condutividade). A seguir, as sementes são alocadas com pouca incidência de luz ambiente em uma estufa de germinação, previamente desinfetada com álcool 70 %, permanecendo por três dias com temperatura de 22 ± 1 °C, pois segundo Miranda (2006), a temperatura ideal para a germinação do trigo encontra-se entre 18 a 27 °C. Esse período de três dias foi escolhido para os testes, pois ao final do terceiro dia as sementes já apresentavam as suas plântulas para o grupo controle apresentado na Fotografia 2 (a) e para o grupo de sementes tratadas com a dose de 150 mL do i.a. THX apresentado na Fotografia 2 (b).

Fotografia 2 - Amostra de sementes de trigo - grupo controle (a) e grupo de sementes tratadas com a dose de 150 mL do i.a. THX (b) - no terceiro dia após a instalação do teste



Fonte: Autoria Própria (2021).

No fim do terceiro dia dentro da estufa de germinação, as sementes recebem mais 2 mL de água deionizada. Em seguida, as sementes são levadas até a câmara de fotocontagem com pouca incidência de luz ambiente. Vale lembrar que, a câmara de fotocontagem, antes do início dos testes, é previamente ligada e é aguardado um tempo para a válvula fotomultiplicadora ficar em equilíbrio térmico, no caso dos testes apresentados neste trabalho, a temperatura escolhida foi de 10 ± 1 °C. Além disso, a câmara de fotocontagem permaneceu em um ambiente com temperatura controlada com o auxílio de um ar condicionado externo em 22 ± 1 °C. Após a acomodação das sementes dentro da câmara de fotocontagem, espera-se 30 min para iniciar a

aquisição dos dados evitando a DL. As sementes permanecem dentro da câmara de fotocontagem por dois dias (48 h).

Ao final de cada um dos testes, as sementes foram retiradas da placa de Petri, então, é retirado o excesso do irrigante com um papel toalha, e estas são pesadas novamente, utilizando a mesma balança de precisão. Então, da massa final foi subtraída a massa seca inicial e obtido o ganho de biomassa logo após o fim dos testes. Ademais, foram realizadas as leituras dos CPA de cada uma das plântulas com o auxílio de uma régua milimetrada e, ao final, faz-se uma média para cada réplica.

Após a aquisição os dados de fotocontagem foram analisados, tanto dos testes de ruído de escuro, quanto dos testes com sementes de trigo. Inicialmente, foi aplicada a suavização dos perfis temporais pela média de suas 100 amostras de dados adjacentes, e em seguida, os perfis de emissões temporais das fotocontagens associados às UWPEs foram plotados. Além disso, foram realizadas análises estatísticas. De modo que, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, no caso de efeito significativo, as médias foram comparadas entre si, pelo teste de Scott-Knott, a uma probabilidade de erro de 5 %. Além disso, as médias também foram comparadas com as médias do grupo controle e com as médias do grupo tratado com a dose recomendada pelo fabricante (150 mL do i.a. THX), separadamente, pelo teste de Dunnett a uma probabilidade de erro de 5 %.

3.3 Instrumentação e metodologia para obter os espectros de absorção na região do ultravioleta até o visível

O equipamento empregado foi o espectrômetro de marca Varian® modelo Carry 50 Conc, conforme a Fotografia 3, alocado no laboratório LAMAQ do Departamento de Química e Biologia (DAQBI) do campus Ecoville da UTFPR.

Fotografia 3 - Espectrofotômetro de UV-Vis



Fonte: Autoria Própria (2021).

Foram realizados testes para conhecer a absorvância das diferentes doses de tratamento com o i.a. THX através da espectroscopia na região do UV-Vis. Assim, as diferentes doses de tratamento, conforme a Tabela 3 da seção 3.1., foram diluídas (atendendo a uma das condições da Lei Lambert - Beer (SKOOG *et al.*, 2005, p.689)) da seguinte forma: foram retirados 0,01 mL de cada calda e em seguida, esta quantidade foi diluída em 10 mL de água caracterizando uma diluição de 1000 vezes. Os volumes utilizados foram grandes com o objetivo de analisar a suspensão. Além disso, as diluições foram necessárias para que fosse possível realizar as leituras de absorvância até 1,0 u.a. de cada dose do i.a. THX, seguindo a Lei de Lambert - Beer. Em outras palavras, as diluições foram realizadas com o objetivo de atender o limite de linearidade da Lei de Lambert - Beer, no qual, quando ultrapassado, a proporcionalidade linear entre a dose e absorvância deixa de existir (SKOOG *et al.*, 2005, p.689).

3.4 Metodologia para obter os resultados não óticos

A seguir serão descritas as metodologias empregadas para obter os resultados dos ensaios não óticos (testes padrão). Para todos os resultados, foram realizadas análises estatísticas. De modo que os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, no caso de efeito significativo, as médias foram comparadas entre si, pelo teste de Scott-Knott, a uma probabilidade de erro de 5 %. Além disso, as médias também foram comparadas com as médias do grupo controle e com as médias do grupo tratado com a dose recomendada pelo fabricante (150 mL do i.a. THX), separadamente, pelo teste de Dunnett a uma probabilidade de erro de 5 %.

3.4.1 Emergência em areia

O teste de emergência em areia foi realizado no Laboratório da Empresa Sementes Mutuca. As etapas dos procedimentos foram estabelecidas segundo a RAS (BRASIL, 2009a) e o experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado (DIC). As sementes de trigo de cada grupo de tratamento, conforme descrito na seção 3.1., depois de homogeneizadas, foram contadas e escolhidas ao acaso 400 sementes de cada um dos grupos. Então, o teste foi realizado em quatro repetições de 100 sementes.

Bandejas de plástico (dimensões 0,45 x 0,30 x 0,10 m) foram preenchidas com 2 kg de areia previamente esterilizada em autoclave, em seguida, foram distribuídos sobre a areia 300 mL de água. Então, as 100 sementes de cada uma das repetições foram semeadas com profundidade aproximada de 0,05 m. Em seguida, as bandejas com a areia e as sementes foram colocadas na sala de germinação com temperatura constante de 20 °C durante oito dias e luz constante.

A PCE foi conduzida em conjunto com o ensaio de emergência em areia e realizada no quarto dia após a instalação do teste. Nessa avaliação foram consideradas germinadas aquelas sementes que apresentavam parte aérea da plântula com pelo menos 0,001 m acima da areia.

A contagem final de emergência (CFE) foi realizada no oitavo dia após a instalação do teste (ou semeadura), onde foi registrado o número de plântulas normais, conforme as especificações descritas nas RAS:

Plântulas normais: plântulas intactas com todas as suas estruturas essenciais bem desenvolvidas, completas, proporcionais e saudáveis; plântulas que apresentam pequenos defeitos, mas que mostram um desenvolvimento satisfatório; e plântulas com infecção secundária, mas que seja possível verificar todas as estruturas essenciais;

Plântulas anormais: plântulas que não apresentaram potencial para continuar seu desenvolvimento. São classificadas em: plântulas danificadas, deformadas ou deterioradas;

Sementes duras: sementes que permanecem sem absorver água por um período mais longo que o normal. Portanto, no final do teste estão com aspecto de sementes recém-colocadas no substrato;

Sementes dormentes: sementes viáveis, mas que não germinaram em condições favoráveis;

Sementes mortas: sementes que no final do teste não germinam, não estão duras, nem dormentes. Podem apresentar-se amolecidas, atacadas por microrganismos. Essas sementes não apresentam nenhum sinal de início da germinação (BRASIL, 2009a, p.155).

A razão entre o número de plântulas normais no quarto e no oitavo dia após a instalação do teste e o número de sementes colocadas para germinar representam a porcentagem da PCE e CFE, respectivamente, para cada repetição. O resultado final da PCE e CFE é dado em porcentagem média referente às médias das quatro repetições de cada grupo (BRASIL, 2009a).

Ademais, foi calculado o IVE, assim avaliações foram realizadas no quarto, quinto, sexto, sétimo e oitavo dia após a instalação do teste, registrando-se o número de plântulas normais emergidas. Os IVE são calculados individualmente para cada uma das quatro repetições de cada grupo através da equação (2) e, em seguida, é calculada a média dos índices das quatro repetições para cada um dos grupos de sementes (BRASIL, 2009a; NAKAWAGA, 1999).

Para o cálculo IVE foi empregada a equação sugerida por Maguire (1962):

$$IVE = \frac{N_1}{D_1} + \frac{N_2 - N_1}{D_2} + \dots + \frac{N_n - N_{n-1}}{D_n} \quad (2)$$

Em que:

$N_1, N_2 \dots N_n$ = número de plântulas emergidas no primeiro dia de contagem, no segundo até o último dia de contagem;

$D_1, D_2 \dots D_n$ = número de dias contados após a instalação do teste.

Vale uma observação que, para o teste de emergência em areia, a equação de Maguire (1962) foi adaptada, pois devido a areia, as plântulas normais que foram contadas na PCE não foram retiradas. Dessa forma, na equação, as sementes já contadas nos dias anteriores foram descontadas.

Os testes da PCE e do IVE foram realizados, pois são testes de vigor baseados no desempenho das plântulas (MARCOS FILHO, 2005, p. 483).

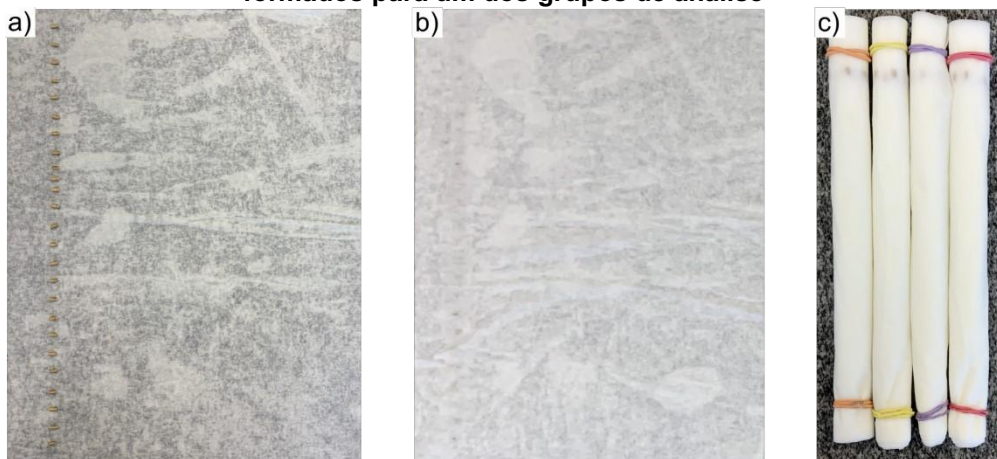
3.4.2 Medidas dos comprimentos das partes aéreas, das raízes primárias e da massa seca das plântulas de trigo do primeiro ao quinto dia e no oitavo dia após a instalação do teste

Para avaliar as possíveis diferenças no nível vigor de cada um dos grupos de sementes foram realizadas as leituras dos CPA, CR e das MS das plântulas normais de trigo. Esse tipo de teste pode ser empregado para avaliar diferenças sutis na qualidade fisiológica das sementes e diferenciar lotes com germinação semelhantes, pois as primeiras alterações bioquímicas que são associadas à deterioração podem ocorrer antes que seja perceptível o declínio da porcentagem de germinação (MARCOS FILHO, 2005, p. 469; SILVA; MARCOS FILHO; KRZYZANOWSKI, 2013; VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999).

As leituras foram realizadas nos Laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (Bromatologia, LAPREBB e LATAR). As etapas dos procedimentos foram adaptadas das RAS (BRASIL, 2009a) e de Nakagawa (1999). O experimento foi instalado em DIC e as sementes de trigo de cada grupo de tratamento, conforme descrito na seção 3.1., foram separadas ao acaso. Para os testes realizados do primeiro ao quinto dia após a instalação do teste, foram realizadas quatro repetições de 25 sementes para cada grupo. Já para o teste das medidas no oitavo dia após a instalação do teste, foram realizadas duas repetições de 50 sementes para cada um dos grupos.

O procedimento para as medidas seguiu as seguintes instruções: as folhas de papel para germinação de sementes (28 x 38 cm com 65 g) da marca J. PROLAB® foram pesadas e umedecidas com um volume de água da deionizada equivalente a duas vezes e meia a massa do substrato seco. Em seguida, as sementes foram colocadas sobre duas folhas (Fotografia 4 (a)) e cobertas com uma terceira (Fotografia 4 (b)) formando o rolo (Fotografia 4 (c)).

Fotografia 4 - a) Sementes sobre duas folhas de papel (primeira repetição); b) Sementes sobre duas folhas de papel cobertas com a terceira folha de papel (primeira repetição); c) Rolos formados para um dos grupos de análise



Fonte: Autoria Própria (2021).

Posteriormente, os rolos foram colocados em sacos plásticos (Fotografia 5 (a)). Em seguida, todos os rolos foram acondicionados em pé com inclinação de 75 ° em uma em câmara para germinação com fotoperíodo SL 224 da Solab®, previamente desinfetada com álcool 70 %, regulada com temperatura constante de 20 ± 1 °C sob fotoperíodo de 12 h (Fotografia 5 (b)).

Fotografia 5 - a) Quatro repetições do grupo controle acomodadas no saco plástico; b) repetições de cada grupo de sementes acomodadas na câmara de germinação

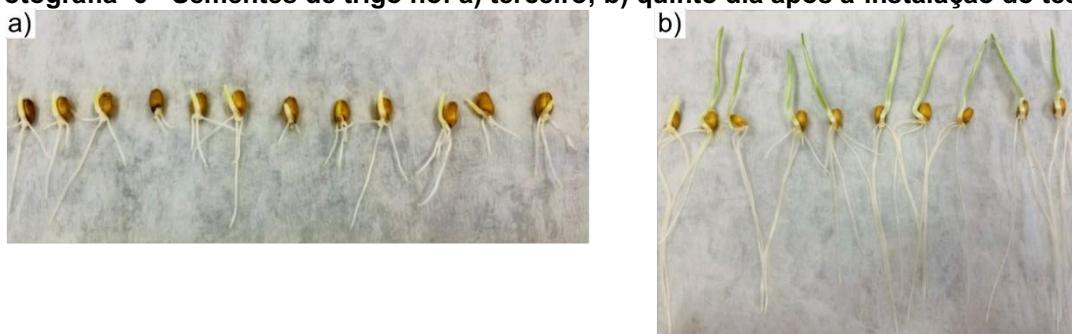


Fonte: Autoria Própria (2021).

Para os testes realizados do primeiro ao quinto dia após a instalação do teste, a cada 24 h um conjunto de quatro rolos de cada dose de tratamento foi retirado da câmara para germinação. Já para o teste das medidas no oitavo dia após a instalação do teste, as medidas foram realizadas apenas quando as amostras dos grupos completaram oito dias dentro da câmara.

Então, após os períodos mencionados, foram realizadas as leituras dos CPA e CR em cada uma das plântulas normais, com o auxílio de uma régua milimetrada. Podem ser observados exemplos de plântulas medidas no terceiro (Fotografia 6 (a)) e no quinto dia (Fotografia 6 (b)) após a instalação dos testes.

Fotografia 6 - Sementes de trigo no: a) terceiro; b) quinto dia após a instalação do teste



Fonte: Autoria Própria (2021).

Ao final das leituras, os comprimentos de cada uma das repetições são somados. Então, o CPA e CR são calculados a partir da razão entre a soma de cada repetição e o número de plântulas mensuradas. Em seguida, faz-se uma média com o resultado das repetições de cada grupo. Os resultados são expressos em centímetros (cm) (NAKAGAWA, 1999).

Após as leituras dos comprimentos, as plântulas normais separadas por repetição foram colocadas em um cadinho de porcelana e deixadas para secar em estufa termoeletrica da marca Sterilifer® regulada a 80 °C durante 24 h. Além disso, os pericarpos externos e internos e os tegumentos (cascas) das sementes também foram acondicionados, separadamente, na estufa para a secagem. Podem-se observar as partes aéreas das plântulas na Fotografia 7 (a), os pericarpos externos e internos e os tegumentos (cascas) das sementes na Fotografia 7 (b) e as raízes na Fotografia 7 (c) que foram fotografadas no oitavo dia após a instalação do teste.

Após a secagem, as plântulas do terceiro ao quinto e oitavo dia foram retiradas, pesadas utilizando a balança analítica com precisão de leitura de 0,0001 g da marca Edutec®. Ao final, a MS é calculada a partir da razão entre a massa das plantas normais e o número de plântulas mensuradas em cada uma das repetições. Em

seguida, faz-se uma média com o resultado das repetições de cada grupo e os resultados são expressos em gramas (g) (NAKAGAWA, 1999).

Fotografia 7 - a) Partes aéreas; b) Pericarpos externos e internos e os tegumentos; c) Raízes no oitavo dia após a instalação do teste



Fonte: Autoria Própria (2021).

Destaca-se que as leituras dos CPA e CR nos dois primeiros dias após a instalação do teste não foram realizadas (não ocorreu crescimento significativo), mas essas amostras foram colocadas para secar e pesadas para o seu posterior uso na técnica de FTIR que será descrita na subseção 3.5. Além disso, a massa dos pericarpos externos e internos e os tegumentos das sementes não germinadas são calculadas a partir da razão entre a massa e o número de plântulas usadas em cada uma das repetições. Por fim, faz-se uma média com o resultado das repetições de cada grupo e os resultados são expressos em gramas (g).

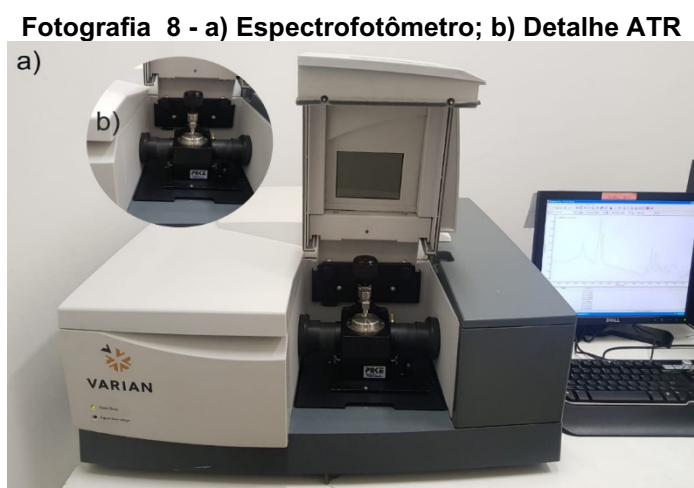
3.5 Instrumentação e metodologia aplicadas para obter os espectros de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier

As amostras utilizadas para obter os espectros FTIR foram elaboradas dia a dia do primeiro até o quinto dia após a instalação do teste de leitura dos comprimentos das plântulas normais, tal procedimento foi descrito na subseção 3.4.2., porém as leituras foram realizadas com quatro amostras, todavia foram obtidos espectros

apenas para as três amostras desse teste. Assim, as plântulas e os pericarpos externos e internos e os tegumentos (casca) das sementes, ao final dos testes das leituras dos comprimentos das plântulas do primeiro ao quinto dia após a instalação do teste, foram misturadas e maceradas em um almofariz. Então, foram obtidas amostras separadas por dia de análise, dose de tratamento e por réplica. Em seguida, cada uma das réplicas foi acondicionada em frascos individuais de vidro com capacidade de 10 mL com tampa previamente esterilizada em temperatura de 120 ± 10 °C por 15 min. Esses tubos foram levados ao dessecador, permanecendo até o início dos ensaios de FTIR.

O equipamento empregado foi o espectrômetro de marca Varian® modelo 640 IR, conforme a Fotografia 8 (a), localizado no laboratório LAMAQ do Departamento de Química e Biologia (DAQBI) do campus Ecoville da UTFPR.

Para a aquisição dos espectros das amostras de sementes de trigo foi utilizado o acessório universal de amostragem de ATR (marca Pike®, modelo Miracle), conforme a Fotografia 8 (b), com um cristal de Seleneto de Zinco (ZnSe), com resolução de 4 cm^{-1} , e região de leitura de 4000 a 650 cm^{-1} (região do MIR) em 32 scans. Dessa forma, todos os espectros deste trabalho foram obtidos com o ATR, mas essa informação estará omitida no decorrer do trabalho



Fonte: Autoria Própria (2021).

Devido à variação de umidade do ar na sala do espectrofotômetro, as concentrações de gás carbônico (CO_2) e água podem variar. Desse modo, para minimizar o ruído proveniente desses fatores, o aparelho de desumidificação do ar permaneceu ligado durante as aquisições. Além disso, as duas bandas próximas ao $\tilde{\nu}$ de 2400 cm^{-1} são referentes ao CO_2 residual presente na sala que não é eliminado mesmo realizando o espectro de fundo.

Primeiramente, foi realizado o registro do espectro de fundo que foi subtraído automaticamente dos espectros das amostras com o objetivo de remover a interferência do espectro do ar das amostras moídas das sementes de trigo.

Foram analisadas amostras com cinco diferentes doses em triplicata ao longo de cinco dias totalizando 75 medidas. Para analisar os dados, em cada espectro foi corrigida a linha de base utilizando uma suavização pela média com polinômio de segunda ordem, o resultado obtido é consistente ao obtido por Demir; Onde; Severcan, (2015). Após esse processo, os espectros foram normalizados um a um pelo seu valor da banda da água (3301 cm^{-1}) para eliminar diferenças entre os espectros devido à absorção resultante da diferença de concentração das amostras em cada análise (ÅKERHOLM; HINTERSTOISSER; SALMÉN, 2004). Ao final, para cada dia de análise, foi realizada uma média das triplicatas de cada um dos grupos. Destaque-se que as doses de tratamento do i.a. THX empregadas foram: 75, 150, 225 e 300 mL. Além disso, foram analisadas sementes sem tratamento (grupo controle).

Após esta etapa, os espectros médios foram divididos em seis partes e, então, realizados ajustes lorentzianos. Os números de onda analisados neste trabalho se baseiam nas apresentadas por Demir; Onde; Severcan, (2015). Assim, foram determinadas as posições centrais de cada uma das 27 bandas de análise.

Além da análise de comparação das bandas, uma segunda técnica foi utilizada. Nesta técnica a região conhecida como *fingerprint*, faixa de 800 a 1500 cm^{-1} foi selecionada em cada uma das 75 medidas. Esses espectros, após passarem pelo processo de normalização pelo seu valor da banda com o $\tilde{\nu}$ centrado em 997 cm^{-1} , tiveram a sua dimensionalidade reduzida através de um dos métodos quimiométricos, a técnica de análises dos componentes principais (do inglês, *Principal Component Analysis* - PCA). A análise PCA é uma técnica matemática multivariada que reduz a dimensionalidade dos dados iniciais através de uma transformação ortogonal. Esses dados iniciais são transformados em um novo conjunto de dados com variáveis que não são correlacionadas, os componentes principais (do inglês, *Principal Components* - PC) (LARIOS, *et al.*, 2020b). Para os espectros de absorção esta transformação corresponde à redução dos valores de absorvâncias em função do $\tilde{\nu}$ em um único ponto (DEMIR; ONDE; SERVERCAN, 2015). Assim, a análise multivariada, com base na PCA, foi empregada com o objetivo de diferenciar as sementes tratadas com diferentes doses do i.a. THX e grupo controle em função dos dias de análise.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo, na primeira etapa, serão apresentados os resultados obtidos através das técnicas anteriormente descritas. Primeiramente, as análises serão relacionadas aos ensaios das UWPEs. Em seguida, serão apresentados e discutidos os resultados dos ensaios não óticos. Então, será realizada uma correlação simples entre os ensaios não óticos e os ensaios das UWPEs. Por fim, serão discutidos os espectros de absorção obtidos através da aplicação da técnica de FTIR.

Na segunda etapa, serão apresentados os resultados obtidos pelas técnicas da primeira etapa, mas aplicadas em sementes de trigo com diferentes níveis de vigor previamente conhecidos.

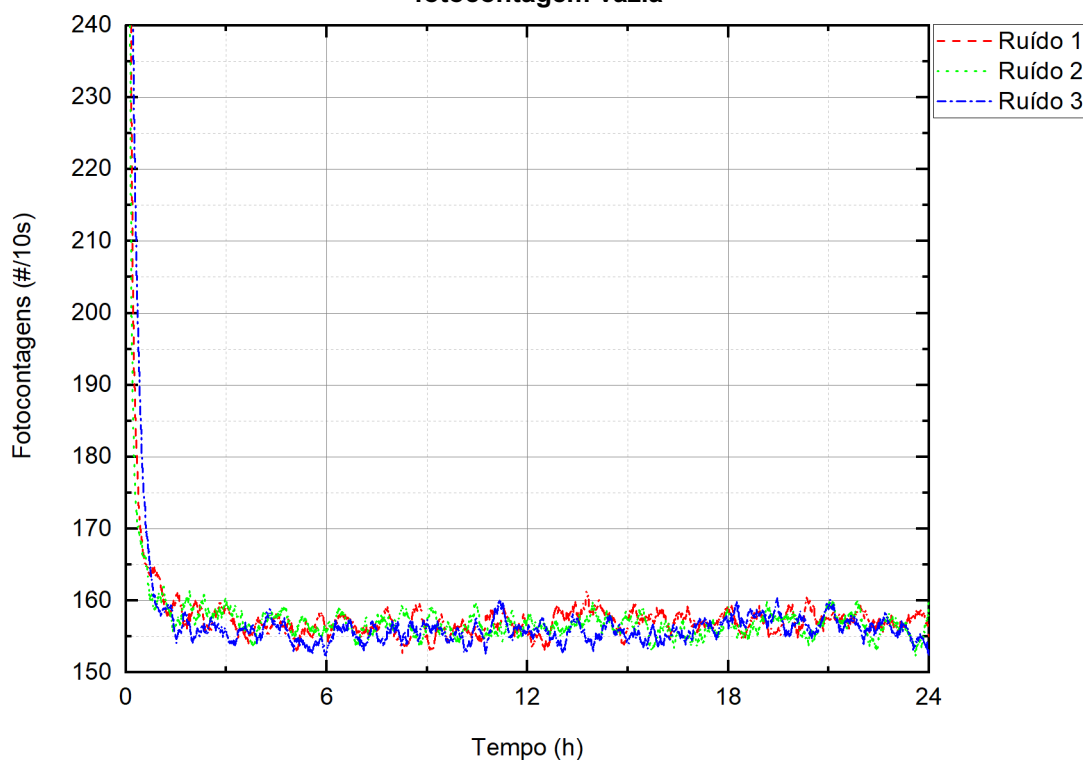
4.1 Ensaios das UWPEs

Nas subseções seguintes serão apresentados os resultados referentes aos ensaios das UWPEs com sementes de trigo tratadas com diferentes doses de tratamento com o i.a. THX e do grupo controle. Esses perfis foram obtidos através da câmara de fotocontagem apresentada na seção 3.2. Vale mencionar que, os dados foram coletados com um tempo de integração escolhido de 10 segundos (#/10s).

4.1.1 Perfil temporal do ruído de escuro da câmara de fotocontagem vazia

Sem amostras biológicas no interior da câmara de fotocontagem (mantida com temperatura ambiente de 22 ± 1 °C) é possível observar o seu comportamento de ruído de escuro. Tal ruído deve apresentar taxas estáveis de fotocontagem ao longo do tempo de acordo com a temperatura de estabilização da válvula de fotomultiplicadora que para os ensaios deste trabalho é 10 ± 1 °C. Assim, três réplicas (ou testes) foram realizadas durante 24 h cada uma. Esse procedimento foi realizado com o objetivo de aferir o ruído de escuro da câmara de fotocontagem, ou seja, o comportamento somente da câmara de fotocontagem. Após o período de 24 h, os dados de fotocontagem foram suavizados pela média de suas 100 amostras de dados adjacentes e plotados os perfis de emissões temporais das fotocontagens, como mostra o Gráfico 1.

Gráfico 1 - Três perfis temporais das fotocontagens - ruído de escuro da câmara de fotocontagem vazia



Fonte: Autoria Própria (2021).

A DL resultante da ação de abertura da câmara de fotocontagem antes de iniciar os testes pode ser observada no Gráfico 1 e apresenta um decaimento rápido. Além disso, foi possível observar que a taxa dos três testes se manteve constante ao longo do tempo. Isso indica que a metodologia utilizada para manter a temperatura da válvula fotomultiplicadora estável é adequada, evitando a interferência do comportamento do aparato.

Os resultados das análises estatísticas dos somatórios totais das fotocontagens, das médias e dos desvios padrões dos testes de ruído de escuro da câmara durante o período de 24 h são apresentados na Tabela 4

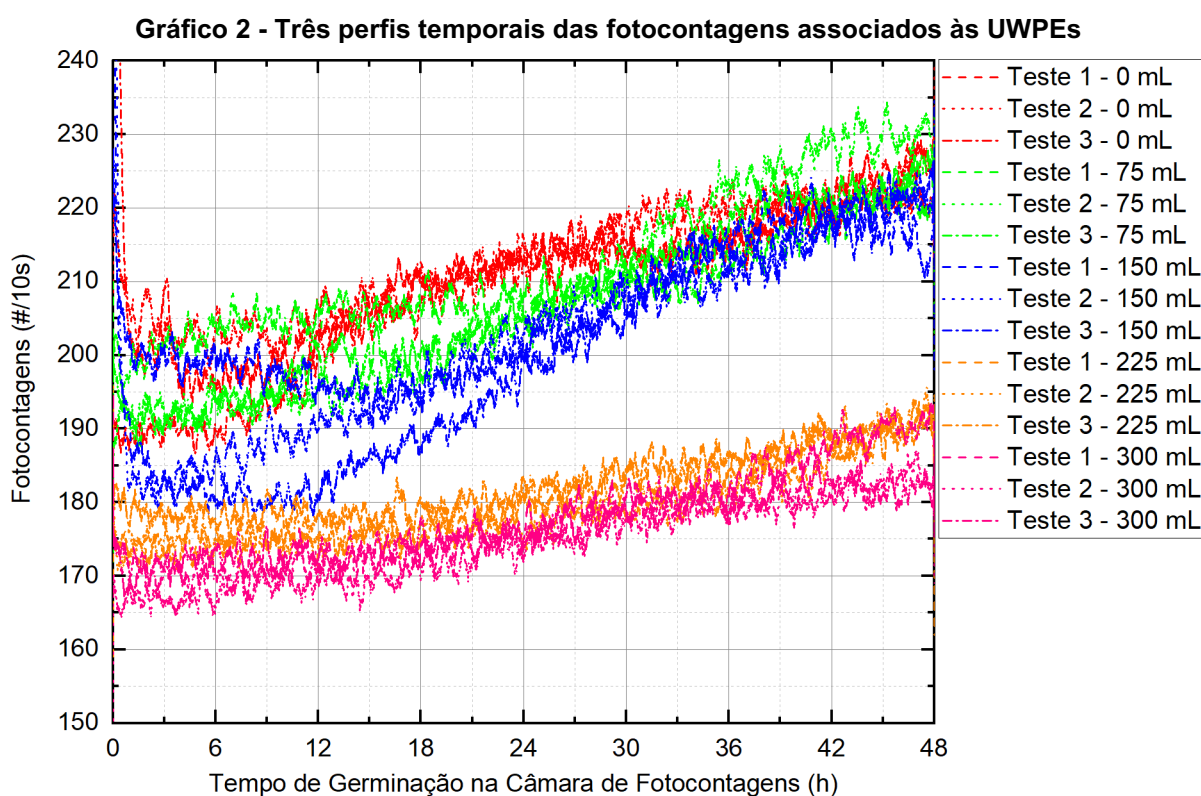
Tabela 4 - Parâmetros estatísticos das fotocontagens dos três testes - ruído de escuro da câmara de fotocontagem vazia.

	Somatório total das fotocontagens ($\times 10^6$) (u.a.)	Média das fotocontagens (u.a.)
Ruído 1	1,38	159,52 \pm 29
Ruído 2	1,37	158,16 \pm 15
Ruído 3	1,37	158,18 \pm 17

Fonte: Autoria Própria (2021).

4.1.2 Perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs

No Gráfico 2 são apresentados os três perfis temporais das fotocontagens das sementes de trigo para cada um dos cinco grupos de sementes de trigo, como descrito na seção 3.1, coletados durante 48 h. Os dados foram suavizados pela média de suas 100 amostras de dados adjacentes.



Em todos os testes realizados nas sementes de trigo dos cinco grupos, os perfis temporais apresentaram um aumento nas fotocontagens ao longo das 48 h de análise.

Para o grupo controle e o tratado com a dose de 75 mL do i.a. THX o comportamento do perfil é similar, ou seja, começando em aproximadamente 190 e chegando a 230 u.a. #/10s. Já para o grupo tratado com a dose recomendada pelo fabricante ocorreram crescimentos menores evidenciados pelos valores dos somatórios totais comparativamente aos primeiros grupos e as UWPEs iniciaram em aproximadamente 180 e chegando a 220 u.a. #/10s.

Em todos os testes realizados nos grupos mais estressados (tratados com as doses de 225 e 300 mL do i.a. TXT), os perfis temporais apresentaram menores incrementos nas fotocontagens ao longo das 48 h quando esses comportamentos são

comparados às menores doses de tratamento e ao grupo controle. Para esses testes as UWPEs iniciaram em aproximadamente 170 e aproximaram-se de 190 u.a. #/10s.

Nos cinco grupos de sementes os ritmos de crescimentos assemelham-se à curva típica da dinâmica da UWPE durante a germinação apresentada por Yan (2005) em sementes de cevada e Popp e Chang (1998) em sementes de pepino. Além disso, para os três primeiros grupos esses perfis assemelham-se às fases de absorção de água pelas sementes (MARCOS FILHO, 2005, p. 204 e 229; TAIZ *et al.*, 2017, p. 521), apresentado na subseção 2.1.3., mas os perfis temporais dos grupos mais estressados, às fases de absorção de água pelas sementes, não foram claramente identificados.

As análises estatísticas foram realizadas nos somatórios totais das fotocontagens para todos os testes dos grupos de sementes de trigo durante o período de 48 h e são apresentados na Tabela 5

Tabela 5 - Parâmetros estatísticos das fotocontagens dos testes para cada um dos grupos de sementes de trigo

Teste - Dose do i.a. THX (mL)	Somatório total das fotocontagens ($\times 10^6$) (u.a.)	Média das fotocontagens (u.a.)
1 - 0 mL	3,60	208,37 \pm 11
2 - 0 mL	3,68	212,96 \pm 17
3 - 0 mL	3,67	212,20 \pm 19
1 - 75 mL	3,62	209,44 \pm 7
2 - 75 mL	3,59	208,06 \pm 14
3 - 75 mL	3,57	206,86 \pm 11
1 - 150 mL	3,44	199,35 \pm 15
2 - 150 mL	3,50	202,34 \pm 14
3 - 150 mL	3,55	205,23 \pm 9
1 - 225 mL	3,11	180,07 \pm 6
2 - 225 mL	3,09	179,14 \pm 5
3 - 225 mL	3,15	182,56 \pm 4
1 - 300 mL	3,07	177,55 \pm 7
2 - 300 mL	3,01	174,43 \pm 5
3 - 300 mL	3,05	176,69 \pm 4

Fonte: Autoria Própria (2021).

Nota-se que os perfis temporais das fotocontagens dos grupos de sementes tratadas diferem dos perfis apresentados pelo de ruído de escuro da câmara de fotocontagem vazia.

Quando são comparados estatisticamente os testes com sementes de trigo tratadas com a dose de 75 mL do i.a. THX aos testes do grupo controle não há diferença significativa. Esse resultado é semelhante quando o grupo tratado com a

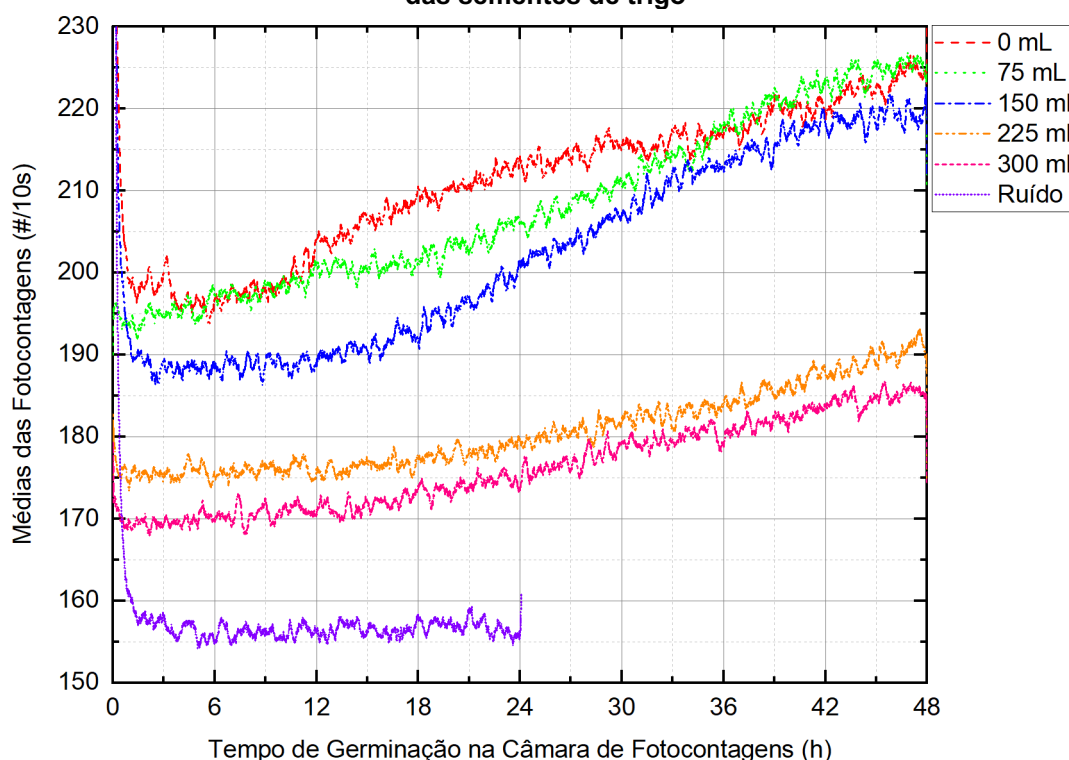
dose de 150 mL do i.a. THX é comparado estatisticamente aos testes do grupo controle e as sementes tratadas com a dose de 75 mL do i.a. THX.

Em relação aos grupos mais estressados há diferenças estatisticamente significativas entre esses grupos e os grupos das sementes tratadas com as doses de 75 e 150 mL do i.a. THX e o grupo controle, com exceção do Teste 1 do grupo tratado com a dose de 225 mL do i.a. THX que não apresenta diferença significativa do Teste 1 das sementes tratadas com a dose de 150 mL do i.a. THX. Além disso, não há diferença estatisticamente significativa entre os grupos mais estressados.

4.1.3 Análises dos resultados - ensaios das UWPEs

No Gráfico 3 são apresentadas as médias dos três perfis temporais para cada um dos grupos de sementes de trigo analisados. Além disso, é apresentada a média para os perfis temporais do ruído de escuro da câmara de fotocontagem vazia.

Gráfico 3 - Médias dos três perfis temporais das fotocontagens para o ruído de escuro da câmara de fotocontagem vazia e perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs das sementes de trigo



Fonte: Autoria Própria (2021).

As médias e as suas comparações para os ensaios das UWPEs são apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 - Médias dos somatórios totais das fotocontagens, médias dos ganhos totais de biomassas logo após o fim dos testes e médias dos CPA das plântulas normais - Ensaio das UWPEs

Dose do i.a. THX (mL)	Somatório total das fotocontagens (x 10 ⁶) (u.a.)		Ganho de biomassa logo após o fim dos testes (g)		Média dos CPA (cm)
0	3,65 ± 0,04	a #	3,66 ± 0,20	e #	4,86 ± 0,40 g
75	3,59 ± 0,02	a	3,30 ± 0,32	f	4,31 ± 0,62 g
150	3,50 ± 0,05	b *	3,03 ± 0,16	f *	4,49 ± 0,55 g
225	3,12 ± 0,03	c * #	3,16 ± 0,07	f *	4,87 ± 0,15 g
300	3,04 ± 0,03	d * #	3,14 ± 0,03	f *	4,31 ± 0,56 g
Média Geral	3,38		3,26		4,57
C.V.	1,14		5,74		10,68

Nota: Na coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade; médias seguidas de * diferem estatisticamente do grupo controle, pelo teste de Dunnett, a 5 % de probabilidade; médias seguidas de # diferem estatisticamente do grupo tratado com a dose de 150 mL do i.a. THX, pelo teste de Dunnett, a 5 % de probabilidade; coeficiente de variância (C.V.).

Fonte: Autoria Própria (2021).

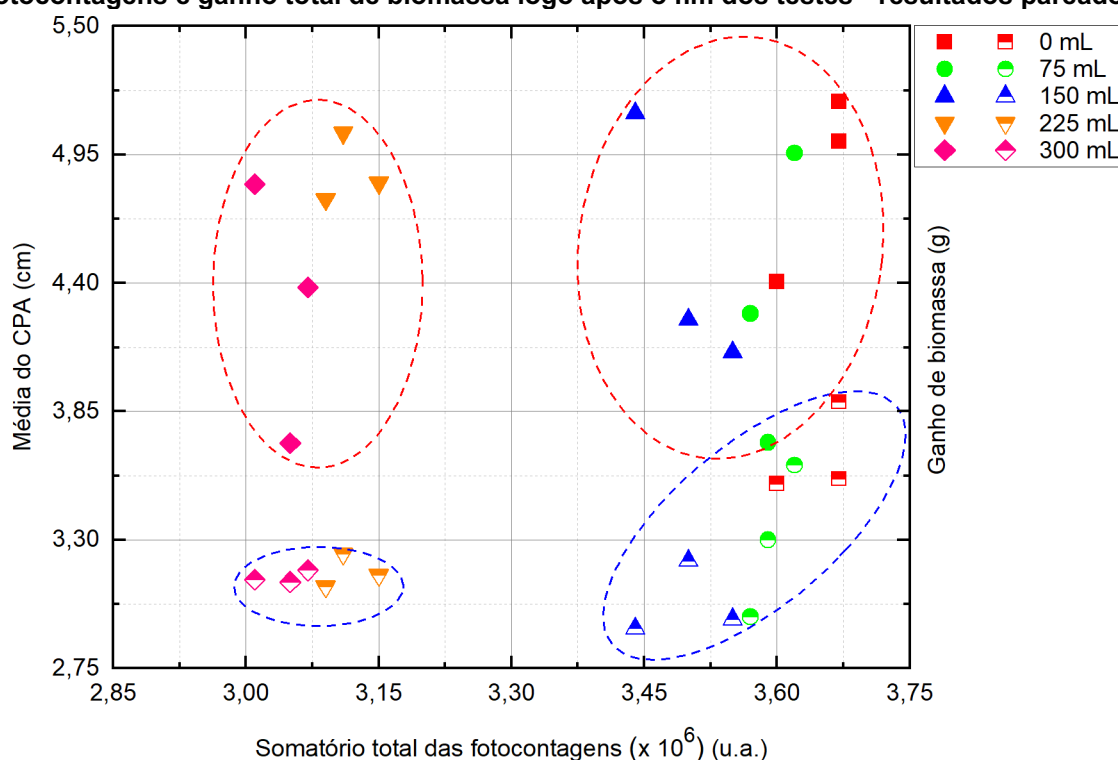
Em relação à média do somatório total das fotocontagens não há diferença significativa entre o grupo controle e para a menor dose de tratamento (75 mL do i.a. THX). Contudo, há diferença significativa entre as médias do somatório total das fotocontagens dos grupos de sementes tratadas com a dose recomendada (150 mL do i.a. THX) e grupos mais estressados (225 e 300 mL do i.a. THX), e para o subgrupo que engloba o grupo controle e a menor dose de tratamento, pelo teste de Scott-Knott. Ademais, os grupos tratados com a dose recomendada pelo fabricante e com os grupos mais estressados (altas doses) têm suas médias do somatório total das fotocontagens significativamente diferenciadas do grupo controle, pelo teste de Dunnett, representada na Tabela 6 pelo símbolo *. Também pelo teste de Dunnett, as médias do somatório total das fotocontagens do grupo controle e os grupos mais estressados são significativamente diferenciados o grupo tratado com a dose recomendada, representada na Tabela 6 pelo símbolo #.

Já em relação às médias dos ganhos de biomassas logo após o fim dos testes há diferença significativa, pelo teste de Scott-Knott, entre o grupo controle e os grupos tratados. Ademais, os grupos tratados com a dose recomendada pelo fabricante e os grupos mais estressados têm suas médias significativamente diferenciadas do grupo controle, pelo teste de Dunnett, representada na Tabela 6 pelo símbolo *. Também pelo teste de Dunnett a média do ganho de biomassa do grupo controle é significativamente diferente da dose recomendada, representada na Tabela 6 pelo símbolo #.

Em relação às médias dos CPA das plântulas normais, através da análise, pelo teste de Scott-Knott, verifica-se que os grupos não apresentam diferenças significativas entre si.

No Gráfico 4 são apresentadas as relações entre o somatório total das fotocontagens, a média do CPA e o ganho de biomassa logo após o fim dos testes envolvendo os cinco grupos de análise. Podem-se dividir os resultados em dois subgrupos, onde os resultados referentes aos grupos mais estressados podem ser agrupados em um único subgrupo exibindo menor somatório total das fotocontagens. Portanto, há indicativos de que quanto maior a dose do i.a. THX empregada no tratamento das sementes menores são os somatórios totais, as possíveis causas de tal efeito será abordado nas subseções 4.2 e 4.3.4.

Gráfico 4 - Relação entre a média do CPA das plântulas normais, o somatório total das fotocontagens e ganho total de biomassa logo após o fim dos testes - resultados pareados



Nota: os símbolos com preenchimento representam os CPA e os símbolos semipreenchidos representam os ganhos de biomassa logo após o fim dos testes.

Fonte: Autoria Própria (2021).

Foi realizada a análise por meio da inclinação dos perfis temporais das fotocontagens que está relacionada ao crescimento linear das plântulas no tempo, como descrito por Gallep e Robert (2020). Sendo que, as inclinações dos perfis temporais foram encontradas através dos ajustes lineares realizados para cada um dos três testes de cada um dos grupos de análise e são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Médias das inclinações dos perfis temporais das fotocontagens - Ensaio das UWPEs

Dose do i.a. THX (mL)	Média da inclinação do perfil temporal ($\times 10^{-6}$) (u.a.)	
0	152,83 \pm 46	a
75	199,86 \pm 75	a
150	210,36 \pm 56	a
225	92,38 \pm 17	b
300	103,52 \pm 27	b
Média Geral	151,79	
C.V.	32,01	

Nota: Na coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade; coeficiente de variância (C.V.).

Fonte: Aatoria Própria (2021).

Para verificar a existência de uma correlação simples entre as inclinações dos perfis temporais e os somatórios totais das fotocontagens elaborou-se a Tabela 8.

Tabela 8 - Coeficiente de correlação de Pearson entre as médias das inclinações dos perfis temporais e as médias dos somatórios totais das fotocontagens

Parâmetros	Médias das inclinações dos perfis temporais das fotocontagens
Médias dos somatórios totais das fotocontagens	0,81

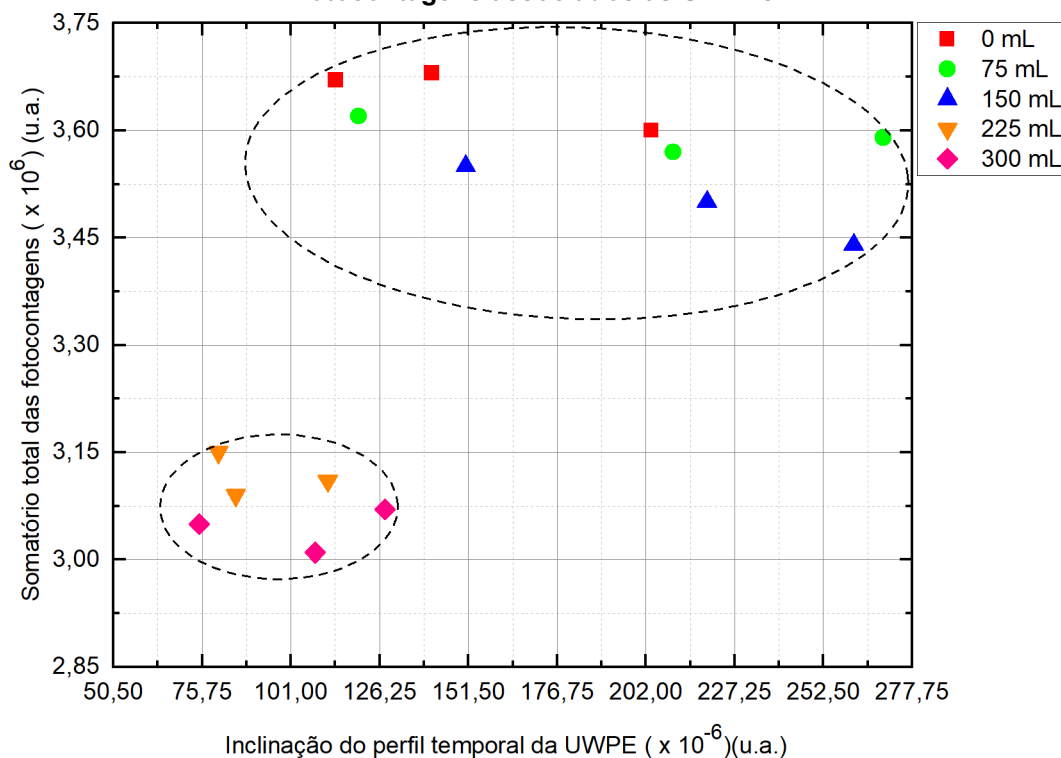
Fonte: Aatoria Própria (2021).

O coeficiente de correlação de Pearson é forte entre esses dois resultados indicando que há uma relação linear entre os dois parâmetros. Dessa forma, quando ocorre uma mudança em um parâmetro há uma mudança proporcional em outro.

No Gráfico 5 são apresentadas as relações entre os somatórios totais e as inclinações dos perfis temporais das fotocontagens. Podem-se dividir os resultados em dois subgrupos, onde os grupos tratados com as altas doses do produto podem ser agrupados em um único subgrupo exibindo menores somatórios totais e menores inclinações dos perfis temporais das fotocontagens em relação aos demais grupos.

É válido ressaltar que todos os perfis temporais apresentaram um aumento na taxa de crescimento das fotocontagens ao longo das 48 h de análise, porém o grupo controle apresentou maior somatório total em relação aos grupos tratados com a dose recomendada (150 mL do i.a. THX) e superiores a ela. Assim, apesar de haver uma taxa de crescimento da UWPE no decorrer do tempo, à medida que a dose de tratamento é incrementada a taxa é menor, tal fato pode ser verificado também pelas inclinações dos perfis temporais que para os grupos mais estressados (225 e 300 mL do i.a. THX) são menores em comparação aos demais grupos, que também pode ser explicado através espectros UV-Vis da próxima subseção combinados com os resultados não óticos da subseção 4.3.1, em especial as médias da PCE e IVE.

Gráfico 5 - Relação entre os somatórios totais e as inclinações dos perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs



Fonte: Autoria Própria (2021).

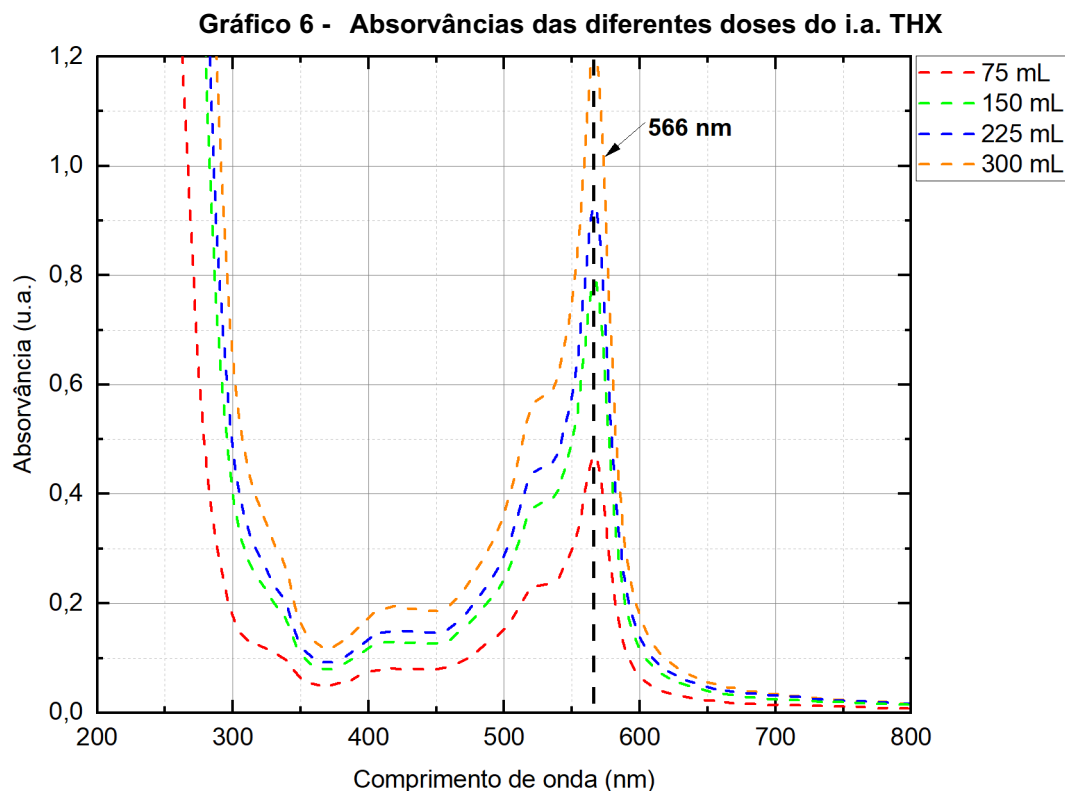
4.2 Espectros UV-VIS das doses de tratamento

Os resultados dos espectros UV - Vis para as diferentes caldas do tratamento referente às diferentes doses do i.a. THX são apresentados no Gráfico 6. Pode-se observar que as doses de tratamento com o i.a. THX elaboradas para os testes deste trabalho possuem diferentes absorvâncias, com destaque ao comprimento de onda centrado em 566 nm.

Grasso *et al.* (1991) mostraram que sementes de soja apresentaram, nas bandas espectrais na região do vermelho (620 a 750 nm) e do UV (200 a 400 nm), maior intensidade da UWPE. Além disso, os mesmos autores mostraram que ela pode ser relacionada aos processos de germinação de sementes vivas (GRASSO *et al.*, 1991).

Há também o trabalho de Boveris *et al.* (1983) que através de análises espectrais da UWPE de sementes de soja observaram que de 50 a 70 % do total da emissão ocorre no comprimento de onda centrado em 600 nm. Dessa forma, através dos espectros das absorvâncias das diferentes doses do i.a. THX empregadas no trabalho, observa-se absorvâncias desde as bandas do UV até o final do espectro da luz visível (200 - 650 nm). Essas absorvâncias aumentam com o incremento das

doses, assim ela pode ser uma das responsáveis pela diminuição observada nos somatórios totais das fotocontagens, pois a UWPE apresenta um espectro de emissão em toda a região do espectro visível.



Portanto, os ensaios relacionados às UWPEs apresentaram diferenças significativas nos perfis temporais que podem ser explicados devido à absorção de comprimentos de onda pelo i.a. THX, porém devem-se conhecer os parâmetros fisiológicos que podem também conectar-se aos resultados encontrados. Sendo assim, na próxima seção serão apresentados os resultados dos ensaios não óticos.

4.3 Ensaios não óticos

Nas subseções seguintes serão apresentados os resultados dos ensaios de emergência em areia e as leituras dos CPA, CR e das MS que foram realizadas do primeiro ao quinto dia e do oitavo dia após a instalação do teste.

4.3.1 Emergência em areia

Nesta subseção serão apresentados os resultados do teste de emergência em areia com sementes de trigo. Através desse teste podem-se obter os resultados: PCE, CFE e o IVE.

4.3.1.1 Primeira contagem de emergência

Os resultados das leituras das plântulas normais na PCE, realizadas no quarto dia após a instalação do teste, são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Porcentagens médias das plântulas normais emergidas no quarto dia após a instalação do teste - PCE

Dose do i.a. THX (mL)	Porcentagem média de emergência das plântulas normais na PCE (%)
0	10,75 ± 0,50 a
75	11,00 ± 1,41 a
150	11,75 ± 1,26 a
225	9,00 ± 0,82 b #
300	7,50 ± 1,00 b * #
Média Geral	10,00
C.V. (%)	10,49

Nota: Na coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade; médias seguidas de * diferem estatisticamente do grupo controle, pelo teste de Dunnett, a 5 % de probabilidade; médias seguidas de # diferem estatisticamente do grupo tratado com a dose de 150 mL do i.a. THX, pelo teste de Dunnett, a 5 % de probabilidade; coeficiente de variância (C.V.).

Fonte: Autoria Própria (2021).

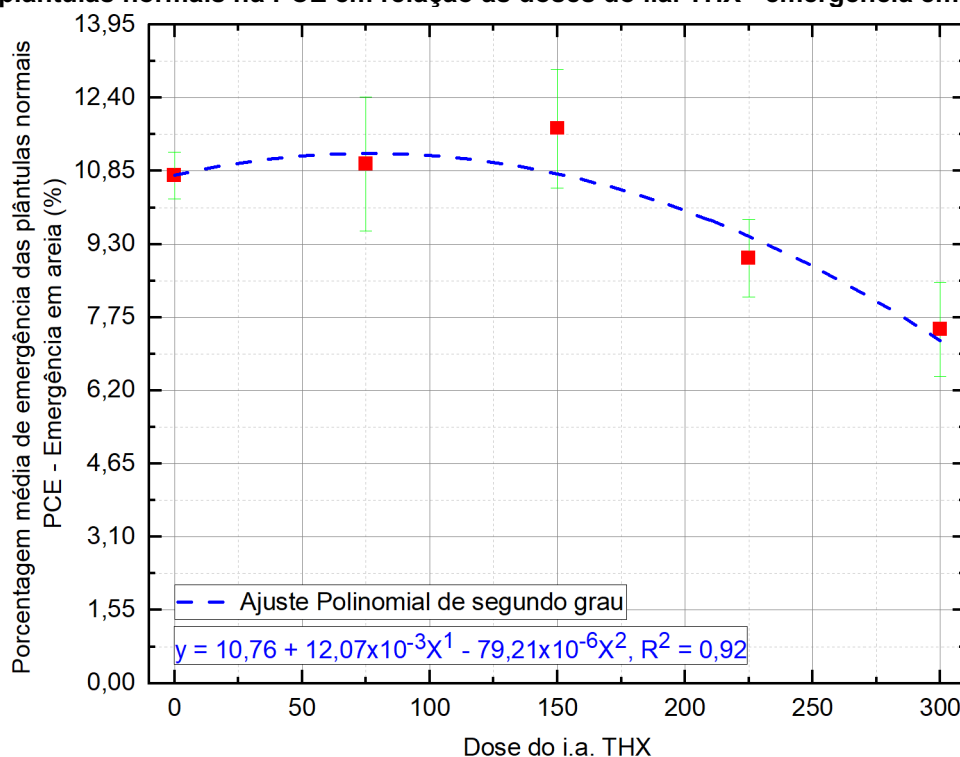
As porcentagens médias de emergência das plântulas normais na PCE do grupo controle e dos grupos tratados com as doses de 75 e 150 mL do i.a. THX são 10,75, 11, 00 e 11,75 %, respectivamente. Essas porcentagens médias foram maiores quando comparadas as porcentagens médias dos demais grupos, e diferem significativamente dos grupos tratados com as maiores doses, pelo teste de Scott-Knott. Assim, de acordo com Nakagawa (1994), os grupos que apresentam maiores porcentagens de plântulas normais na PCE possuem maior nível de vigor comparado aos demais grupos.

As porcentagens médias de emergência dos grupos tratados com as doses de 225 e 300 mL do i.a. THX (grupos mais estressados) obtiveram menores porcentagens médias com 9,00 e 7,50 %, respectivamente. Além disso, o grupo mais estressado (tratado com a dose de 300 mL do i.a. THX) difere significativamente do grupo controle pelo teste de Dunnett, representado na Tabela 9 pelo símbolo *.

Ademais, as porcentagens médias dos grupos de sementes que sofreram maior estresse diferem significativamente da média das sementes tratadas com a dose recomendada pelo fabricante (150 mL do i.a. THX) pelo teste de Dunnett, representado na Tabela 9 pelo símbolo #.

Seguindo a literatura, os resultados das porcentagens médias de emergência das plântulas normais na PCE e seus respectivos desvios padrões em relação às doses do i.a. THX ajustaram-se a regressão polinomial de segunda ordem e observou-se que o grupo controle e os tratados com o i.a. THX até a dose recomendada apresentam maiores porcentagens médias das plântulas normais na PCE em relação aos demais grupos, tal resultado é apresentado no Gráfico 7.

Gráfico 7 - Ajuste polinomial de segundo grau para as porcentagens médias de emergência das plântulas normais na PCE em relação às doses do i.a. THX - emergência em areia



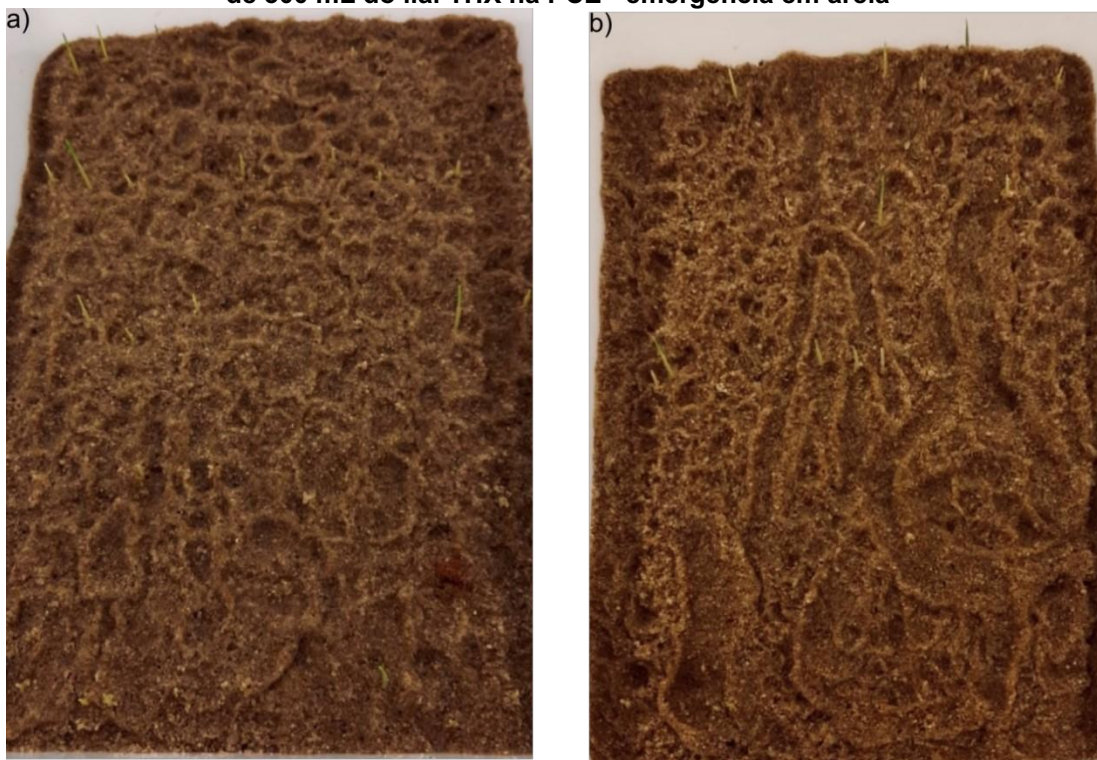
Fonte: Autoria Própria (2021).

Escolhidas para representar esse teste são apresentadas duas bandejas no quarto dia após a instalação do teste que representam uma das quatro repetições realizadas. Na Fotografia 9 (a) o grupo controle e na Fotografia 9 (b) o grupo tratado com a dose de 300 mL do i.a THX são representados. Pode-se verificar o início da emergência da parte aérea das plântulas, tanto para o grupo controle, quanto para o grupo das sementes de trigo tratadas com a dose de 300 mL do i.a. THX.

Através da PCE do teste de emergência em areia verificou-se que o grupo controle e os grupos das sementes tratadas com as doses de 75 e 150 mL do i.a. THX

apresentaram resultados semelhantes. Dessa forma, há indicativos de uma diminuição na porcentagem média das plântulas normais quando as sementes de trigo são tratadas com maiores doses do i.a. THX, indicando uma diminuição no nível de vigor desses grupos. Uma das prováveis causas desse resultado pode ser o efeito fitotóxico² da alta dose do i.a. THX nas sementes, causando danos às sementes devido à penetração do produto na membrana, pois apesar do P.C. (Cruiser® 350 FS) não ter efeito fitotóxico nas culturas com as dosagens indicadas pelo fabricante (SYNGENTA, 2019), as doses de 225 e 300 mL do i.a. THX são mais elevadas do que a recomendada e podem ter influenciado nos resultados obtidos.

Fotografia 9 - a) Plântulas de trigo sem tratamento; b) Plântulas de trigo tratadas com a dose de 300 mL do i.a. THX na PCE - emergência em areia



Fonte: Autoria Própria (2021).

4.3.1.2 Contagem final de emergência

Foram realizadas as leituras das plântulas normais no oitavo dia após a instalação do teste para cada um dos grupos. As porcentagens médias de emergência das plântulas normais na CFE são apresentadas na Tabela 10.

As porcentagens médias das plântulas normais na CFE referente às sementes tratadas ou não com as diferentes doses diferem significativamente entre si, pelo teste

² Nocivo à planta ou à plântula (BRASIL, 2009b, p. 182).

de Scott-Knott. Ademais, as porcentagens médias de todas as doses de tratamento analisadas diferem significativamente do grupo controle pelo teste de Dunnett, representado na Tabela 10 pelo símbolo *. Além do mais, as porcentagens médias do grupo controle e dos grupos tratados com 75 e 300 mL do i.a. THX diferem significativamente do grupo tratado com a dose recomendada pelo fabricante (150 mL do i.a. THX) pelo teste de Dunnett, representado na Tabela 10 pelo símbolo #.

Tabela 10 - Porcentagens médias das plântulas normais emergidas no oitavo dia após a instalação do teste - CFE

Dose do i.a. THX (mL)	Porcentagem média de emergência das plântulas normais na CFE (%)
0	45,00 ± 0,00 a #
75	44,00 ± 0,00 b * #
150	39,75 ± 0,50 e *
225	40,25 ± 0,50 d *
300	43,00 ± 0,00 c * #
Média Geral	42,40
C.V. (%)	0,75

Nota: Na coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade; médias seguidas de * diferem estatisticamente do grupo controle, pelo teste de Dunnett, a 5 % de probabilidade; médias seguidas de # diferem estatisticamente do grupo tratado com a dose de 150 mL do i.a. THX, pelo teste de Dunnett, a 5 % de probabilidade; coeficiente de variância (C.V.).

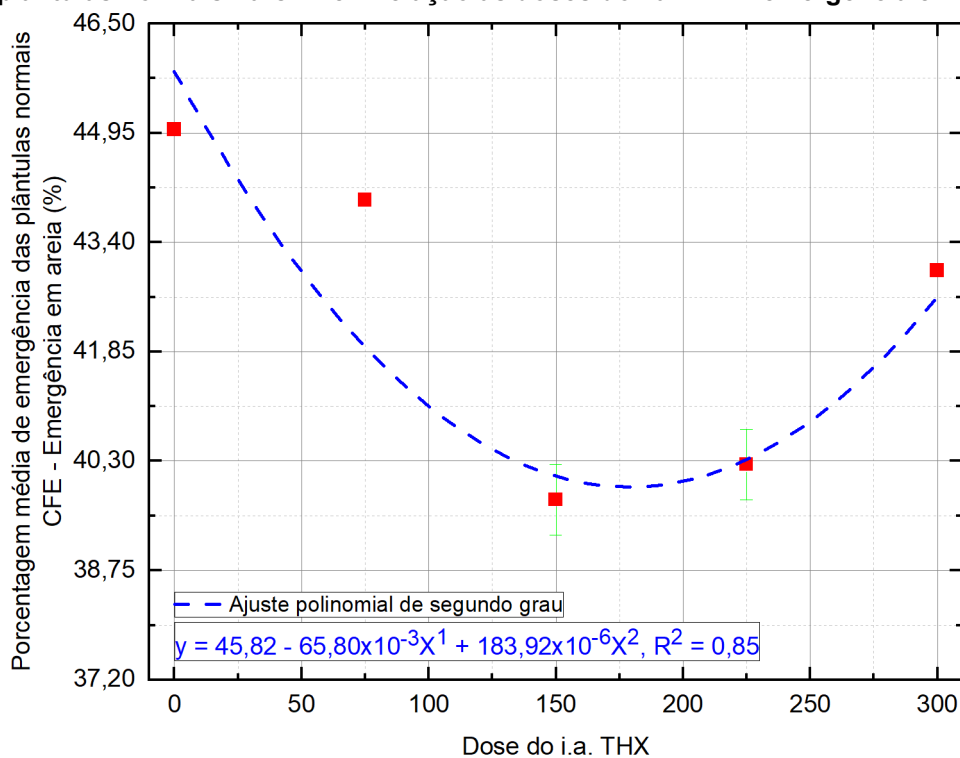
Fonte: Autoria Própria (2021).

A maior porcentagem média das plântulas normais na CFE obtida foi a do grupo controle com 45,00 %, seguida do grupo das sementes tratadas com 75, 300, 225 e 150 mL do i.a. THX com 44,00, 43,00, 40,25, e 39,75 %, respectivamente.

Seguindo a literatura, os resultados porcentagens médias de emergência das plântulas normais na CFE e seus respectivos desvios padrões em relação às doses do i.a. THX, através da regressão polinomial de segunda ordem, observou-se que o grupo controle apresentou maiores porcentagens médias das plântulas normais na CFE em relação aos demais grupos, tal resultado é apresentado no Gráfico 8.

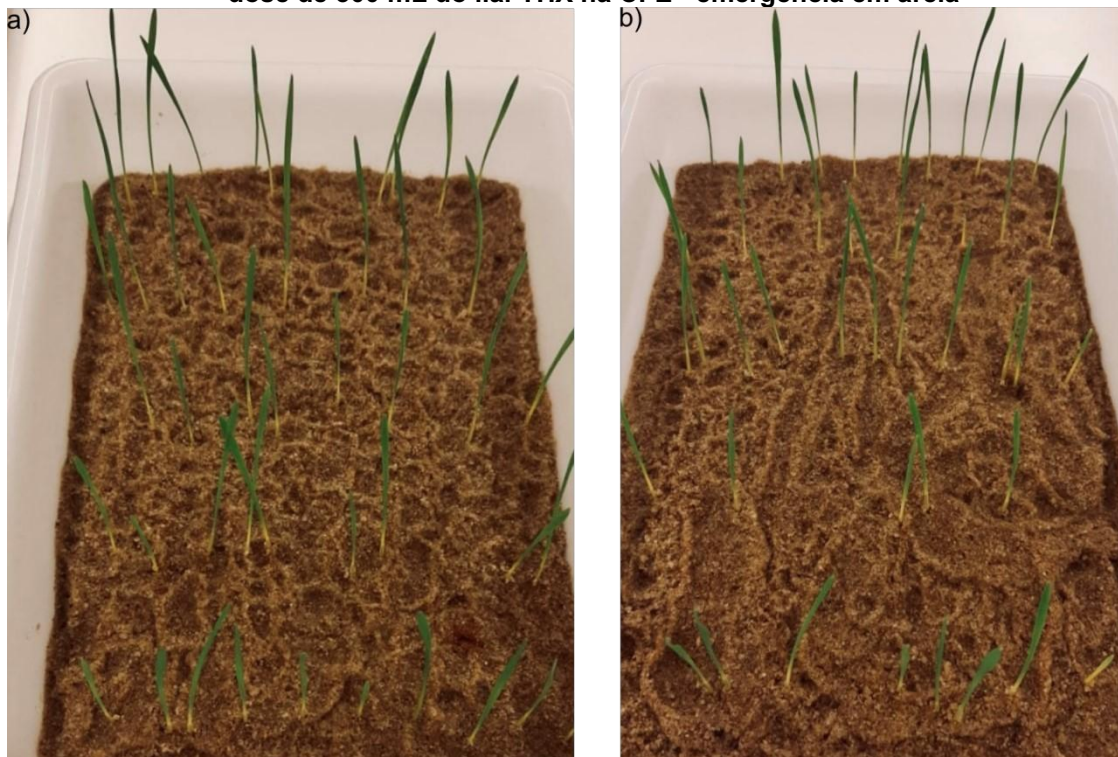
Escolhidas para representar esse teste são apresentadas duas bandejas no oitavo dia após a instalação do teste que representam uma das quatro repetições realizadas. Na Fotografia 10 (a) o grupo controle e na Fotografia 10 (b) o grupo tratado com a dose de 300 mL do i.a. THX são representados. Pode-se notar a emergência da parte aérea das plântulas normais mais evidentes do que após o quarto dia, apresentado na Fotografia 9 (a) e (b).

Gráfico 8 - Ajuste polinomial de segundo grau para as porcentagens médias de emergência das plântulas normais na CFE em relação às doses do i.a. THX - emergência em areia



Fonte: Autoria Própria (2021).

Fotografia 10 - a) Plântulas de trigo sem tratamento; b) Plântulas de trigo tratadas com a dose de 300 mL do i.a. THX na CFE - emergência em areia



Fonte: Autoria Própria (2021).

Através da CFE do teste de emergência em areia verificou-se que o grupo controle apresenta uma maior porcentagem média de emergência das plântulas

normais em comparação aos grupos com tratamento. Além disso, é interessante notar que na PCE as menores porcentagens de emergência dos grupos mais estressados (tratados com as maiores doses do i.a. THX) indicaram o aparecimento do efeito fitotóxico, porém na CFE, esse efeito não foi verificado. Dessa forma, acredita-se que a diminuição da atividade enzimática e do metabolismo, descrita por Bashir, Siddiqi, Iqbal (2007), na fase inicial de emergência proporcionada pelo tratamento das sementes com as diferentes doses do i.a. THX, em especial nos grupos de sementes mais estressadas, pode ter sido superado com o decorrer dos dias de análise.

4.3.1.3 Índice de velocidade de emergência em areia

Ao final dos testes de emergência em areia foram calculadas as médias das somas das razões entre o número de plântulas emergidas e o número de dias do primeiro ao último dia de leitura após a instalação do teste, chamado de IVE. Para cada um dos cinco grupos de sementes de trigo os resultados são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 - Médias das razões entre os números de plântulas emergidas e o número de dias do primeiro ao último dia de leitura após a instalação do teste - IVE

Dose do i.a. THX (mL)	Média do IVE (u.a.)
0	9,45 ± 0,05 a #
75	9,28 ± 0,07 b * #
150	8,53 ± 0,12 d *
225	8,42 ± 0,05 d *
300	8,82 ± 0,06 c * #
Média Geral	8,90
C.V. (%)	0,89

Nota: Na coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade; médias seguidas de * diferem estatisticamente do grupo controle, pelo teste de Dunnett, a 5 % de probabilidade; médias seguidas de # diferem estatisticamente do grupo tratado com a dose de 150 mL do i.a. THX, pelo teste de Dunnett, a 5 % de probabilidade; coeficiente de variância (C.V.).

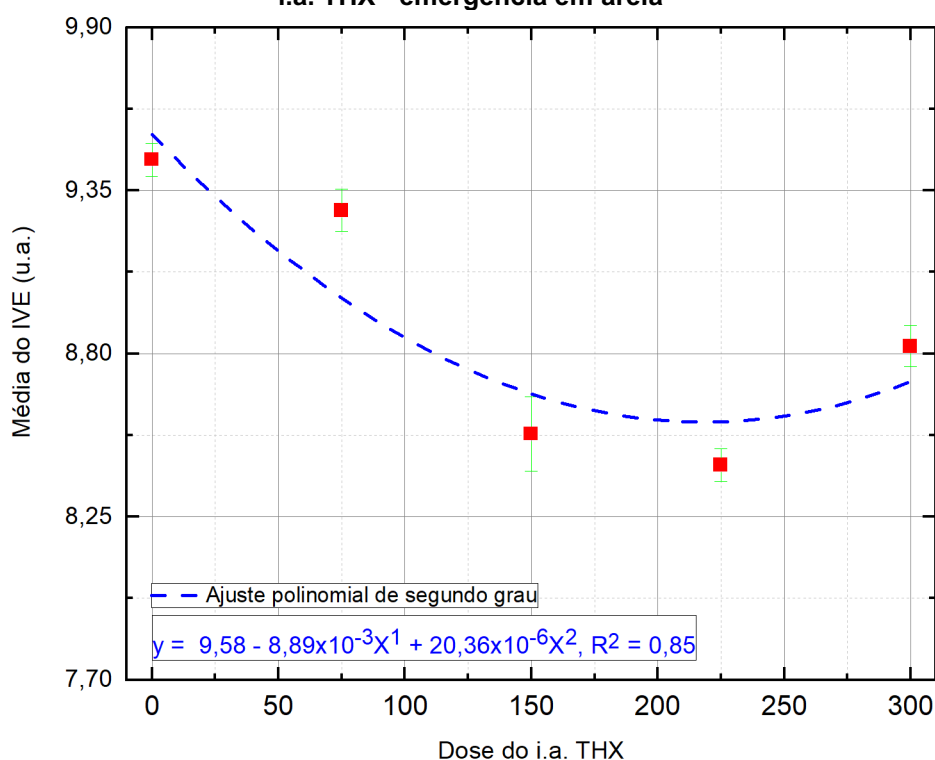
Fonte: Autoria Própria (2021).

A média do IVE para o grupo controle é significativamente diferenciada das médias do IVE dos grupos com as diferentes doses do i.a. THX, pelo teste Scott-Knott. Além disso, todas as médias dos grupos tratados com as diferentes doses de i.a. THX diferem significativamente do grupo controle pelo teste de Dunnett, representado na Tabela 11 pelo símbolo *, e são menores comparadas às médias do grupo controle que possui média do IVE de 9,45 u.a.

Nota-se que as médias do IVE para as doses de 150 e 225 mL do i.a. THX (8,53 e 8,42 u.a., respectivamente) não diferem significativamente entre si, pelo teste Scott-Knott, mas esse mesmo subgrupo difere significativamente da média do grupo controle (9,45 u.a.) e das doses de 75 e 300 mL do i.a. THX (9,28 e 8,82 u.a., respectivamente), pelo teste de Scott-Knott. Além disso, a média do IVE para a dose de 225 mL do i.a. THX é a única que não difere significativamente da média da dose recomendada pelo fabricante pelo teste de Dunnett, pois as demais diferem, como representado na Tabela 11 pelo símbolo #.

Segundo a literatura, os resultados das médias do IVE e seus respectivos desvios padrões em relação às doses do i.a. THX, pela regressão polinomial de segunda ordem, observa-se que o grupo controle e o tratado com a menor dose do i.a. THX apresentam as maiores médias do IVE em relação aos demais grupos, tal resultado é apresentado no Gráfico 9.

Gráfico 9 - Ajuste polinomial de segundo grau para as médias do IVE em relação às doses do i.a. THX - emergência em areia



Fonte: Autoria Própria (2021).

Segundo Dan *et al.* (2010), quanto maior o IVE maior será o desempenho das plântulas. Assim, elas terão a capacidade de resistir a possíveis estresses que podem implicar no crescimento e desenvolvimento da futura planta. Sendo assim, as maiores doses do i.a. THX (grupos mais estressados), resultou em menores médias do IVE, indicando menor nível de vigor comparado ao grupo controle, pois o IVE é reduzido

com o avanço da deterioração (nesse caso aumento da dose do i.a. THX) da semente (NAKAWAGA, 1999).

Na literatura, Fessel *et al.* (2003) observaram que alguns tratamentos químicos podem gerar efeitos desfavoráveis no desempenho das sementes com o aumento das doses. Tonin *et al.* (2004) escrevem que em algumas situações pode ocorrer a redução do potencial de germinação devido aos efeitos causados por produtos de tratamento. Horii, McCue e Shetty (2007) explicam que a menor viabilidade e vigor de sementes podem ser associadas às danificações na membrana celular causada por inseticidas. Dessa forma, há indicativos que as menores médias dos IVE encontradas para os grupos de sementes submetidos ao tratamento com o i.a. THX podem ser relacionados ao tratamento com o inseticida.

Analisando de forma conjunta os resultados do teste de emergência em areia, em especial os resultados na PCE e o IVE, há indicativos que o nível de vigor pode ter sido alterado nos grupos de sementes tratadas com o i.a. THX. Dessa forma, as sementes que apresentam maiores médias do IVE e maiores porcentagens médias de plântulas na PCE em comparação aos outros grupos podem ser consideradas mais vigorosas, conforme Dantas, Ribeiro e Aragão (2007).

4.3.2 Medidas dos comprimentos das partes aéreas, das raízes primárias e da massa seca das plântulas de trigo do primeiro ao quinto dia após a instalação do teste

As médias dos comprimentos dos CPA e CR referentes às leituras realizadas do terceiro ao quinto dia após a instalação do teste são apresentadas na Tabela 12.

As médias dos CPA e CR das plântulas normais referentes às leituras realizadas no terceiro, quarto e quinto dia após a instalação do teste não diferem significativamente entre si, com exceção das médias dos CPA para o quarto dia em que as médias das doses de 150, 225 e 300 mL do i.a. THX diferem significativamente dos demais grupos, pelo teste de Scott-Knott. Ademais, as médias dos CPA e CR dos grupos tratados com as diferentes doses não diferem significativamente do grupo controle, com exceção das médias dos CPA para o quarto dia referentes às doses 225 e 300 mL do i.a. THX que diferem significativamente do grupo controle, representado na Tabela 12 pelo símbolo *. Por fim, as médias dos CPA e CR do grupo controle e dos grupos tratados com as diferentes doses não diferem significativamente das

médias dos CPA e CR da dose recomendada em nenhum dos dias de análise pelo teste de Dunnett.

Tabela 12 - Médias dos CPA e CR das plântulas normais referentes às leituras realizadas do terceiro ao quinto dia após a instalação do teste

Dose do i.a. THX (mL)	Dia 3			
	Média do CPA (cm)		Média do CR (cm)	
0	0,74 ± 0,02	a	1,80 ± 0,13	b
75	0,71 ± 0,01	a	1,76 ± 0,16	b
150	0,74 ± 0,01	a	1,79 ± 0,05	b
225	0,76 ± 0,04	a	1,81 ± 0,17	b
300	0,78 ± 0,04	a	1,87 ± 0,14	b
Média Geral		0,75		1,81
C.V. (%)		3,78		7,48

Dose do i.a. THX (mL)	Dia 4			
	Média do CPA (cm)		Média do CR (cm)	
0	1,75 ± 0,02	c	3,81 ± 0,11	e
75	1,64 ± 0,05	c	3,44 ± 0,41	e
150	1,60 ± 0,04	d	3,37 ± 0,45	e
225	1,52 ± 0,19	d *	3,51 ± 0,05	e
300	1,47 ± 0,11	d *	3,36 ± 0,20	e
Média Geral		1,60		3,50
C.V. (%)		6,43		8,42

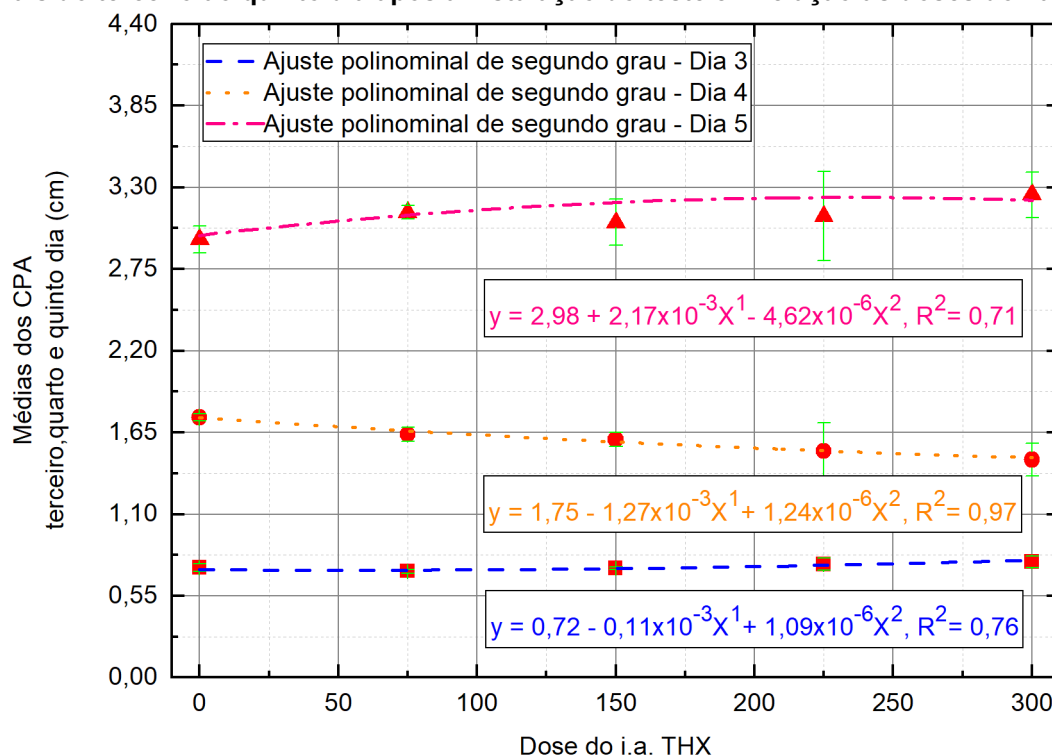
Dose do i.a. THX (mL)	Dia 5			
	Média do CPA (cm)		Média do CR (cm)	
0	2,94 ± 0,09	f	5,85 ± 0,23	g
75	3,13 ± 0,05	f	5,71 ± 0,12	g
150	3,06 ± 0,15	f	5,69 ± 0,17	g
225	3,11 ± 0,30	f	5,64 ± 0,41	g
300	3,25 ± 0,15	f	5,94 ± 0,44	g
Média Geral		3,10		5,77
C.V. (%)		5,55		5,28

Nota: Na coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade; médias seguidas de * diferem estatisticamente do grupo controle, pelo teste de Dunnett, a 5 % de probabilidade; coeficiente de variância (C.V.).

Fonte: Autoria Própria (2021).

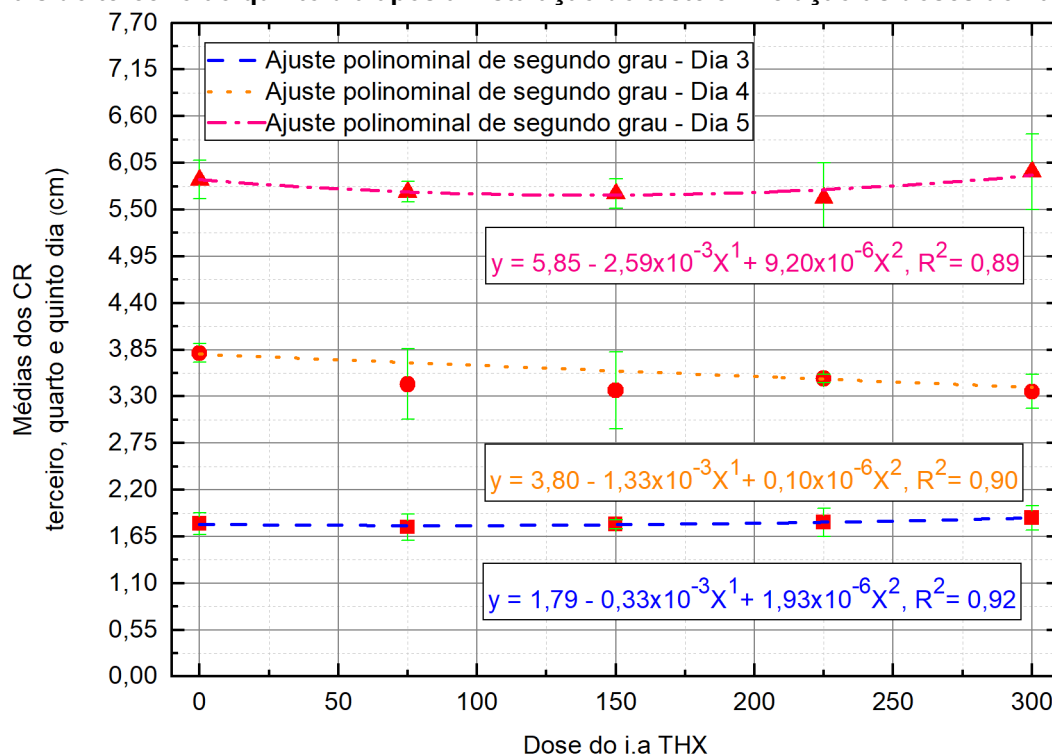
Além dessas análises, seguindo a literatura, os resultados das leituras das médias dos CPA e CR e seus respectivos desvios padrões das plântulas normais do terceiro ao quinto dia após a instalação do teste em relação às doses do i.a. THX ajustaram-se pela regressão polinomial de segunda ordem, como apresentado no Gráfico 10 e no Gráfico 11, respectivamente.

Gráfico 10 - Ajustes polinomiais de segundo grau para as médias dos CPA das plântulas normais do terceiro ao quinto dia após a instalação do teste em relação às doses do i.a. THX



Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 11 - Ajustes polinomiais de segundo grau para as médias dos CR das plântulas normais do terceiro ao quinto dia após a instalação do teste em relação às doses do i.a. THX



Fonte: Autoria Própria (2021).

Foram realizadas as leituras das médias das MS das plântulas ou dos pericarpos externos e internos e os tegumentos (cascas) das sementes referentes às

leituras realizadas do primeiro ao quinto dia após a instalação do teste.

Vale mencionar que, nos dois primeiros dias após a instalação do teste, não houve o crescimento aparente das plântulas, assim para os dois primeiros dias de análise, as sementes de trigo foram secas e nomeadas como MS dos pericarpos externos e internos e os tegumentos das sementes. Assim, após as leituras, os resultados das médias são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 - Médias das MS dos pericarpos externos e internos e os tegumentos das sementes referente às leituras no primeiro e segundo dia após a instalação do teste e médias das MS das plântulas normais referente às leituras do terceiro ao quinto dia após a instalação do teste

Dose do i.a. THX (mL)	Dia 1		Dia 2		Dia 3			Dia 4		Dia 5	
	Média da MS dos pericarpos externos e internos e os tegumentos das sementes ($\times 10^{-3}$) (g)						Média da MS das plântulas normais ($\times 10^{-3}$) (g)				
0	31,1 ± 0,6	a	29,8 ± 0,6	b	1,9 ± 0,1	c	3,9 ± 0,1	d	7,8 ± 0,5	e	
75	30,2 ± 0,3	a	29,6 ± 0,6	b	1,9 ± 0,2	c	3,9 ± 0,2	d	8,3 ± 0,7	e	
150	30,9 ± 0,8	a	30,6 ± 1,0	b	2,1 ± 0,7	c	4,1 ± 0,3	d	8,3 ± 0,4	e	
225	30,5 ± 0,3	a	29,7 ± 0,6	b	2,1 ± 0,1	c	4,0 ± 0,3	d	9,6 ± 1,3	e *	
300	30,7 ± 0,3	a	29,7 ± 0,1	b	2,1 ± 0,4	c	4,0 ± 0,2	d	8,6 ± 0,6	e	
Média Geral		30,7		29,8		2,0		4,0		8,5	
C.V. (%)		1,63		2,18		18,48		6,04		8,99	

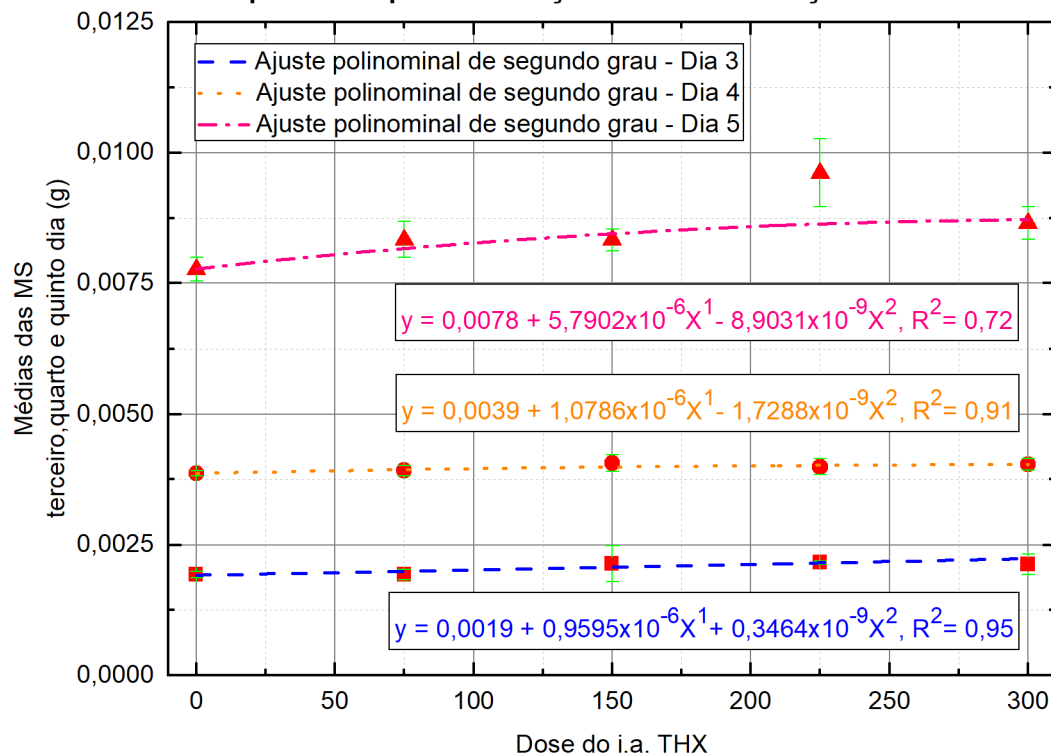
Nota: Na coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade; médias seguidas de * diferem estatisticamente do grupo controle, pelo teste de Dunnett, a 5 % de probabilidade; coeficiente de variância (C.V.).

Fonte: Autoria Própria (2021).

Na Tabela 13, as médias das MS dos pericarpos externos e internos e o tegumento das sementes dos diferentes grupos não diferem significativamente entre si nos dois primeiros dias após a instalação do teste, pelo teste de Scott-Knott. Além disso, as médias das MS das plântulas normais pesadas dos diferentes grupos do terceiro ao quinto dia após a instalação do teste não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott. Ademais, as médias das MS para os grupos tratados não diferem significativamente das médias da média da MS do grupo controle no terceiro e quarto dia após a instalação do teste pelo teste de Dunnett, mas no quinto dia, o grupo tratado com 225 mL do i.a. THX difere significativamente do grupo controle, pelo teste de Dunnett, representado na Tabela 13 pelo símbolo *.

Seguindo a literatura, os resultados das leituras das médias das MS e seus respectivos desvios padrões do terceiro ao quinto dia das plântulas normais após a instalação do teste em relação às doses do i.a. THX, ajustaram-se pela regressão polinomial de segunda ordem, como apresentado no Gráfico 12.

Gráfico 12 - Ajustes polinomiais de segundo grau para as médias das MS das plântulas normais do terceiro ao quinto dia após a instalação do teste em relação às doses do i.a. THX



Fonte: Autoria Própria (2021).

Portanto, os resultados dos testes realizados durante cinco dias consecutivos indicaram que os diferentes grupos exibem comportamentos semelhantes no que diz respeito às médias dos CPA, CR e das MS.

4.3.3 Medidas dos comprimentos das partes aéreas, das raízes primárias e da massa seca das plântulas de trigo no oitavo após a instalação do teste

As médias dos CPA e CR e das MS das plântulas normais referentes às leituras realizadas no oitavo dia após a instalação do teste são apresentadas na Tabela 14.

As médias dos CPA, CR e das MS das plântulas normais não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott. Além disso, todas as médias dos grupos tratados não diferem significativamente das médias dos CPA, CR e das MS do grupo controle pelo teste de Dunnett. Ademais, pelo teste de Dunnett, as análises das

médias dos CPA, CR e das MS do grupo controle e dos grupos tratados com as doses diferentes da dose recomendada não apresentaram diferenças significativas em relação ao grupo tratado com a dose recomendada.

Tabela 14 - Médias dos CPA, CR e das MS das plântulas normais referente às leituras no oitavo após a instalação do teste

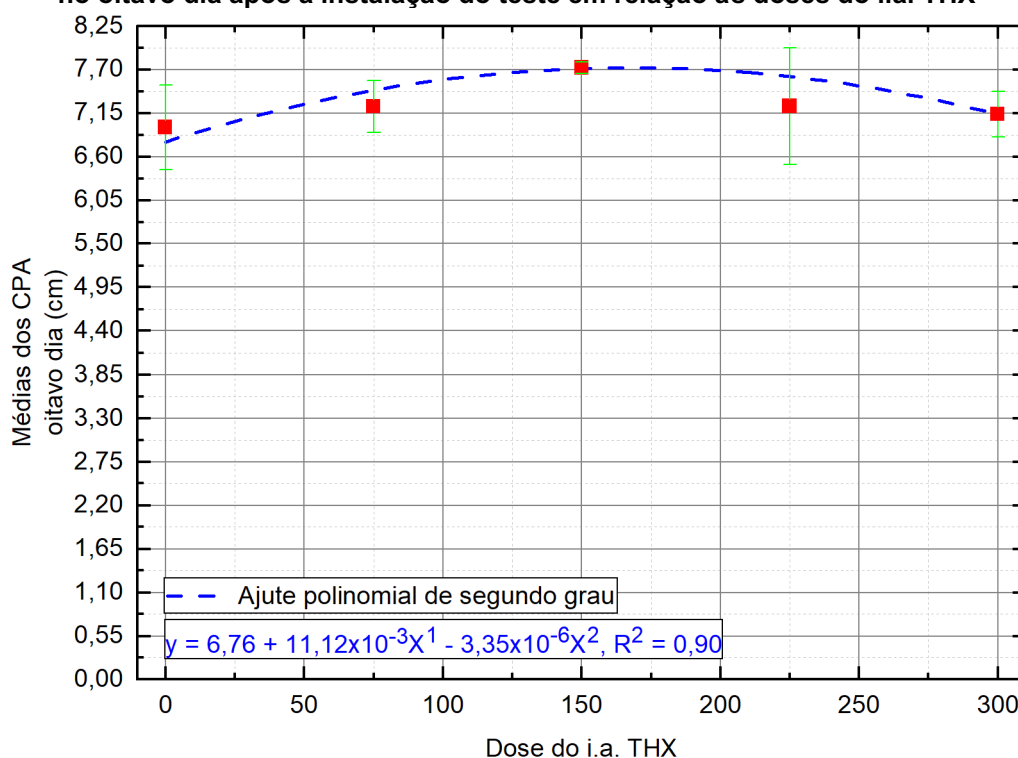
Dose do i.a. THX (mL)	Dia 8		
	Média do CPA (cm)	Média do CR (cm)	Média da MS ($\times 10^{-3}$) (g)
0	6,97 \pm 0,53 a	11,52 \pm 0,70 b	10,3 \pm 0,6 c
75	7,23 \pm 0,32 a	11,43 \pm 0,68 b	10,4 \pm 0,6 c
150	7,72 \pm 0,07 a	11,89 \pm 0,01 b	11,3 \pm 0,3 c
225	7,23 \pm 0,73 a	11,39 \pm 0,19 b	10,3 \pm 0,7 c
300	7,13 \pm 0,29 a	11,40 \pm 0,14 b	9,8 \pm 0,7 c
Média Geral	7,26	11,53	10,5
C.V. (%)	6,22	3,89	5,24

Nota: Na coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade; coeficiente de variância (C.V.).

Fonte: Autoria Própria (2021).

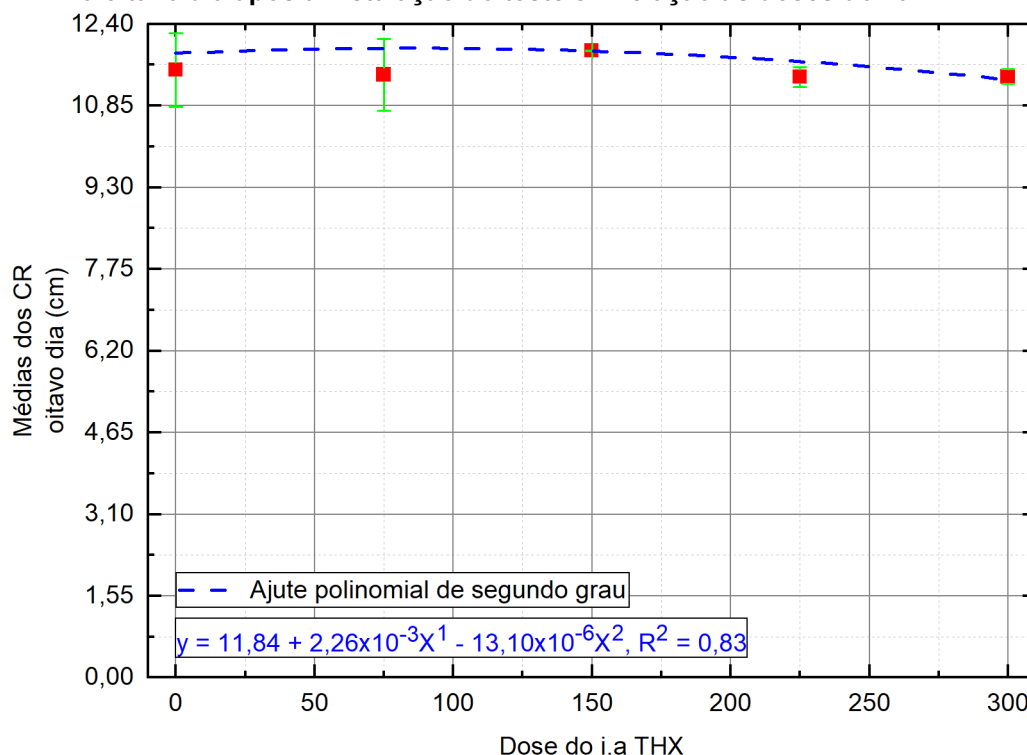
Seguindo a literatura, os resultados das leituras das médias dos CPA e CR das MS e seus respectivos desvios padrões das plântulas normais no terceiro ao quinto dia após a instalação do teste em relação às doses do i.a. THX, ajustaram-se pela regressão polinomial de segunda ordem, como são apresentados nos Gráfico 13 ao 15, respectivamente.

Gráfico 13 - Ajuste polinomial de segundo grau para as médias dos CPA das plântulas normais no oitavo dia após a instalação do teste em relação às doses do i.a. THX



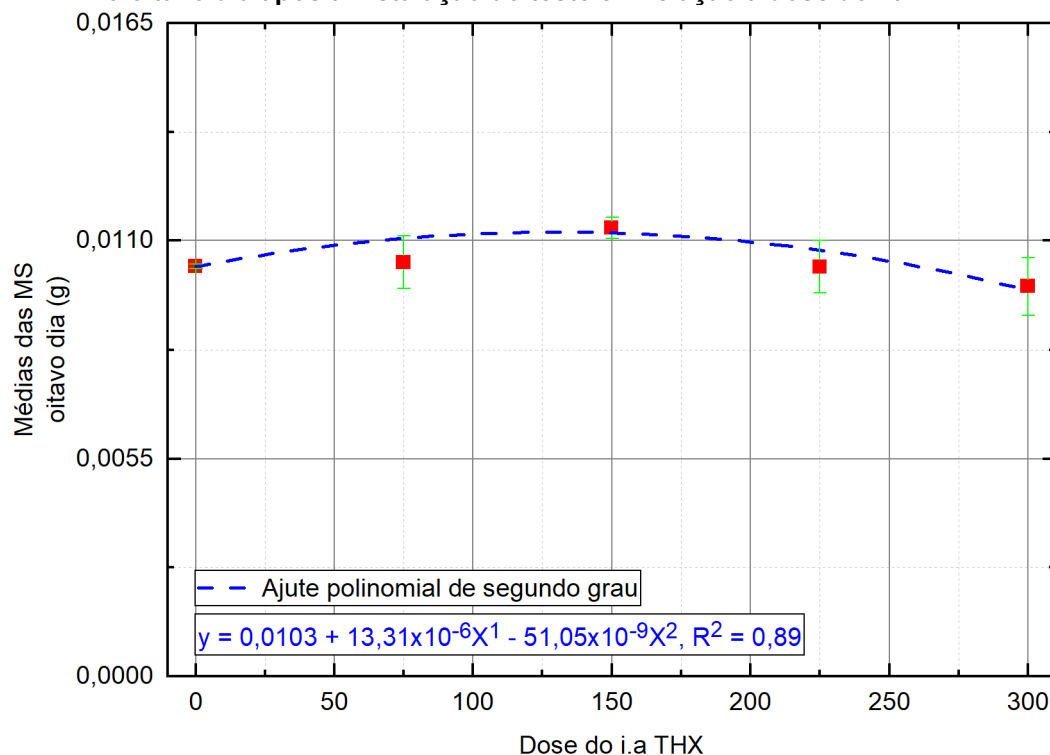
Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 14 - Ajuste polinomial de segundo grau para as médias dos CR das plântulas normais no oitavo dia após a instalação do teste em relação às doses do i.a. THX



Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 15 - Ajuste polinomial de segundo grau para as médias das MS das plântulas normais no oitavo dia após a instalação do teste em relação à dose do i.a. THX



Fonte: Autoria Própria (2021).

As médias das leituras realizadas no oitavo dia após a instalação do teste indicam que os diferentes grupos exibem comportamentos semelhantes no que diz

respeito às médias dos CPA, CR e das MS das plântulas normais. Esses resultados são semelhantes aos encontrados nos testes realizados durante cinco dias consecutivos apresentados na subseção 4.3.2.

Os resultados apresentados para todos os dias de análise são semelhantes ao trabalho descrito por Tavares *et al.* (2007), em que foram avaliadas as diferenças na qualidade fisiológica das sementes de soja tratadas com quatro doses de 50, 100, 200 e 300 mL do i.a. THX, onde não se observou diferenças significativas entre os tratamentos empregados e o grupo controle. Além disso, conforme descrito por Dan *et al.* (2012), sementes de soja tratadas com 250 mL do P.C. (Cruiser® 700 WS) contendo i.a. THX não sofreram interferências nos CPA, CR e nas MS em comparação ao grupo controle. Vale mencionar que, a dose recomendada pelo fabricante do P.C. Cruiser® 700 WS para as sementes de soja é no máximo de 150 mL do i.a. THX (SYNGENTA, 2021).

Por fim, os testes referentes às leituras dos CPA, CR e das MS não foram sensíveis para observar diferenças nos níveis de vigor das sementes de trigo.

4.3.4 Correlações entre os resultados dos testes de emergência em areia e os dados das UWPEs

As correlações entre os resultados dos testes de emergência em areia, os somatórios totais e as inclinações dos perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs são apresentadas na Tabela 15.

Tabela 15 - Coeficiente de correlação de Pearson entre os resultados dos testes de emergência em areia e os das UWPEs

Parâmetros - Médias	PCE	CFE	IVE
Média do somatório total das fotocontagens	0,90	0,41	0,66
Média da inclinação dos perfis temporais das fotocontagens	0,89	0,05	0,30

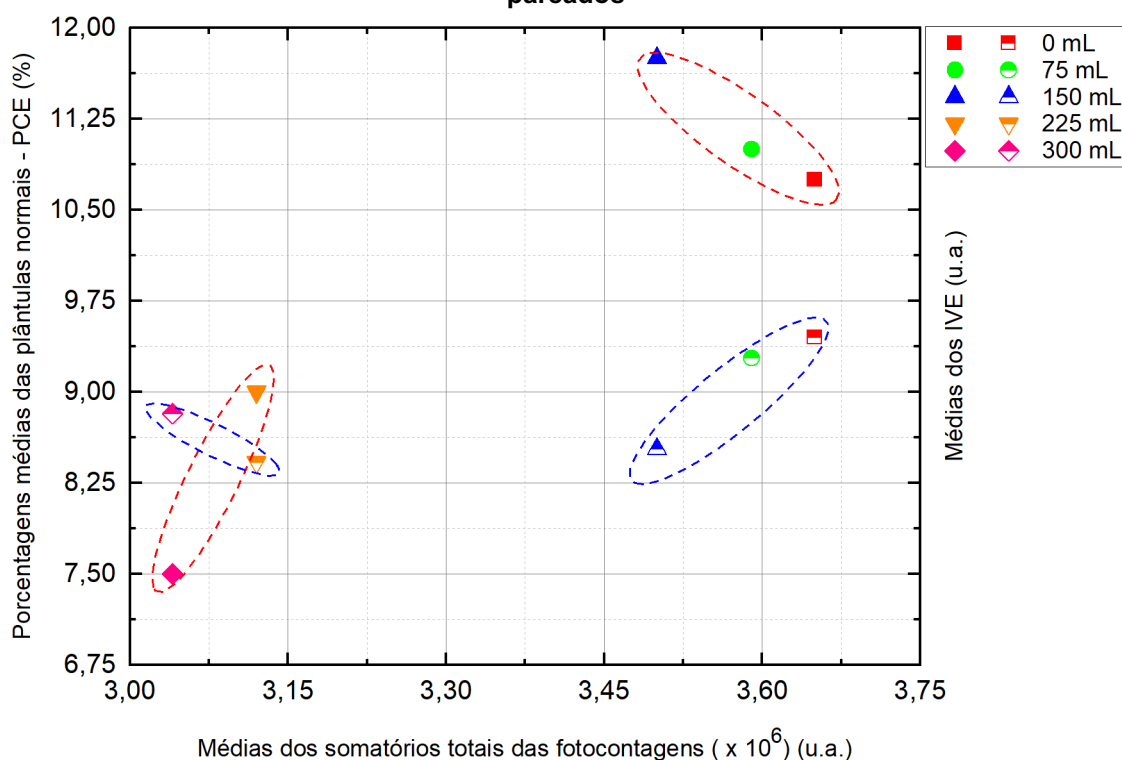
Fonte: Autoria Própria (2021).

As porcentagens médias das plântulas normais na PCE possuem correlação forte com as médias dos somatórios totais das fotocontagens e com as médias das inclinações dos perfis temporais. Uma possível justificativa para essa forte correlação é a alta taxa de divisão celular e, portanto, do metabolismo da semente que ocorre durante a emergência inicial das plântulas. Ademais, as porcentagens médias das plântulas normais na CFE e das médias do IVE possuem correlação moderada e forte,

respectivamente, com as médias dos somatórios totais das fotocontagens. Além disso, há uma correlação fraca entre as médias das inclinações dos perfis temporais das fotocontagens e as médias dos IVE.

No Gráfico 16 são apresentadas as correlações entre os somatórios totais das fotocontagens, as porcentagens médias das plântulas na PCE e as médias dos IVE referentes aos cinco grupos de sementes analisados.

Gráfico 16 - Relações entre as porcentagens médias de emergência das plântulas normais na PCE, as médias dos somatórios totais das fotocontagens e as médias dos IVE - resultados não pareados



Nota: os símbolos com preenchimento representam os PCE e os símbolos semipreenchidos representam o IVE.

Fonte: Autoria Própria (2021).

Essas correlações são não pareadas, pois as análises são realizadas com base nos resultados dos ensaios das UWPEs e dos ensaios não óticos. Pode-se observar que há uma relação entre os resultados das porcentagens médias das plântulas normais na PCE e os somatórios totais das fotocontagens. Nota-se que os grupos mais estressados (grupos tratados com as doses de 225 e 300 mL do i.a. THX) possuem menores médias dos somatórios totais e menores porcentagens médias das plântulas na PCE quando comparados aos demais grupos. Além disso, analisando a correlação entre as médias do IVE e os somatórios totais das fotocontagens, nota-se que há certa semelhança com a análise anterior, porém o grupo tratado com a dose

de 150 mL de i.a. THX possui média do IVE menor quando comparada ao grupo controle e ao tratado com a menor dose.

Portanto, as possíveis diminuições dos metabolismos iniciais das sementes podem ter ocasionado menores porcentagens médias das plântulas na PCE, menores médias dos IVE e menores produções de biofótons deixando de contribuir para a germinação das sementes inicialmente. As menores produções de biofótons podem ter ocasionado às reduções nos somatórios totais das fotocontagens e menores inclinações dos perfis temporais, especialmente nos grupos dos organismos mais estressados. Contudo, com o passar do tempo, há indicativos que as possíveis diminuições dos metabolismos iniciais das sementes foram parcialmente recuperadas, como indicado pelos resultados das porcentagens médias das plântulas na CFE.

As relações entre as médias dos CPA, CR e das MS das plântulas normais no oitavo dia após a instalação do teste, os somatórios totais das fotocontagens e as inclinações dos perfis temporais das fotocontagens são apresentadas na Tabela 16.

Tabela 16 - Coeficiente de correlação de Pearson entre os resultados dos CPA, CR, e MS das plântulas normais medidas no oitavo dia após a instalação do teste e os das UWPEs

Parâmetros - Médias no oitavo dia	CPA	CR	MS
Média do somatório total das fotocontagens	0,07	0,42	0,51
Média da inclinação dos perfis temporais das fotocontagens	0,55	0,68	0,74

Fonte: Aatoria Própria (2021).

Há uma correlação moderada entre as médias dos somatórios totais das fotocontagens e as médias dos CR e das MS. Além disso, as médias dos CPA possuem correlação moderada com as médias das inclinações dos perfis temporais. Por fim, as médias dos CR e das MS possuem correlação forte com as médias das inclinações dos perfis temporais.

É interessante notar que, os resultados dos somatórios totais das fotocontagens indicam estarem mais associados aos parâmetros não óticos da PCE e do IVE, enquanto as inclinações dos perfis temporais das fotocontagens parecem refletir os parâmetros não óticos das médias dos CPA, CR e das MS das plântulas normais.

Para compreender a influência, em termos de biomoléculas, das diferentes doses de tratamento empregadas em relação ao grupo controle foram realizados os

ensaios de FTIR. Assim, na próxima seção são apresentados os resultados encontrados através dessa técnica.

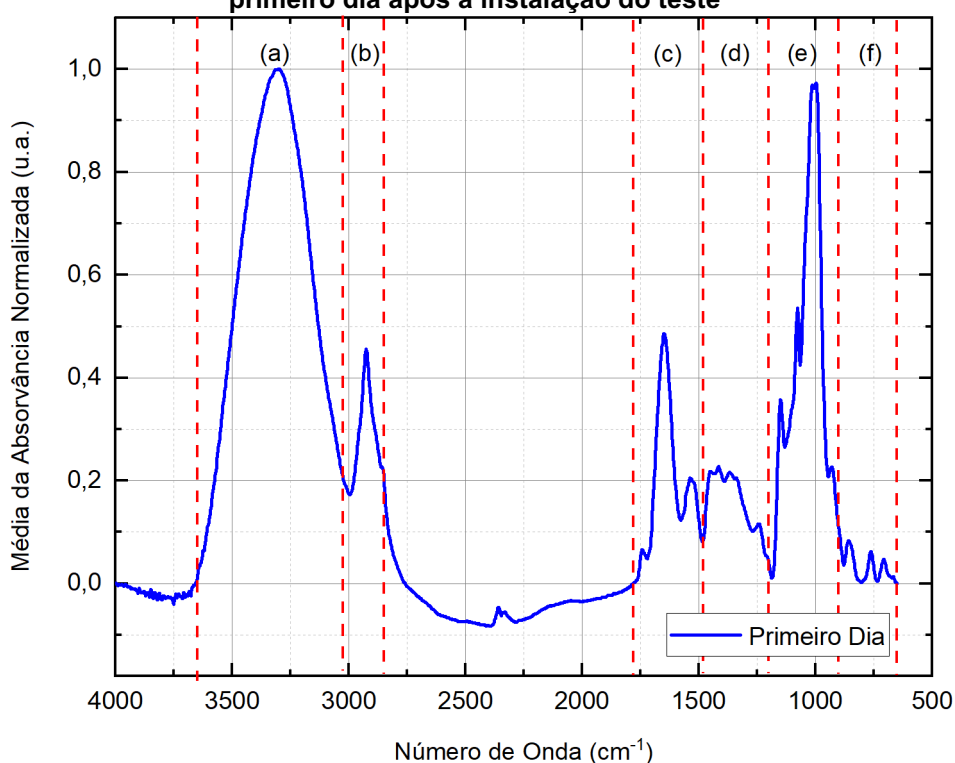
4.4 Ensaios de FTIR

Nas subseções seguintes serão apresentados os resultados referentes aos ensaios de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier com sementes de trigo tratadas com diferentes doses de tratamento com o i.a. THX e do grupo controle (sem tratamento).

4.4.1 Número onda centrais das bandas determinados por ajustes lorentzianos

O Gráfico 17 mostra a média da absorvância normalizada para as amostras de sementes de trigo do grupo controle (sem tratamento) elaboradas no primeiro dia após a instalação do teste. Destaca-se que as sementes foram embebidas em água.

Gráfico 17 - Espectro de absorção FTIR de sementes de trigo do grupo controle elaboradas no primeiro dia após a instalação do teste

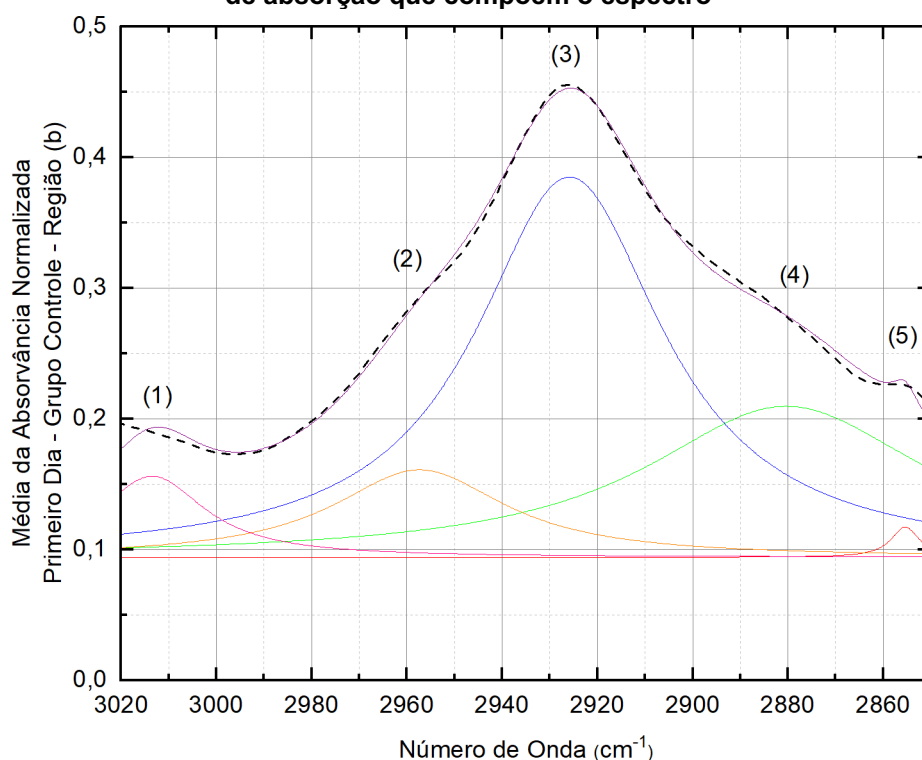


O espectro completo foi obtido na faixa de 4000 a 650 cm^{-1} e foi dividido em seis regiões: (a) de 3650 a 3025 cm^{-1} ; (b) de 3025 a 2850 cm^{-1} ; (c) de 1780 a 1480 cm^{-1} , (d) de 1480 a 1200 cm^{-1} , (e) de 1200 a 900 cm^{-1} e (f) de 900 a 650 cm^{-1} . Destaque-se

que cada dia de análise possui quatro doses de tratamento diferentes e um grupo controle (sem tratamento). Além disso, cada dia de análise possui três amostras para cada uma dessas doses de tratamento e grupo de controle. Com isso, o espectro mostrado no Gráfico 17, assim como todos os outros apresentados neste trabalho, é resultado da média dos espectros das três amostras de cada um dos grupos. Esses espectros tiveram a sua linha de base corrigida e em seguida, eles foram normalizados um a um pelo seu valor da banda da água (3301 cm^{-1}).

Os Gráficos 18, 19, 20, 21 e 22 mostram as regiões (b), (c), (d), (e) e (f), respectivamente, nas quais foram realizados ajustes lorentzianos para determinar a posição central das bandas que compõem essas regiões do espectro. Os números de onda centrais obtidos com os ajustes lorentzianos das bandas nas regiões (b), (c), (d), (e) e (f) são mostrados nas Tabelas 21, 22, 23, 24 e 25, respectivamente. Além disso, são mostrados os valores correspondentes encontrados na literatura e as respectivas vibrações associadas.

Gráfico 18 - Resultados dos ajustes lorentzianos para a determinação das bandas da região (b) de absorção que compõem o espectro



Nota: a linha pontilhada representa o espectro original e as linhas coloridas representam os ajustes lorentzianos.

Fonte: Autoria Própria (2021).

Para a região (b) (Gráfico 18) do espectro os valores dos números de onda centrais das bandas obtido pelos ajustes lorentzianos estão próximos àqueles encontrados na literatura. Esses resultados mostram que essa região do espectro está

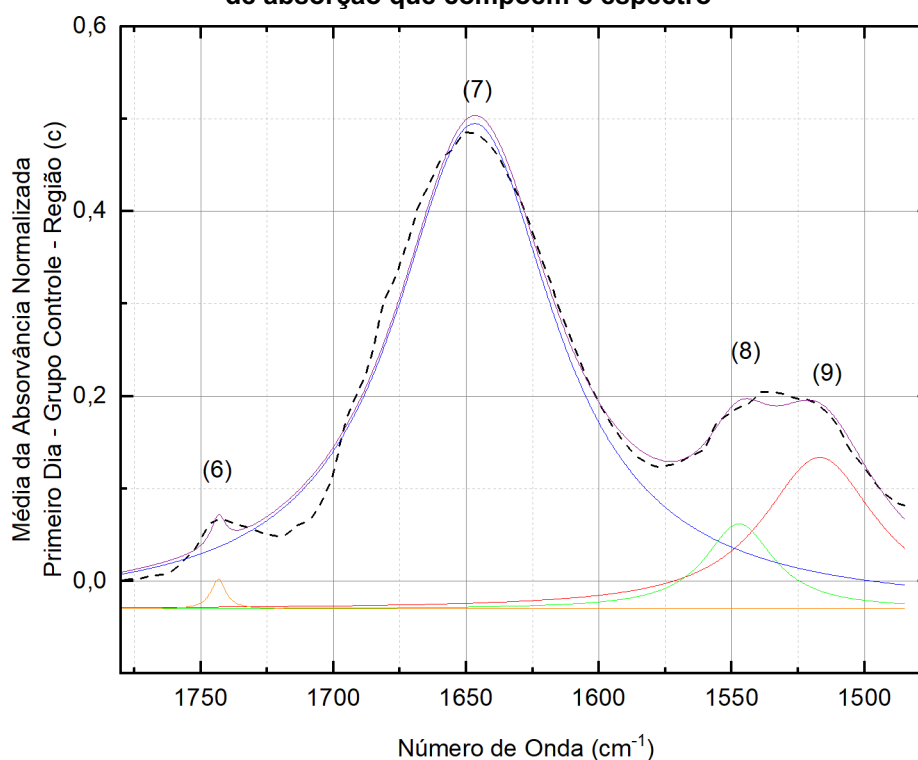
associada às proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos, como pode ser visto na Tabela 17.

Tabela 17 - Valores dos números de onda das bandas na região (b) obtidos pelos ajustes lorentzianos, os valores encontrados na literatura e as respectivas vibrações

Pico	$\tilde{\nu}$ obtido pelo ajuste (cm^{-1})	$\tilde{\nu}$ encontrado na literatura (cm^{-1})	Assinatura da banda
(1)	3013	3008	Olefínico =CH ¹
(2)	2957	2959	Estiramento assimétrico do CH ₃ , principalmente lipídios com contribuição de proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos ¹
(3)	2926	2923	Estiramento assimétrico do CH ₂ , principalmente lipídios com contribuição de proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos ¹
(4)	2880	2872	Estiramento simétrico CH ₃ , principalmente proteínas com contribuição de lipídios, carboidratos, ácidos nucleicos ¹
(5)	2855	2852	Estiramento simétrico de CH ₂ , principalmente lipídios com contribuição de proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos ¹

Fonte: ¹Gorgulu, Dogan e Severcan (2007).

Gráfico 19 - Resultados dos ajustes lorentzianos para a determinação das bandas da região (c) de absorção que compõem o espectro



Nota: a linha pontilhada representa o espectro original e as linhas coloridas representam os ajustes lorentzianos.

Fonte: **Autoria Própria (2021).**

Para a região (c) (Gráfico 19) do espectro os valores dos números de onda centrais das bandas determinados pelos ajustes ficaram próximos aos encontrados na literatura. Essa região do espectro apresenta uma composição mais complexa

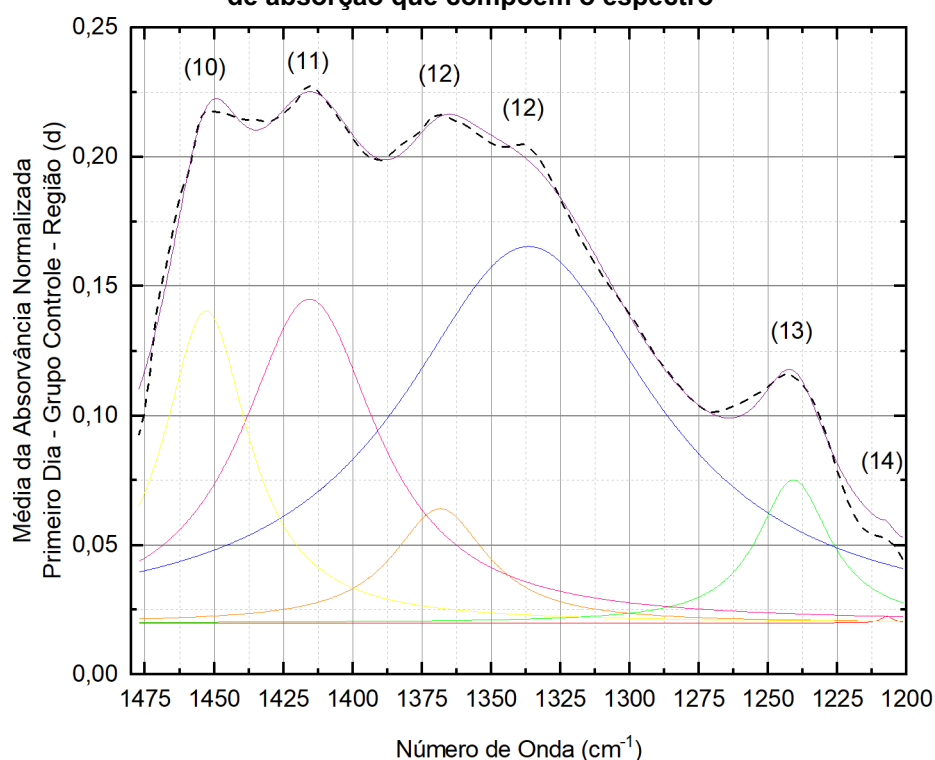
podendo ser identificadas substâncias não presentes na região (b), tais como pectinas, lignina e amidas, como pode ser visto na Tabela 18.

Tabela 18 - Valores dos números de onda das bandas na região (c) obtidos pelos ajustes lorentzianos, os valores encontrados na literatura e as respectivas vibrações

Pico	$\tilde{\nu}$ obtido pelo ajuste (cm^{-1})	$\tilde{\nu}$ encontrado na literatura (cm^{-1})	Assinatura da banda
(6)	1743	1745	Estiramento do éster C = O, lipídios, carboidratos ¹
(7)	1647	1642	Amida I (estiramento C = O), proteínas, pectinas ¹
(8)	1547	1540	Amida II (estiramento C-N, flexão N-H), principalmente proteínas ¹
(9)	1517	1514	Lignina ²

Fonte: ¹Gorgulu, Dogan e Severcan (2007); ²Yu et al. (2007).

Gráfico 20 - Resultados dos ajustes lorentzianos para a determinação das bandas da região (d) de absorção que compõem o espectro



Nota: a linha pontilhada representa o espectro original e as linhas coloridas representam os ajustes lorentzianos.

Fonte: **Autoria Própria (2021).**

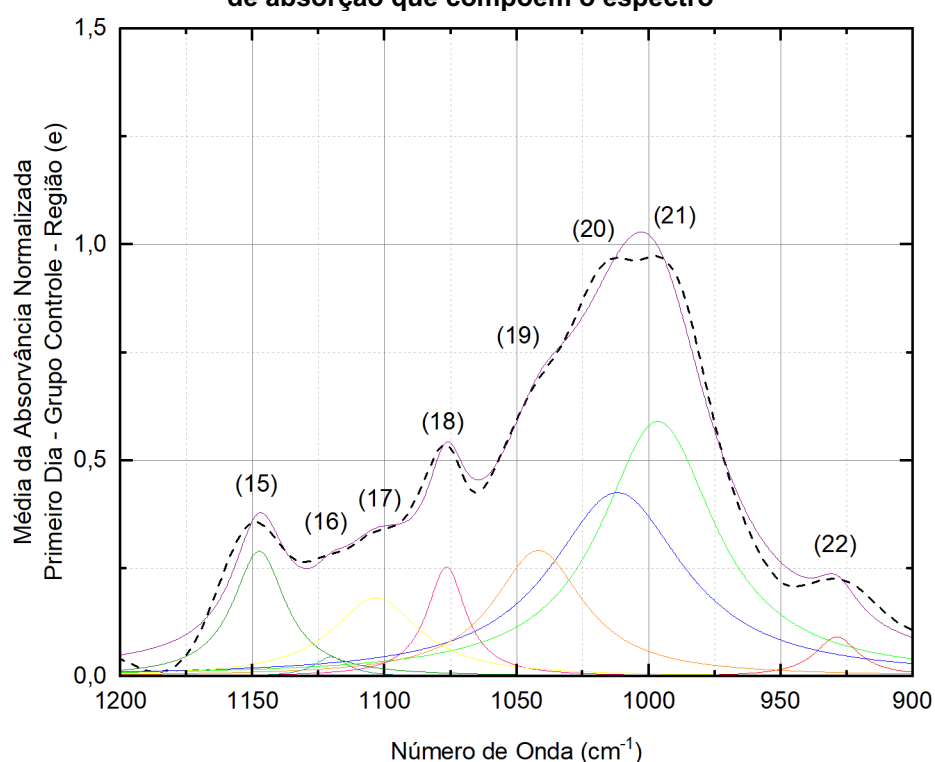
Para a região (d) (Gráfico 20) do espectro os valores dos números de onda centrais das bandas determinados pelos ajustes ficaram muito próximos aos encontrados na literatura, com exceção das bandas da celulose entre 1315 e 1280 cm^{-1} que não foram encontradas. Essa região do espectro apresenta uma composição mais complexa podendo ser identificadas substâncias não presentes na região (b) e região (c), tais como álcoois e celulose, como pode ser visto na Tabela 19.

Tabela 19 - Valores dos números de onda das bandas na região (d) obtidos pelos ajustes lorentzianos, os valores encontrados na literatura e as respectivas vibrações

Pico	$\tilde{\nu}$ obtido pelo ajuste (cm^{-1})	$\tilde{\nu}$ encontrado na literatura (cm^{-1})	Assinatura da banda
(10)	1453	1446	H-C, polissacarídeos da parede celular ¹
(11)	1416	1414	Flexão de O-H, polissacarídeos da parede celular, álcoois e ácidos carboxílicos ¹
(12)	1368,1336	1369, 1335, 1315, 1280	Celulose ^{2,3}
(13)	1241	1239	Amida III (estiramento C-N e N-H), principalmente proteínas ¹
(14)	1207	1205	Celulose ³

Fonte: ¹Gorgulu, Dogan e Severcan (2007); ²Singh *et al.* (2011); ³Liu, Yu e Huang (2005).

Gráfico 21 - Resultados dos ajustes lorentzianos para a determinação das bandas da região (e) de absorção que compõem o espectro



Nota: a linha pontilhada representa o espectro original e as linhas coloridas representam os ajustes lorentzianos.

Fonte: **Autoria Própria (2021).**

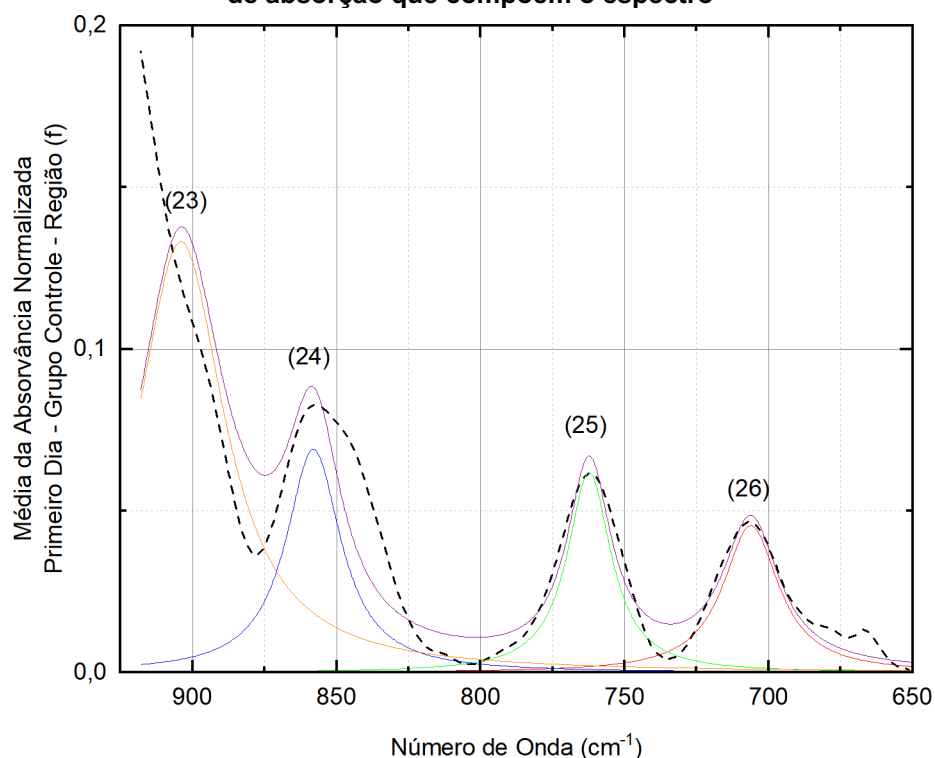
Na região (e) (Gráfico 21) do espectro os valores dos números de onda centrais das bandas determinados pelos ajustes ficaram muito próximos aos encontrados na literatura. Essa região é complexa em termos de composição, apresentando uma série de outros compostos que podem ser vistos na Tabela 20.

Tabela 20 - Valores dos números de onda das bandas na região (e) obtidos pelos dos ajustes lorentzianos, os valores encontrados na literatura e as respectivas vibrações

Pico	$\tilde{\nu}$ obtido pelo ajuste (cm^{-1})	$\tilde{\nu}$ encontrado na literatura (cm^{-1})	Assinatura da banda
(15)	1147	1150	Amido ^{2,3}
(16)	1120	1124	Amido ²
(17)	1103	1101	Pectinas ¹
(18)	1076	1076	β -(1 - >6) ou β -(1 - >3) galactano ligado ⁴
(19)	1042	1049	<i>Arabinogalactorhamnoglycan</i> , amido ⁴
(20)	1012	1017	Pectinas ²
(21)	996	990	Arabinosilanos ⁵
(22)	929	932	Amido ⁶

Fonte: ¹Gorgulu, Dogan e Severcan (2007); ²Robert *et al.* (2005); ³Moroi *et al.* (2011); ⁴Naumann (2000); ⁵Saulnier *et al.* (2009); ⁶Kizil, Irudayaraj e Seetharaman (2002).

Gráfico 22 - Resultados dos ajustes lorentzianos para a determinação das bandas da região (f) de absorção que compõem o espectro



Nota: a linha pontilhada representa o espectro original e as linhas coloridas representam os ajustes lorentzianos.

Fonte: Autoria Própria (2021).

Na região (f) (Gráfico 22) do espectro os valores dos números de onda centrais das bandas determinados pelos ajustes ficaram próximos dos valores encontrados na literatura. Essa região também é complexa em termos de composição tal como a região (e), apresentando compostos que podem ser vistos na Tabela 21.

Tabela 21 - Valores dos números de onda das bandas na região (f) obtidos pelos ajustes lorentzianos, os valores encontrados na literatura e as respectivas vibrações

Pico	$\tilde{\nu}$ obtido pelo ajuste (cm ⁻¹)	$\tilde{\nu}$ encontrado na literatura (cm ⁻¹)	Assinatura da banda
(23)	904	897	Arabinogalactano, xiloglucano, galactoglucomanas ²
(24)	858	861	Amido ¹
(25)	762	764	Amido ³
(26)	706	702	Celulose ⁴

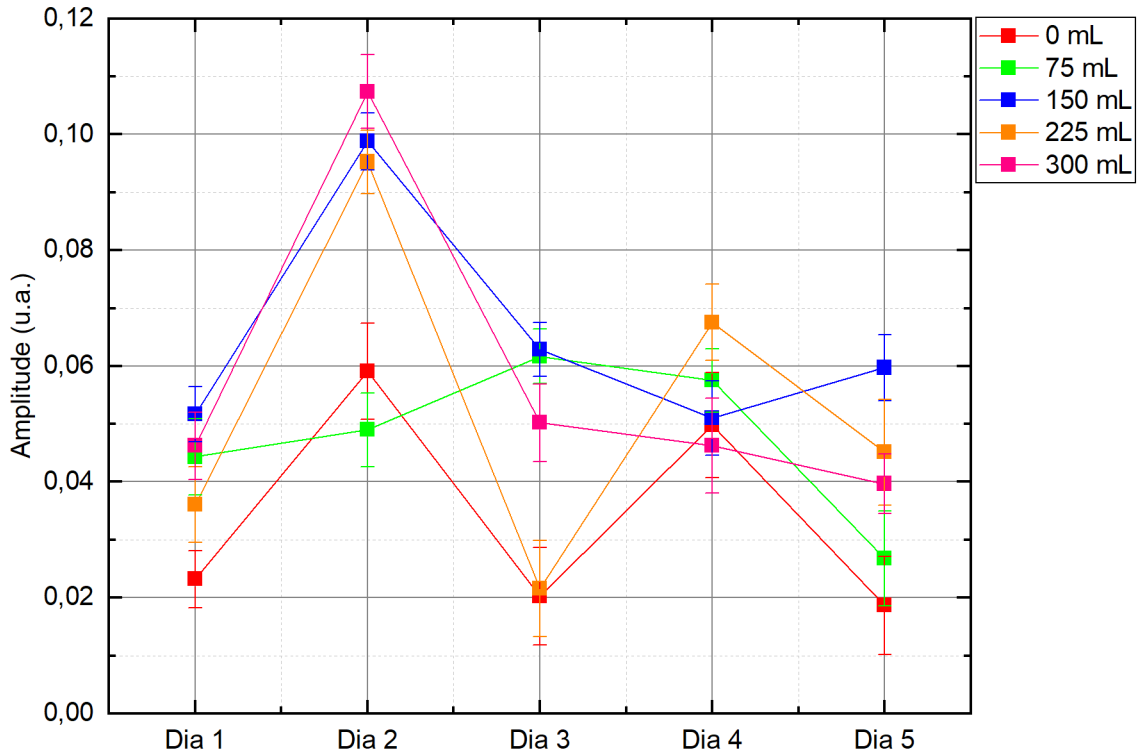
Fonte: ¹Robert *et al.* (2005); ²Saulnier *et al.* (2009); ³Kizil, Irudayaraj e Seetharaman (2002); ⁴Akerholm, Hinterstoisser e Salmén (2004).

É importante mencionar que, neste trabalho são mostrados espectros médios e os ajustes para as amostras de sementes de trigo do grupo controle elaboradas no primeiro dia após a instalação do teste da subseção 4.3.2. As mesmas análises foram realizadas para as demais amostras referentes aos demais dias do grupo controle e das amostras de sementes de trigo tratadas com as doses do i.a. THX que foram elaboradas do primeiro ao quinto dia após a instalação do teste da subseção 4.3.2, porém, devido a sua similaridade, os resultados não foram dispostos da mesma forma que o para a amostra do grupo controle referente ao primeiro dia após a instalação do teste.

Para verificar as variações das bandas no decorrer dos cinco dias de análise em relação às doses do i.a. THX foram realizadas análises quantitativas. Assim, para cada banda de análise, a amplitude de absorvância e seu respectivo erro para cada dose de tratamento e grupo controle durante os cinco dias, obtidos com o auxílio dos ajustes lorentzianos, foram coletados e agrupados. Então, foi elaborado um gráfico para cada uma das 27 bandas de análise.

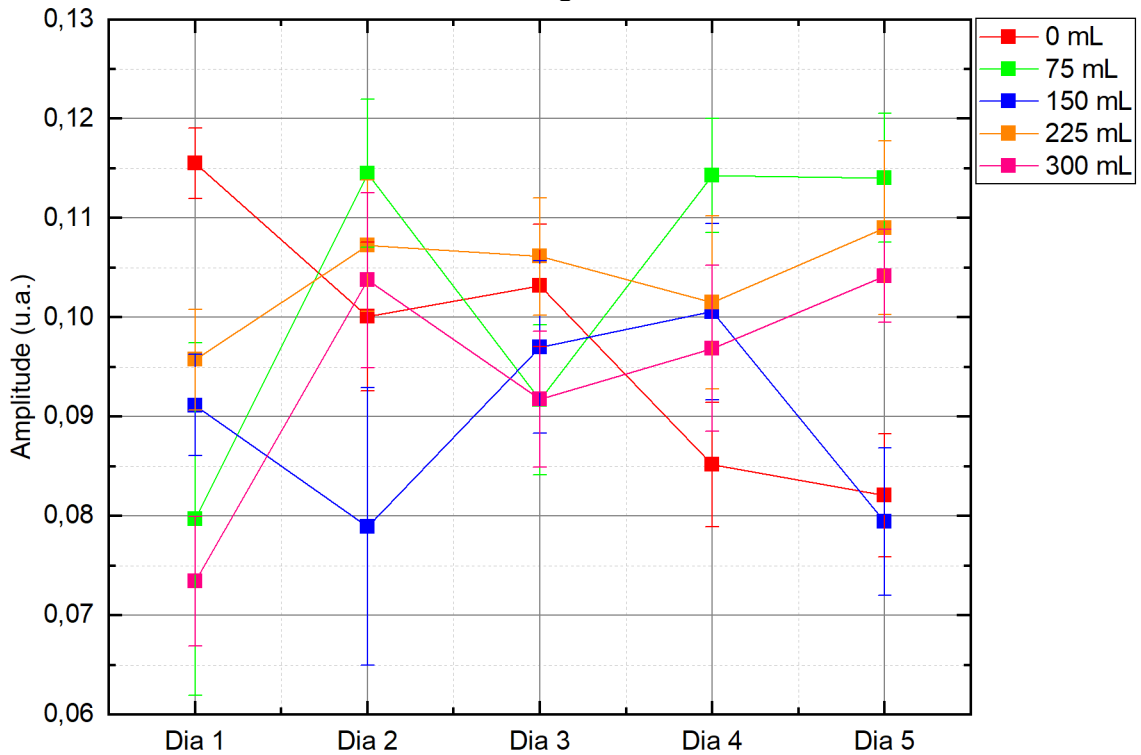
Com esses gráficos é possível avaliar o comportamento de cada banda ao longo dos cinco dias de análise e diferentes doses de tratamento e para o grupo controle. Dessa forma, para a região (b) são apresentadas as análises quantitativas das bandas nos Gráficos 23 ao 27. Para as demais regiões os gráficos estão disponíveis no apêndice A.

Gráfico 23 - Análise da banda 2852 cm⁻¹ ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX



Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 24 - Análise da banda 2872 cm⁻¹ ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX



Fonte: Autoria Própria (2021).

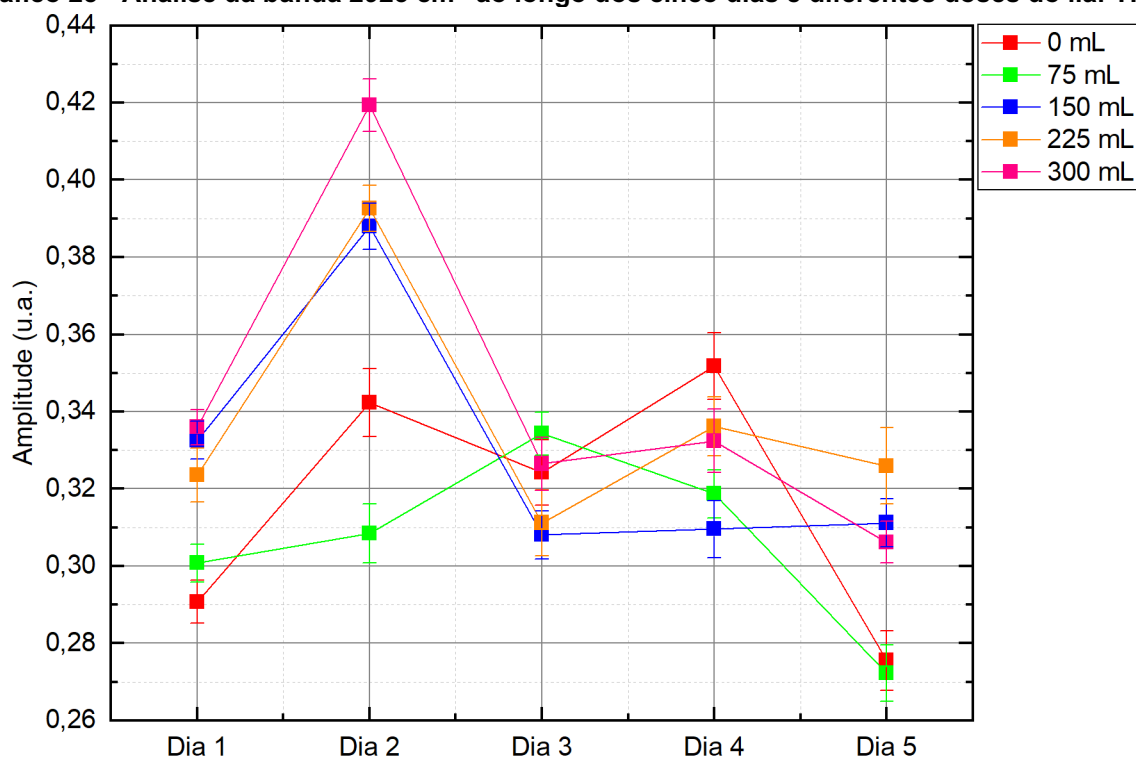
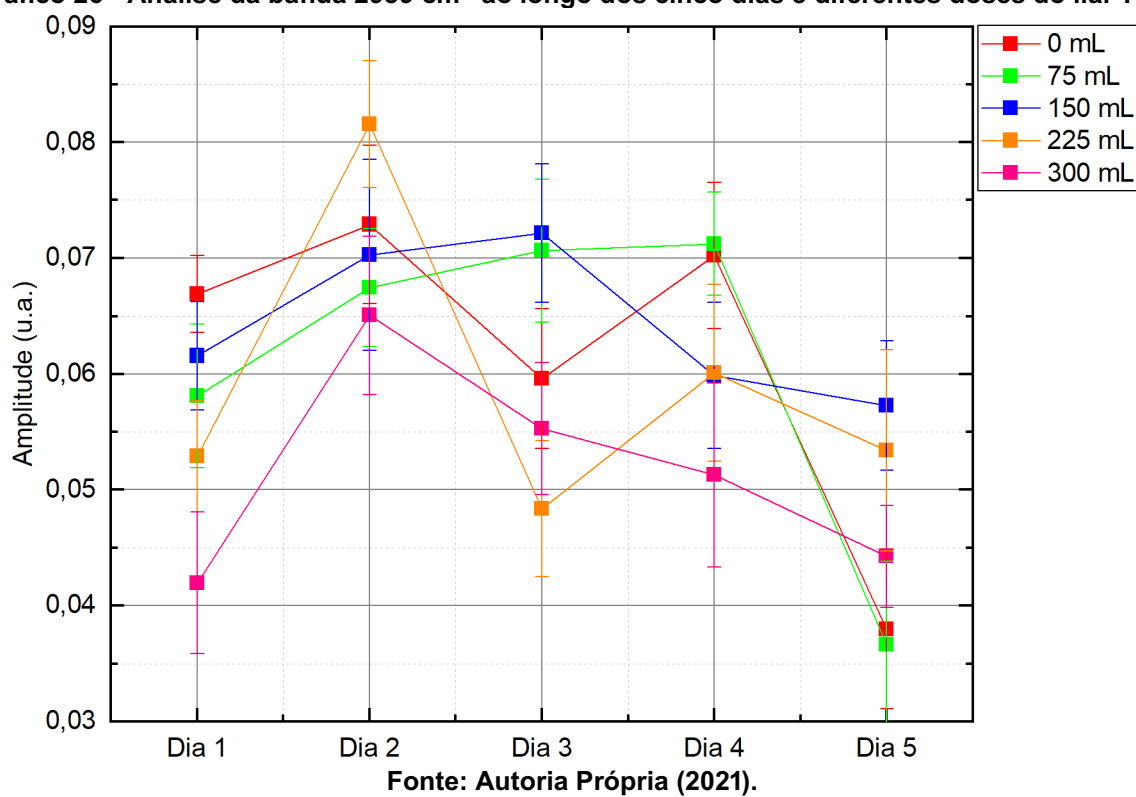
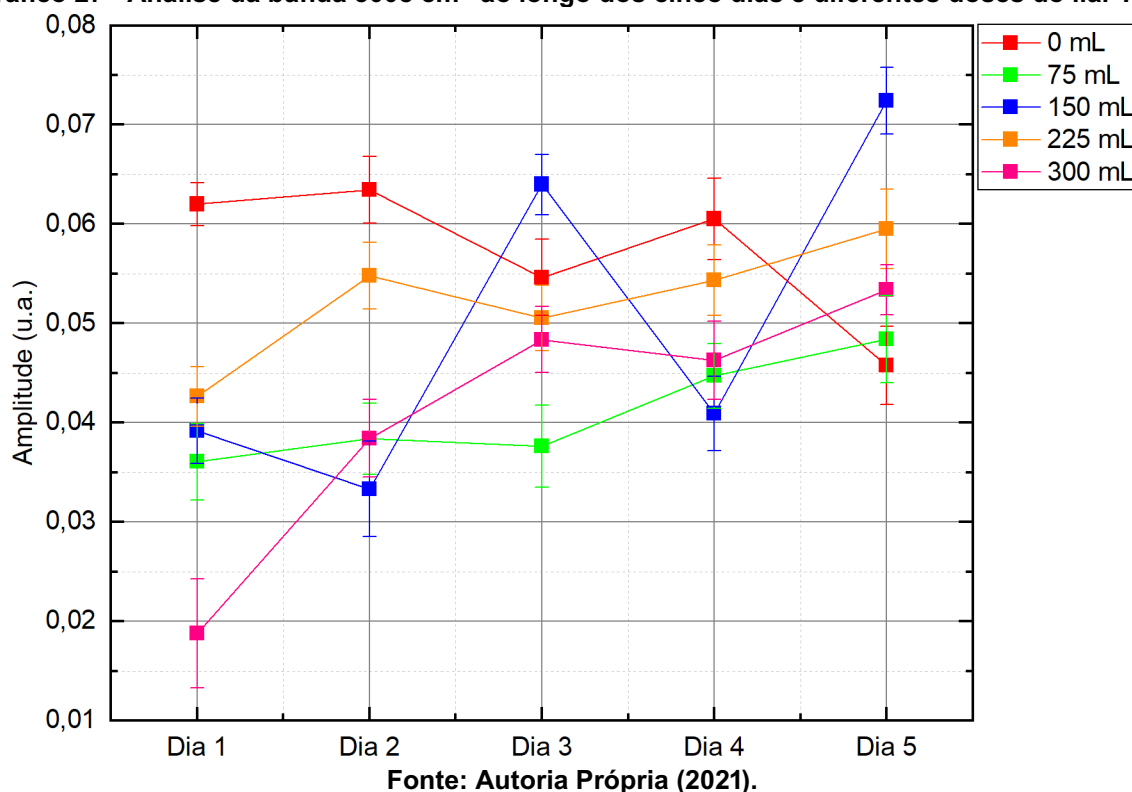
Gráfico 25 - Análise da banda 2923 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THXGráfico 26 - Análise da banda 2959 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX

Gráfico 27 - Análise da banda 3008 cm⁻¹ ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX



Após as análises desses gráficos, chegou-se à conclusão que não há diferença significativa entre as amplitudes de absorvância de cada uma das bandas em relação às diferentes doses de tratamento empregadas e grupo controle no decorrer dos cinco dias de análise para este lote específico da cultivar FPS Certero.

Suchowilska *et al.* (2012) analisaram quatro espécies de trigo do gênero *Triticum* pela técnica FTIR - ATR e encontraram espectros com absorvâncias semelhantes na maior parte do espectro. Então, como os cinco grupos de análise do presente trabalho são do mesmo gênero e espécie (*Triticum aestivum*) há uma forte possibilidade de não encontrar diferenças significativas entre os espectros.

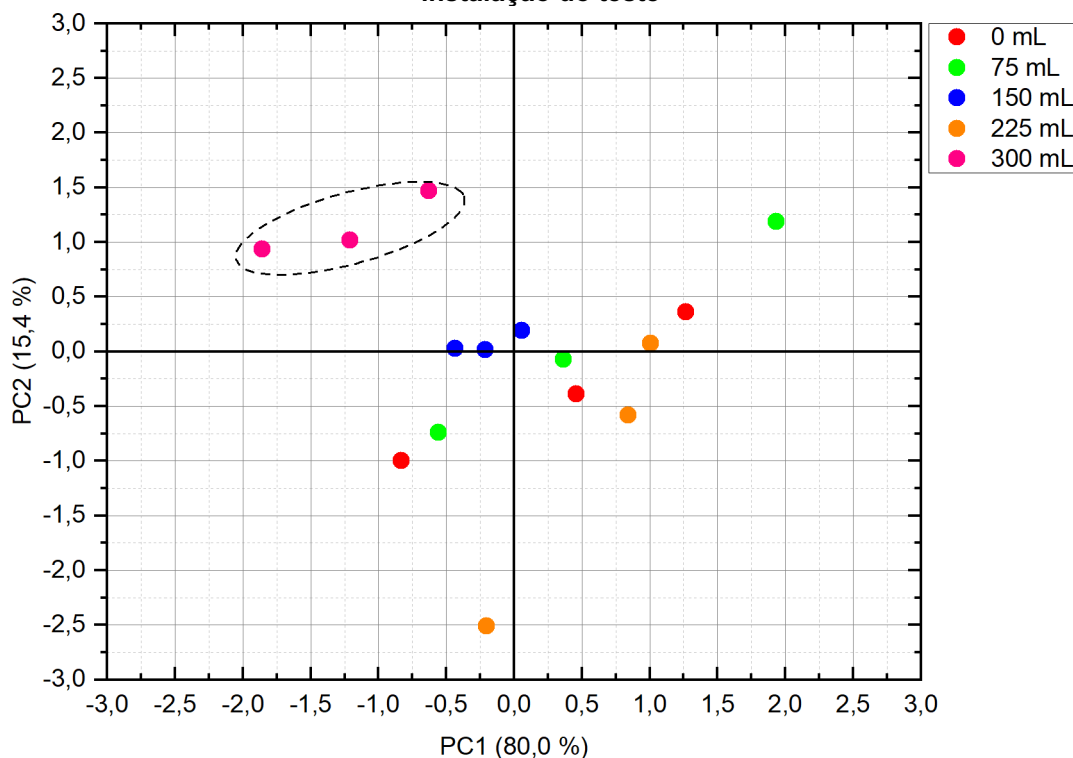
4.4.2 Análise dos principais componentes - análise do primeiro ao quinto dia após a instalação do teste

Outra análise para distinguir entre os grupos de sementes de trigo pode ser realizada através da PCA. Nos Gráficos 28 ao 32 serão apresentados os resultados da PCA para as quatro doses do i.a. THX empregadas e para o grupo controle na faixa espectral de 800 a 1500 cm⁻¹ para cada um dos dias de análise separadamente.

No Gráfico 28, a primeira componente (PC1) corresponde a 80,0 % da variabilidade espectral entre os espectros e a segunda componente (PC2)

corresponde a 15,4 %, correspondendo juntas a 95,4 % de variância dos dados. O grupo tratado com a dose de 150 mL do i.a. THX apresentou a tendência de formar um cluster, localizado na parte negativa da PC1, porém na parte positiva da PC2. Além disso, os outros grupos não apresentaram indícios de formação de agrupamentos distintos no primeiro dia após a instalação do teste.

Gráfico 28 - PCA - Análise dos espectros referente às amostras do primeiro dia após a instalação do teste



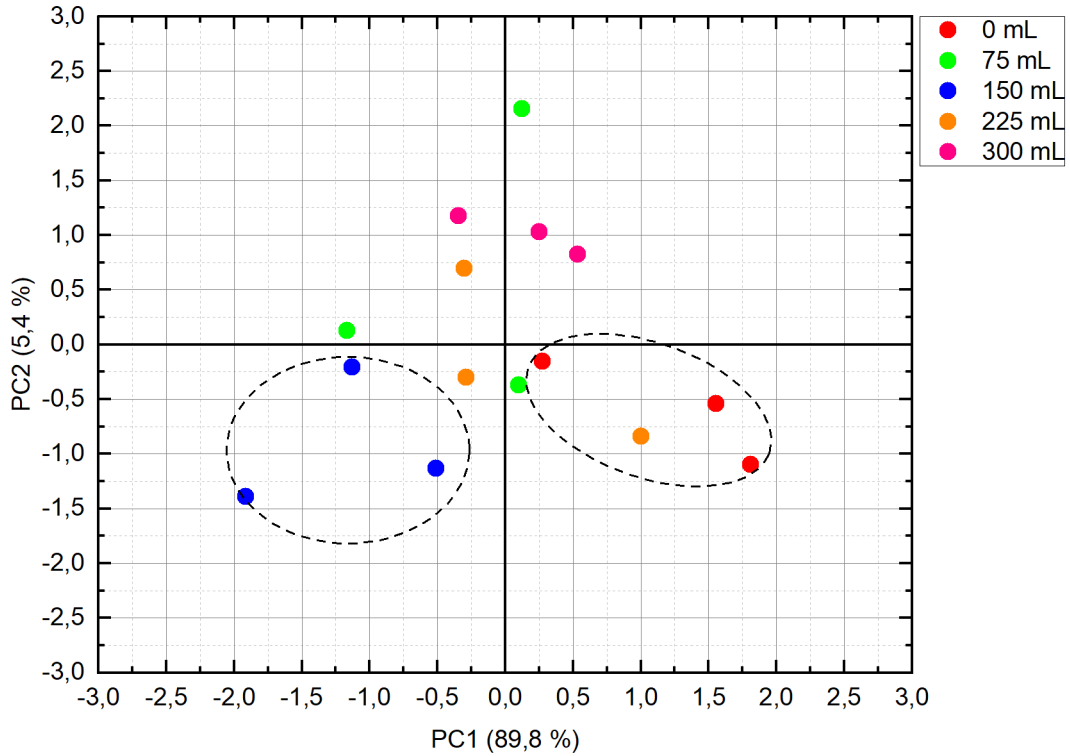
Fonte: Autoria Própria (2021).

No Gráfico 29, a PC1 corresponde a 89,8 % da variabilidade espectral entre os espectros e a PC2 corresponde a 5,4 %, correspondendo juntas a 95,2 % de variância dos dados. O grupo controle apresentou a tendência de formar um agrupamento, localizado na parte positiva da PC1, porém na parte negativa da PC2. Já o grupo tratado com a dose de 150 mL do i.a. THX apresentou a tendência de formar um agrupamento, localizado nas partes negativas da PC1 e positiva da PC2. Além disso, os outros grupos não apresentaram indícios de formação de agrupamentos distintos no segundo dia após a instalação do teste.

No Gráfico 30, a PC1 corresponde a 86,6 % da variabilidade espectral entre os espectros e a PC2 corresponde a 7,8 %, correspondendo juntas a 94,4% de variância dos dados. O grupo tratado com a dose de 75 mL do i.a. THX apresentou a tendência de formar um agrupamento, localizado nas partes negativas da PC1 e da

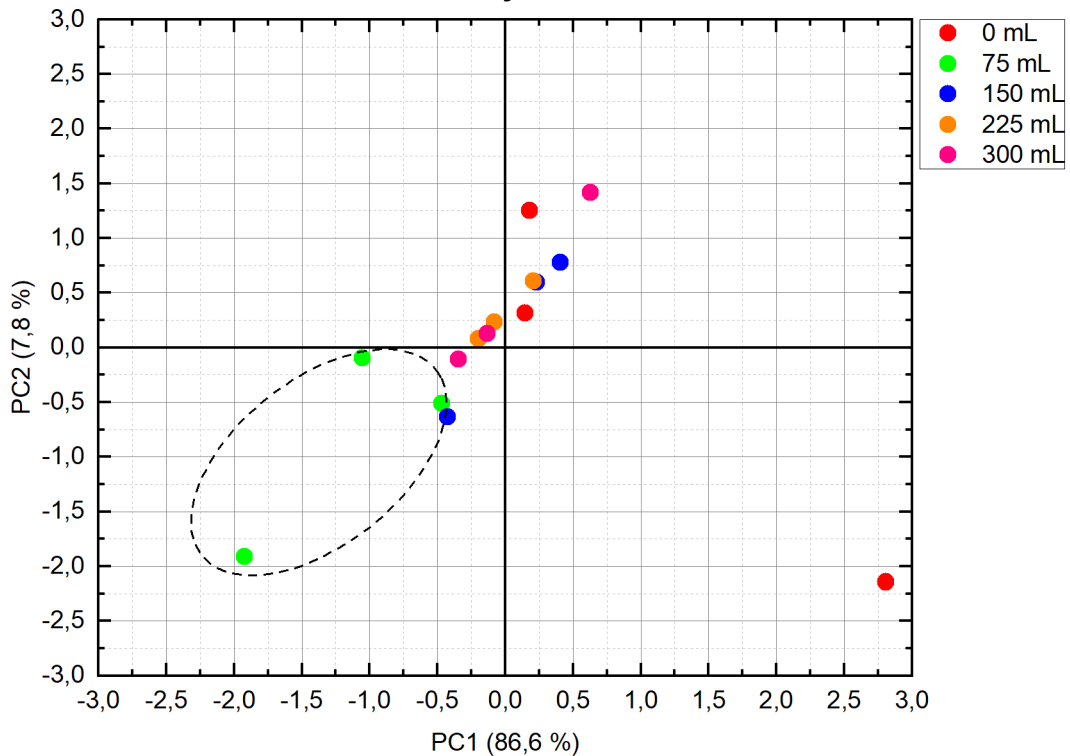
PC2. Além disso, os outros grupos não apresentaram indícios de formação de agrupamentos distintos no terceiro dia após a instalação do teste.

Gráfico 29 - PCA - Análise dos espectros referente às amostras do segundo dia após a instalação do teste



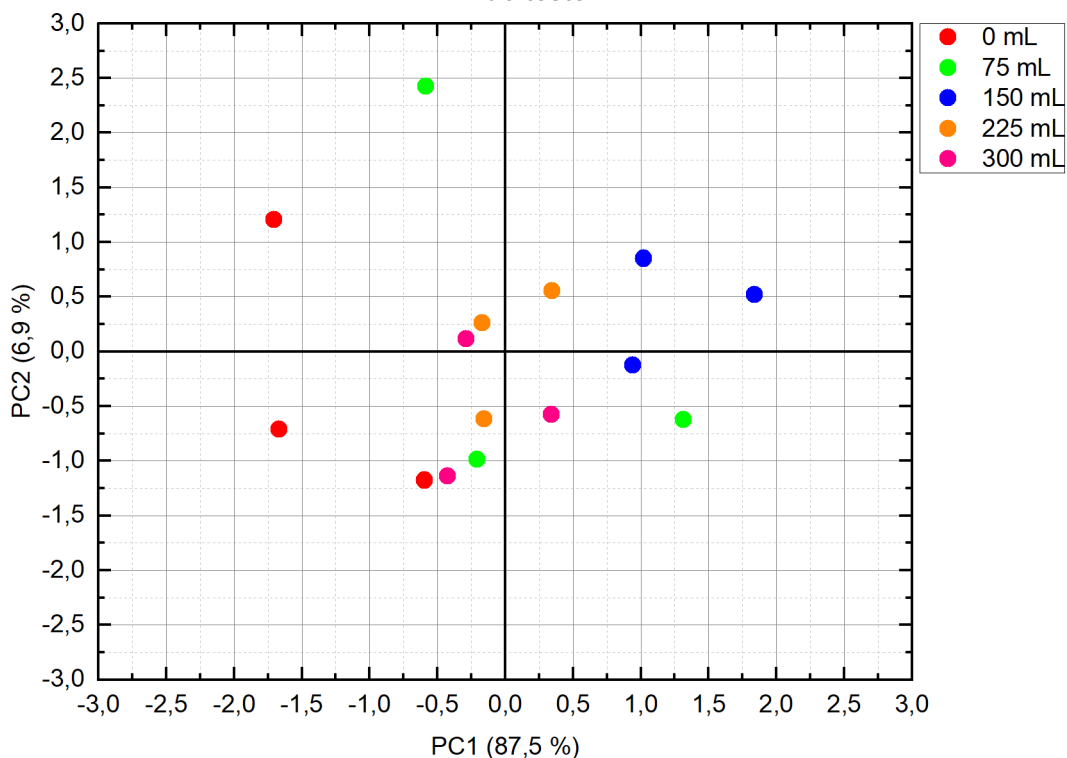
Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 30 - PCA - Análise dos espectros referente às amostras do terceiro dia após a instalação do teste



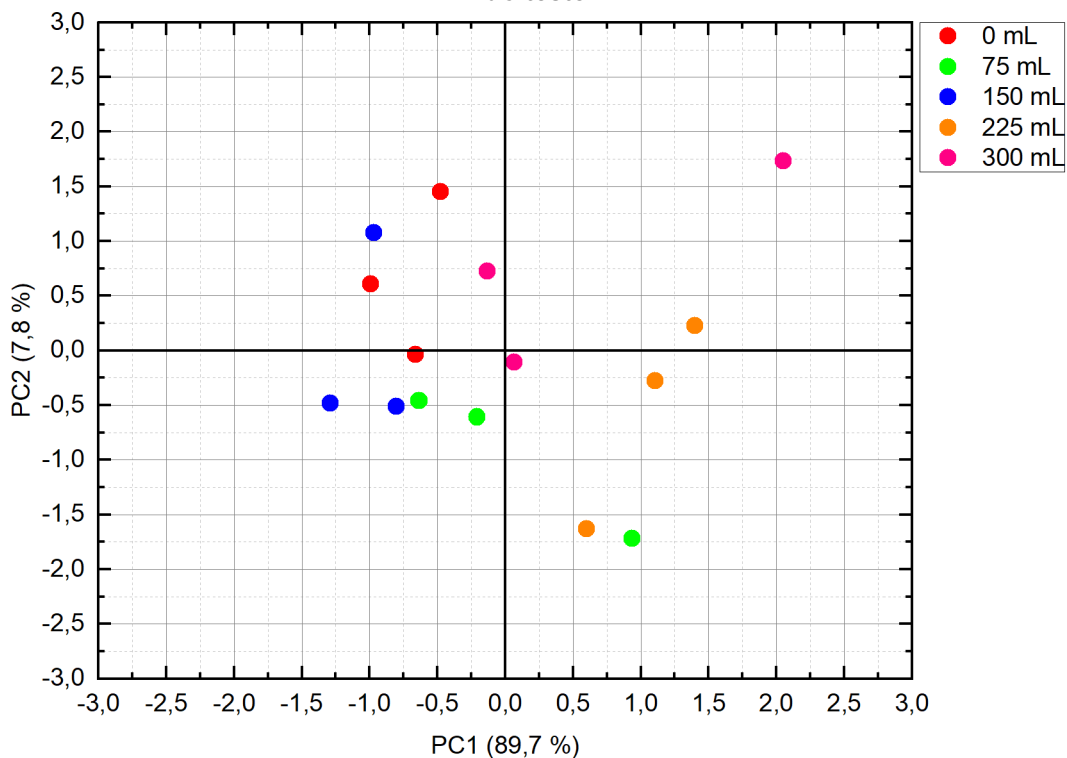
Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 31 - PCA - Análise dos espectros referente às amostras do quarto dia após a instalação do teste



Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 32 - PCA - Análise dos espectros referente às amostras do quinto dia após a instalação do teste



Fonte: Autoria Própria (2021).

No Gráfico 31, a PC1 corresponde a 87,5 % da variabilidade espectral entre os espectros e a PC2 corresponde a 6,9 %, correspondendo juntas a 94,4 % de variância

dos dados. Os grupos não apresentaram indícios de formação de agrupamentos distintos no quarto dia após a instalação do teste.

No Gráfico 32, a PC1 corresponde a 89,7 % da variabilidade espectral entre os espectros e a PC2 corresponde a 7,8 %, correspondendo juntas a 97,5 % de variância dos dados. Os grupos não apresentaram indícios de formação de agrupamentos distintos no quinto dia após a instalação do teste.

Com base nesses resultados, as análises de PCA realizadas nos espectros de absorção não permitem identificar as variações em função das doses de tratamento em relação ao grupo controle. Uma possível explicação é que os espectros apresentam pouca diferença e não podem ser diferenciados. Mesmo que em algumas doses em determinados dias seja possível à observação da formação de agrupamentos não foi possível determinar um padrão ao longo dos dias.

Foram realizadas análises de PCA e de HCA nos espectros na região do *fingerprint* obtidos através das amostras elaboradas do primeiro ao quinto dia após a instalação do teste da subseção 4.3.2. O resultado encontrado foi que, tanto para a PCA, quanto para a HCA realizada nos espectros de absorção das diferentes doses do i.a. THX a tendência de formação de agrupamentos não é evidente. Além disso, para a região da lignina (1505 a 1525 cm^{-1}), a mesma usada por Demir *et al.* (2015), as análises PCA e HCA não apresentam indícios de formação de clusters distintos.

Além disso, os resultados das análises dos espectros estão de acordo com os resultados das médias dos CPA, CR e das MS das plântulas normais do primeiro ao quinto e no oitavo dia após a instalação do teste, apresentados nas subseções 4.3.3 e 4.3.4, respectivamente, onde não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos.

4.5 Análises com a metodologia proposta com sementes de trigo com diferentes níveis de vigor

Com o objetivo de aplicar a metodologia proposta e avaliar suas possíveis aplicações, nesta subseção, serão apresentados os resultados das técnicas de UWPE, FTIR e de testes de CPA, CR e MS das plântulas normais em sementes com diferentes níveis de vigor.

Para esta nova etapa foram empregados dois lotes de sementes de trigo da espécie *Triticum aestivum* L., com diferentes níveis de vigor, 94 % (alto vigor) e 73 %

(baixo vigor). Os lotes, 1073 e 1074, são da cultivar ORS Madrepérola, safra de 2021, cultivadas na cidade de Arapoti - Paraná e cedidas pela Empresa Mutuca Sementes.

O tratamento foi realizado com o P.C. Cruiser® 350 FS (Syngenta Proteção de Cultivos Ltda., São Paulo, SP) e número do Lote 0070-17-11860. Nessa etapa, o tratamento empregado foi apenas o recomendado pela fabricante para sementes de trigo: 150 mL do i.a. THX para cada 100 kg de sementes (SYNGENTA, 2019). A calda, a aplicação e o processo após a aplicação foram realizados, como descrito na seção 3.1.

Nesta etapa, as sementes foram divididas em quatro grupos de sementes, e foram nomeados como: alto vigor - THX e baixo vigor - THX (grupos que foram tratados com a dose de 150 mL do i.a. THX); alto vigor e baixo vigor (grupos sem tratamento).

4.5.1 Ensaios das UWPEs

A metodologia para obter os perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs seguiu os mesmos procedimentos descritos na subseção 3.2., porém foram realizados apenas dois testes para cada grupo de sementes.

Na Tabela 22 são apresentadas as médias das inclinações dos perfis temporais e os somatórios totais das fotocontagens para os quatro grupos de sementes.

Tabela 22 - Médias das inclinações dos perfis temporais e dos somatórios totais das fotocontagens - Ensaio da UWPE

Grupo	Média da inclinação do perfil temporal das fotocontagens (x 10⁻⁶) (u.a.)	Média do Somatório total das fotocontagens (x 10⁶) (u.a.)
Alto Vigor	333,50 ± 41 a	3,33 ± 0,15 b
Alto Vigor - THX	225,00 ± 15 a	3,37 ± 0,08 b
Baixo Vigor	224,50 ± 11 a	3,13 ± 0,17 b
Baixo Vigor - THX	71,50 ± 60 a *	3,00 ± 0,01 b
Média Geral	214	3,21
C.V. (%)	17,68	3,72

Nota: Na coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade; médias seguidas de * diferem estatisticamente do grupo de alto nível de vigor, pelo teste de Dunnett, a 5 % de probabilidade; coeficiente de variância (C.V.).

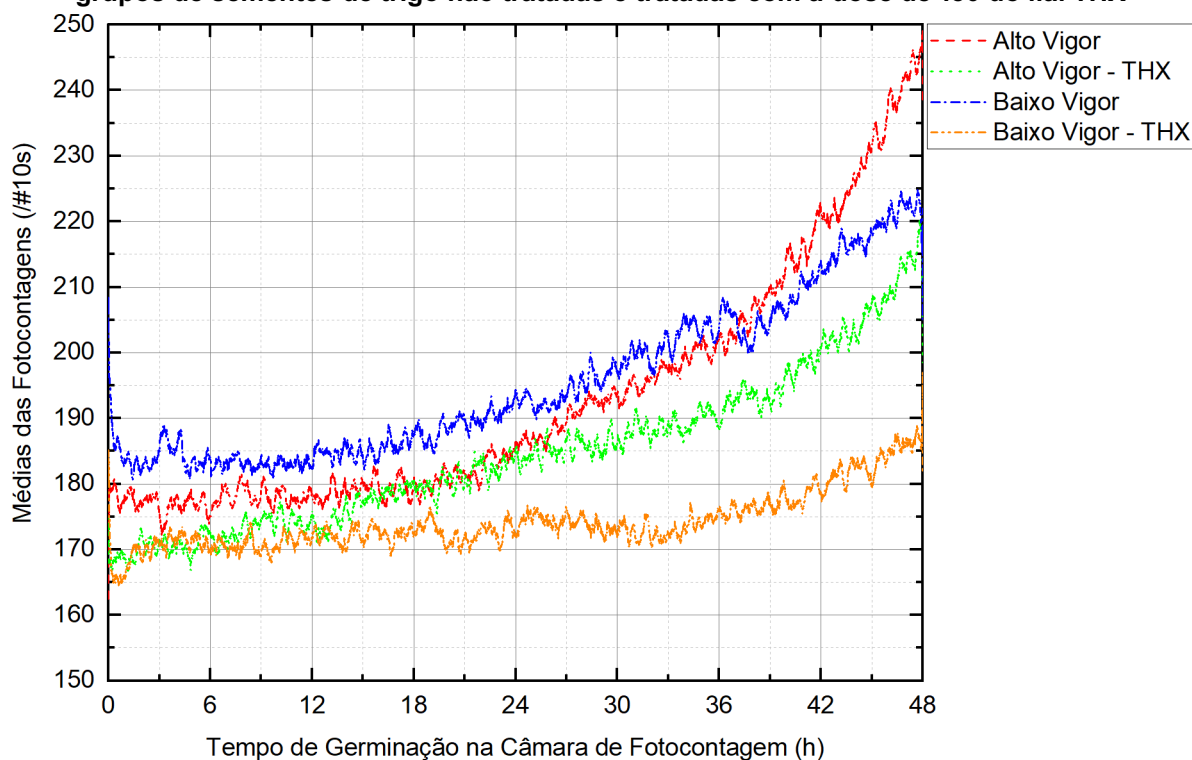
Fonte: Autoria Própria (2021).

Em relação às médias das inclinações dos perfis temporais e as médias dos somatórios totais das fotocontagens não há diferença significativa entre os grupos, pelo teste de Scott-Knott, mas a média das inclinações dos perfis temporais do grupo

de baixo vigor - THX apresenta diferença significativa em relação ao grupo de alto vigor, pelo teste de Dunnett, representada na Tabela 22 pelo símbolo *.

As médias dos perfis temporais para cada um dos quatro grupos de sementes de trigo analisados são apresentados no Gráfico 33.

Gráfico 33 - Médias dos dois perfis temporais das fotocontagens associados às UWPEs dos grupos de sementes de trigo não tratadas e tratadas com a dose de 150 do i.a. THX



Fonte: Autoria Própria (2021).

Ao final de cada um dos testes, as sementes foram retiradas da placa de Petri, e realizadas as leituras dos CPA e CR de cada uma das plântulas normais com o auxílio de uma régua milimetrada e, ao final, os comprimentos de cada uma das repetições são somados. Então, o cálculo para a média dos CPA e dos CR para cada um dos grupos seguiu o procedimento descrito na subseção 3.4.2.

Após as leituras dos comprimentos, as plântulas normais foram secas, e em seguida, calculadas as médias para cada grupo, conforme procedimento descrito na subseção 3.4.2. Os resultados são apresentados na Tabela 23.

Em relação às médias dos CPA e CR das MS das plântulas normais não há diferença significativa entre os grupos, pelo teste de Scott-Knott.

Tabela 23 - Médias dos CPA, CR e das MS das plântulas normais - Ensaio das UWPEs

Grupo	Média do CPA (cm)	Média do CR (cm)	Média da MS ($\times 10^{-3}$) (g)
Alto Vigor	5,08 \pm 0,75 a	8,39 \pm 1,21 b	42,7 \pm 9,2 c
Alto Vigor - THX	5,04 \pm 0,16 a	8,15 \pm 0,62 b	41,0 \pm 2,1 c
Baixo Vigor	5,45 \pm 0,21 a	8,69 \pm 0,49 b	30,8 \pm 0,7 c
Baixo Vigor - THX	4,65 \pm 0,38 a	8,52 \pm 1,09 b	26,5 \pm 7,5 c
Média Geral	5,05	8,44	35,25
C.V. (%)	8,73	10,73	17,10

Nota: Na coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade; coeficiente de variância (C.V.).

Fonte: Autoria Própria (2021).

4.5.2 Ensaio não ótico

Foram realizadas medidas dos CPA, CR e das MS das plântulas normais de trigo no oitavo dia após a instalação do teste, e os procedimentos de elaboração, leitura, soma e média dos resultados seguiram os passos descritos na subseção 3.4.2 e os resultados são apresentados na Tabela 24.

Tabela 24 - Médias dos CPA, CR e das MS referente às leituras no oitavo após a instalação do teste

Grupo	Média do CPA (cm)	Média do CR (cm)	Média da MS ($\times 10^{-3}$) (g)
Alto Vigor	8,93 \pm 0,38 a	18,53 \pm 1,02 b	14,1 \pm 0,7 d
Alto Vigor - THX	8,15 \pm 0,18 a	19,66 \pm 0,52 b	13,8 \pm 0,7 d
Baixo Vigor	8,36 \pm 0,52 a	18,07 \pm 1,53 b	13,4 \pm 0,7 d
Baixo Vigor - THX	8,84 \pm 0,71 a	16,32 \pm 1,44 c	13,0 \pm 1,0 d
Média Geral	8,57	18,15	13,6
C.V. (%)	5,71	6,61	5,80

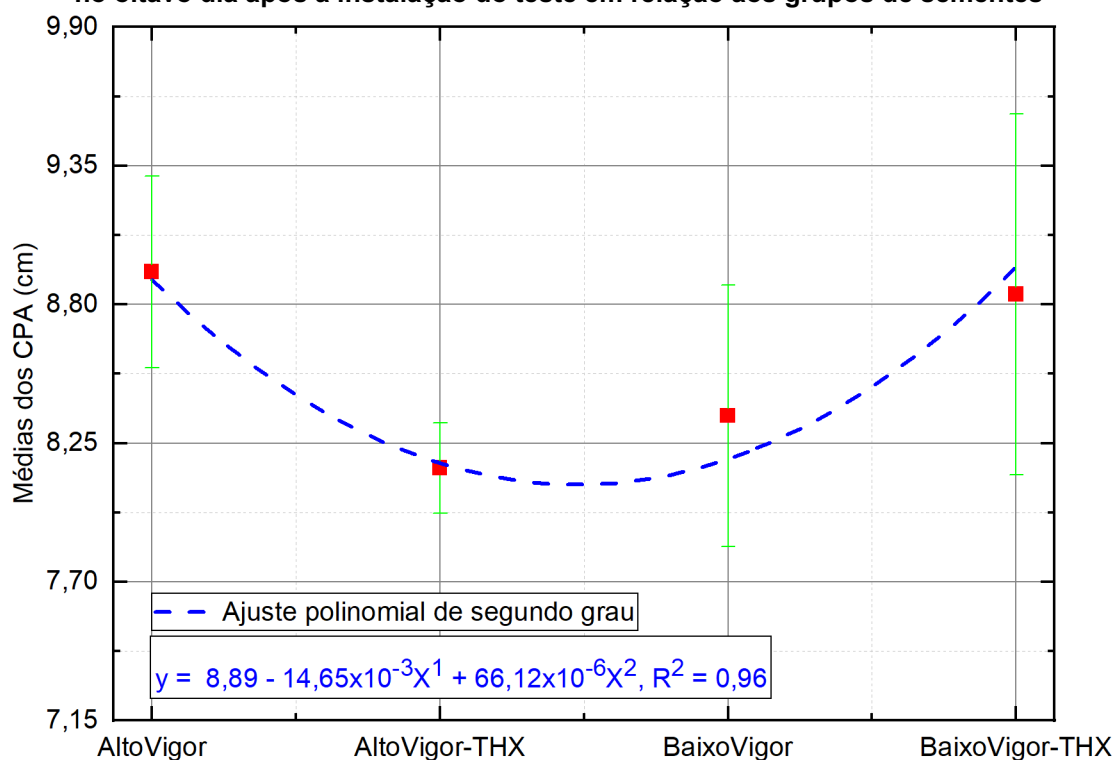
Nota: Na coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade; coeficiente de variância (C.V.).

Fonte: Autoria Própria (2021).

Nesse teste, foram realizadas quatro réplicas para cada um dos grupos e cada réplica tem 25 sementes. Dessa forma, conforme a Tabela 24, as médias dos CPA, CR e das MS das plântulas normais não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, com exceção da média do CR, em que o grupo com baixo vigor - THX é significativamente diferente dos demais grupos.

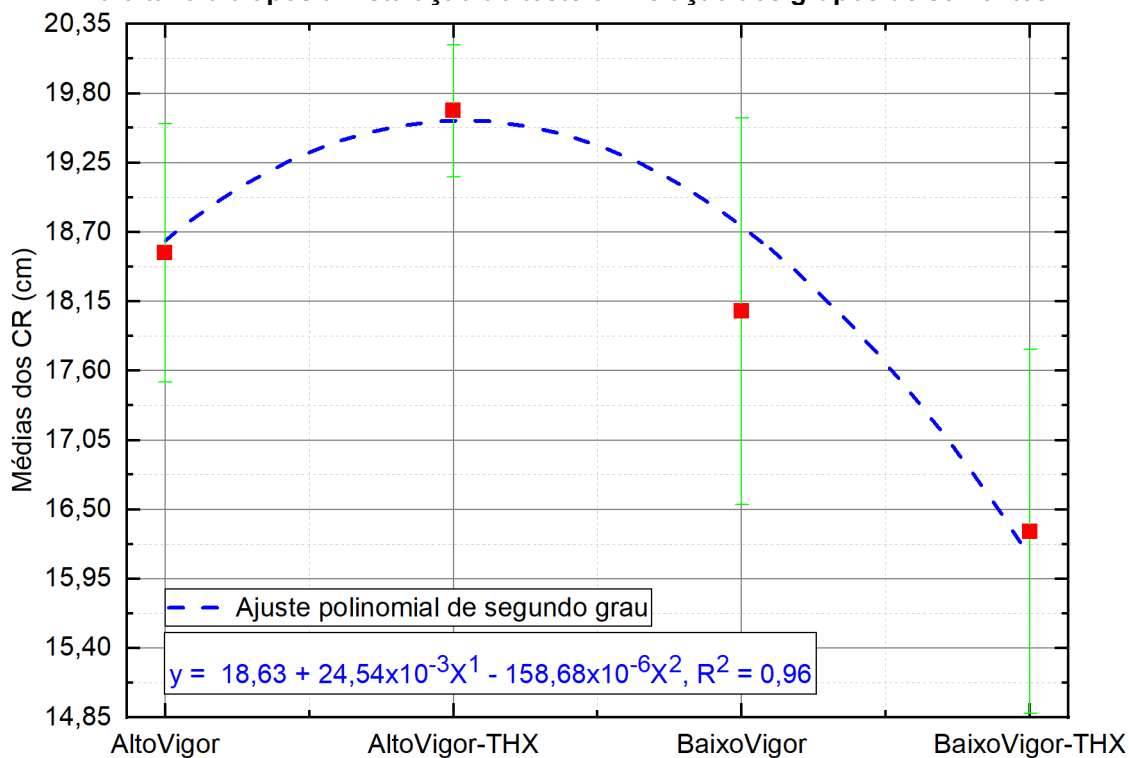
Seguindo a literatura, as leituras das médias dos CPA e CR seus respectivos desvios padrões das plântulas normais do oitavo dia após a instalação do teste em relação aos diferentes grupos ajustaram-se pela regressão polinomial de segundo grau, conforme os Gráficos 34 e 35, respectivamente.

Gráfico 34 - Ajuste polinomial de segundo grau para as médias dos CPA das plântulas normais no oitavo dia após a instalação do teste em relação aos grupos de sementes



Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 35 - Ajuste polinomial de segundo grau para as médias dos CR das plântulas normais no oitavo dia após a instalação do teste em relação aos grupos de sementes

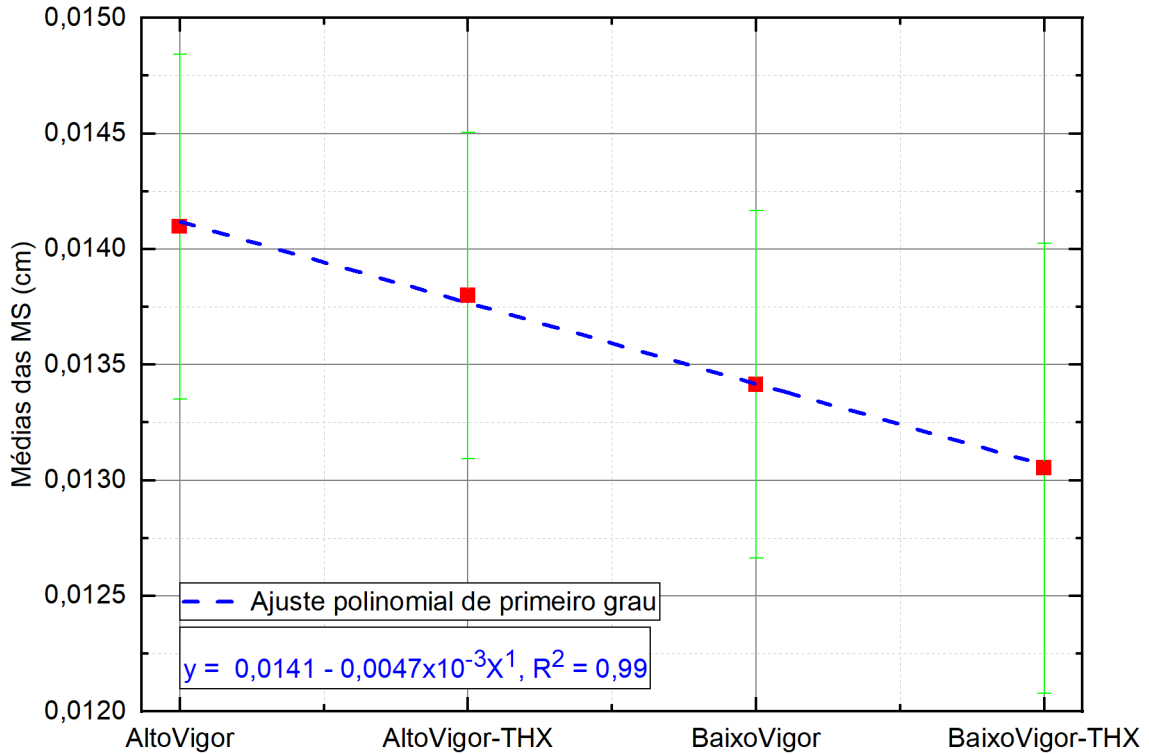


Fonte: Autoria Própria (2021).

Já para as leituras das médias das MS e seus respectivos desvios padrões das plântulas normais no oitavo dia após a instalação do teste em relação aos

diferentes grupos os dados ajustaram-se a regressão linear que é apresentada no Gráfico 36.

Gráfico 36 - Ajuste linear para as médias das MS das plântulas normais no oitavo dia após a instalação do teste em relação aos grupos de sementes



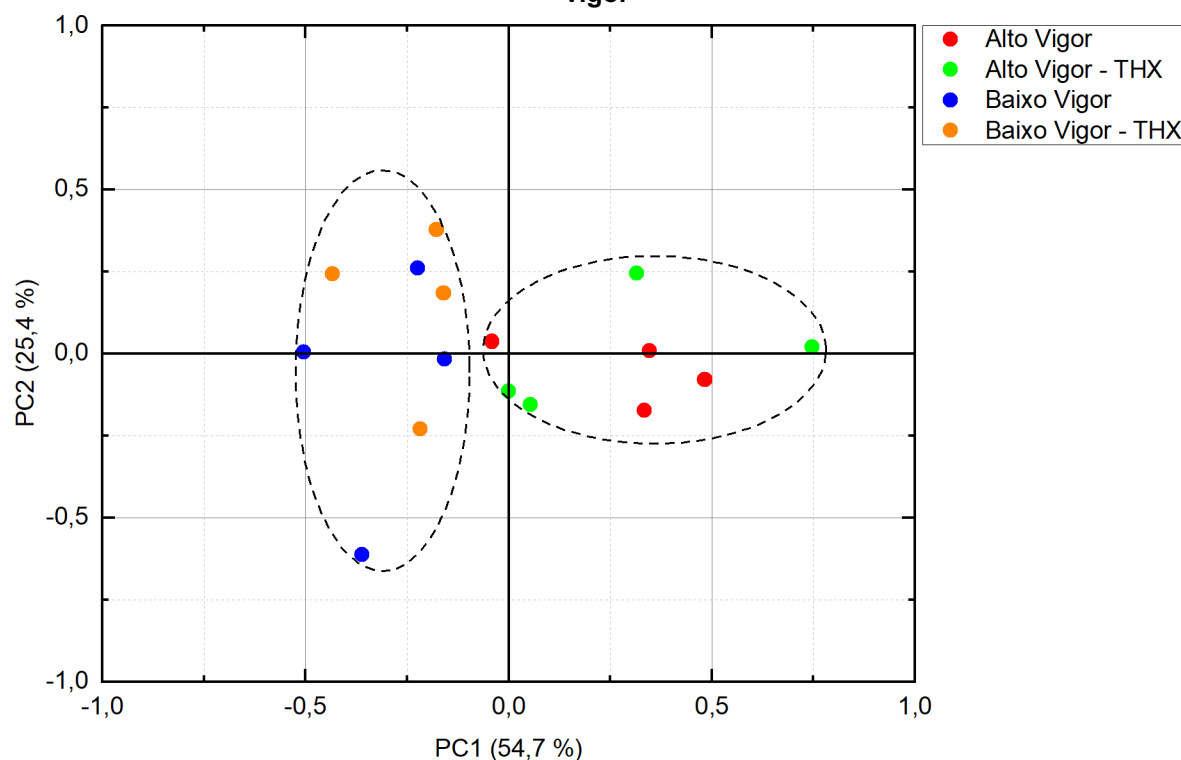
Fonte: Autoria Própria (2021).

4.5.3 Ensaio de FTIR

A instrumentação para obter os espectros de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier foi apresentada na subseção 3.5.

As amostras empregadas nos ensaios não óticos da subseção 4.5.2 foram empregadas para obter os espectros. Dessa forma, foram analisados dois grupos tratados e dois grupos de sementes sem tratamento, cada um deles com quatro amostras, totalizando 16 espectros. Então, a região conhecida como *fingerprint*, faixa de 800 a 1500 cm^{-1} foi selecionada em cada um dos 16 espectros obtidos. Esses espectros, após passarem pelo processo de normalização pelo valor da maior absorvância (normalização pelo máximo), tiveram a sua dimensionalidade reduzida através da técnica PCA. Assim, a análise multivariada, com base na PCA, foi empregada com o objetivo de diferenciar os diferentes níveis de vigor das sementes e o resultado é apresentado no Gráfico 37.

Gráfico 37 - PCA - Análise dos espectros FTIR referentes às sementes com diferentes níveis de vigor



Fonte: Autoria Própria (2021).

No Gráfico 37, a PC1 corresponde a 54,7 % da variabilidade espectral entre os espectros e a PC2 corresponde a 25,4 %, correspondendo juntas a 80,1 % de variância dos dados. Os diferentes níveis de vigor de sementes de trigo, tratadas ou não, apresentaram a tendência de formar clusters distintos.

Com base nesses resultados, a análise de PCA realizada nos espectros de absorção permitiu identificar dois diferentes clusters que representam os dois níveis de vigor de sementes existentes. Esse resultado está de acordo com Larios *et al.* (2020a; 2020b), em que foram identificados diferentes níveis de vigor de sementes através da técnica PCA. Contudo, a análise PCA dos espectros não permitiu observar diferentes clusters em relação ao tratamento com o inseticida.

5 CONCLUSÕES FINAIS

Na análise dos perfis temporais das UWPEs observou-se um aumento ao longo do tempo, contudo nos grupos mais estressados a taxa foi menor quando comparada ao grupo controle. Uma das possíveis respostas para esse comportamento pode ser encontrada pela associação do fator ótico e fisiológico.

A técnica das UWPEs pode ser empregada com um método auxiliar para analisar os processos fisiológicos que ocorrem nas sementes de trigo. Uma das vantagens dessa técnica é que os dados são obtidos com menor tempo e trabalho e com fácil interpretação dos dados. Outra vantagem é que os dados podem ser acessados remotamente através de softwares na forma de instrumentos virtuais dotados de tecnologia de internet das coisas (do inglês, *Internet of Thing* - IoT). Além disso, essa técnica é não destrutiva, permitindo a execução de outros testes com as mesmas amostras após o fim dos ensaios.

A técnica de FTIR, através das análises PCA, não permitiu classificar em diferentes clusters os diferentes grupos de sementes em mesmo lote de sementes, tal resultado está em consonância com os resultados do teste tradicional. Porém, em lotes com diferentes níveis de vigor a técnica foi sensível em classificar os diferentes níveis de vigor. Assim, essa técnica tem potencial de obter resultados de classificação mais rápidos que as técnicas tradicionais, mas ainda precisa ser melhor investigada.

As técnicas e suas correlações foram avaliadas com os resultados obtidos através de amostras de sementes de trigo, assim como um trabalho futuro, a metodologia deste trabalho pode ser expandida para outros tipos de sementes e avaliar as suas possíveis aplicações.

Portanto, através das análises dos resultados obtidos pelas técnicas óticas acredita-se que elas podem ser empregadas para a análise da qualidade fisiológica de sementes de trigo auxiliando na tomada de decisões e complementando os resultados obtidos pelos ensaios tradicionais. Dessa forma, as técnicas óticas auxiliam as técnicas tradicionais, pois em alguns casos, as técnicas padrão podem não apresentar a sensibilidade necessária para observar as possíveis diferenças entre os grupos de análise. Porém, essas técnicas não substituem os resultados obtidos pelas técnicas tradicionais.

REFERÊNCIAS

ABATI, J. **Armazenamento de sementes de genótipos de soja: aspectos bioquímicos e fisiológicos**. 147 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Pós-graduação em Agronomia, Londrina - PR, 2018. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.uel.br/document/?code=vtls000226289>. Acesso em: 08 ago. 2020.

ABITRIGO - Associação Brasileira da Indústria do Trigo. **O que é o Trigo?** Disponível em: <http://www.abitrigo.com.br/conhecimento-trigo.php>. Acesso em: 25 jan. 2021.

ABOUZARI, A.; FAKHERI, B. A. Reactive oxygen species: Generation, Oxidative Damage, and Signal Transduction. **International Journal of Life Sciences**, v. 9, n. 5, p. 3 - 17, 2015. <http://dx.doi.org/10.3126/ijls.v9i5.12699>. Disponível em: <https://www.nepjol.info/index.php/IJLS/article/view/12699>. Acesso em: 25 jan. 2021.

ÅKERHOLM, M; HINTERSTOISSER, B.; SALMÉN, L. Characterization of the crystalline structure of cellulose using static and dynamic FT-IR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, v. 339, n. 3, p. 569 - 578, 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carres.2003.11.012>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273603003717>. Acesso em: 24 mar. 2021.

ALAWAN, K. Application of Proteomics in Diagnosis of ADHD, Schizophrenia, Major Depression, and Suicidal Behavior. Donev, R. **Advances in Protein Chemistry and Structural Biology**, USA, Elsevier Inc., v.15, 2014, p. 283 - 315. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-800453-1.00009-9>. Disponível em: <https://books.google.com.br/books>. Acesso em: 24 jun. 2021.

ALMEIDA, A. S.; *et al.* Bioativador no desempenho fisiológico de sementes de cenoura. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 87 - 95, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222009000300010>. Acesso em: 24 jun. 2021.

ALMEIDA, A. S.; *et al.* Bioativador no desempenho fisiológico de sementes de arroz. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.3, p. 501 - 510, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222011000300013>. Acesso em: 24 jan. 2021.

ALMEIDA, A. S.; *et al.* Desempenho fisiológico de sementes de aveia-preta tratadas com Tiametoxam. **Ciências Agrárias**, v. 33, n. 5, p. 1619 - 1628, 2012. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33n5p1619>. Acesso em: 30 jun. 2021.

ALMEIDA, A. S.; *et al.* Thiamethoxam: An Insecticide that Improves Seed Rice Germination at Low Temperature. **Insecticides-Development of Safer and More Effective Technologies**, InTec, p. 417 - 426, 2013. <http://dx.doi.org/10.5772/53207>. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/42218>. Acesso em: 24 jun. 2021.

ALMEIDA, A. S.; *et al.* Physiological Performance of Rice Seeds Treated to Thiamethoxam and Placed under Storage. **American Journal of Plant Sciences**, v.5, p. 3788 - 3795, 2014. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2014.526396>. Acesso em: 24 jun. 2021.

AMARAL, A. S.; PESKE, S.T. Testes para avaliação rápida da qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Revista Bras. de Agrociência**, v.6 n.1, p. 12 - 15, 2000. <http://dx.doi.org/10.18539/CAST.V6I1.298>. Disponível em: <https://periodicos.ufpel.edu.br/ojs2/index.php/CAST/article/view/298>. Acesso em: 30 ago. 2020.

AMIR, R. M.; *et al.* Application of Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for the identification of wheat varieties. **J. Food Sci. Technol.**, v.50, p. 1018 - 1023, 2011. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-011-0424-y>. Acesso em: 30 maio 2021.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico - Tiametoxam**. Consulta Pública nº 71, de 04 de novembro de 2004. Disponível em: <http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B8682-1-0%5D.PDF>. Acesso em: 20 jan. 2021.

AOSA - Association of Official Seed Analysts. **Seed vigor testing handbook**. Stillwater: Seed Vigor Test Committee of the Association of Official Seed Analysts, p. 93, 1983.

BASHIR, F.; SIDDIQI, T.O.; IQBAL, M. The antioxidative response system in Glycine max (L.) Merr. exposed to Deltamethrin, a synthetic pyrethroid insecticide. **Environmental Pollution**, v.147, n.1, p.94 - 100, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2006.08.013>. Acesso em: 30 fev. 2021.

BERTOOGNA, E. G.; *et al.* Acute stress in seedlings detected by Ultra-Weak photon emission. **Journal of Photochem. and Photobiol. B: Biol.**, Elsevier, v. 118, p. 74 - 76, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphoto biol.2012.11.005>. Acesso em: 30 jun. 2020.

BERTOOGNA, E. G. **Projeto, Construção e Aplicações de Câmara Escura Portátil para Medidas de Bioluminescência Ultrafraca**. 174 f. Tese (Doutorado em Engenharia Elétrica) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação, Campinas - SP, 2013. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/260752>. Acesso em: 17 abr. 2017.

BERTOIGNA, E. G.; *et al.* Design and Implementation of a Measurement System for Ultra-Weak Bioluminescence Detection from *E. coli* Cultures Applied to Sanitary Control. **12th IEEE/IAS International Conference on Industry Applications**, 2016, Curitiba, PR. Anais. Curitiba, PR: INDUSCON, 2016. [http://dx.doi.org/10.1109 / INDUSCON.2016.7874576](http://dx.doi.org/10.1109/INDUSCON.2016.7874576). Acesso em: 30 jun. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de Sementes (RAS)**. Brasília - DF, p. 399, 2009. Disponível em: https://www.abrates.org.br/files/regras_analise_de_sementes.pdf. Acesso em: 15 maio 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Glossário Ilustrado de Morfologia**. Brasília - DF, p. 410, 2009. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/glossario-ilustrado-de-morfologia/view>. Acesso em: 15 maio 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 45, de 17 de setembro de 2013**. Padrões para a produção e a comercialização de sementes. Brasília - DF, Diário Oficial da União, seção 1, n. 183, ANEXO XXVI, p. 24, 20 set. 2013. Disponível em: https://diarios.s3.amazonaws.com/DOU/2013/09/Secao1/pdf/20130920_24.pdf?AWSAccessKeyId=AKIARMMD5JEAO67SMCVA&Expires=1621875427&Signature=T29VjoBaba4BbZ%2BvEX9w9HvwHV4%3D. Acesso em: 28 jul. 2020.

BOVERIS, A.; VARSAVSKY, A. I.; SILVA, S. G.; SÁNCHEZ, R. A. Chemiluminescence of soybean seeds: spectral analysis, temperature dependence and effect of inhibitors. **Photochemistry and Photobiology**, v. 38, n.1, p. 99 - 104, 1983. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1983.tb08372.x>. Acesso em: 28 jul. 2019.

CALABRÒ, E.; MAGAZÙ, S. A review of advances in the analysis of biological systems by means of Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. MOORE, E. (ed.). **Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR): methods, analysis, and research insights**. Hauppauge, New York: Nova Science Publishers, Inc., cap. 1, p. 1 - 9. ISBN 9781536103830, 2016.

CARVALHO, N. L.; PERLIN, R. S.; COSTA, E. C. Thiametoxam em tratamento de sementes. **Revista Monografias Ambientais**. v.2, n.2, p. 158 - 175, 2011. <http://dx.doi.org/10.5902/223613082314>. Acesso em: 28 jul. 2019.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4 ed. Jaboticabal - SP: FUNEP, cap. 5, cap. 7, cap. 9, p. 66 - 92; 132 - 137; 227 - 238, 2000.

CASTRO, G. S. A.; *et al.* Tratamento de sementes de soja com inseticidas e um bioestimulante. In: **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.43, n.10, p.1311-1318, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2008001000008>. Acesso em: 19 nov. 2019.

CASTRO, P. R. C. **Agroquímicos de controle hormonal na agricultura tropical**. Piracicaba - SP: Série Produtor Rural, ELSALQ - DIBD, n. 32, p. 46, 2006. Disponível em: <http://www.asbraer.org.br/index.php/consulta/item/2754-serie-produtor-rural-agroquimicos-de-controle-hormonal-na-agricultura-tropical-pdf>. Acesso em: 19 nov. 2019.

CHANG, J.J.; FISCH, J.; POPP, A. F. **Biophotons**. Springer - Science+Business Media, B.V. ISBN 978-90-481-5033-5, p. 432, 1998.

CIFRA, M.; POSPÍŠIL, P. Ultra-weak photon emission from biological samples: Definition, mechanisms, properties, detection and applications. In: **Journal of Photochem. and Photobiol. B: Biol.**, Elsevier, v. 139, p. 2 - 10, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.02.009>. Acesso em: 10 out. 2019.

COLLI, L.; FACCHINI, U. Light Emission by germinating plants. **Nuevo Cimento**, v. 12, p. 150 - 155, 1954. <https://doi.org/10.1007/BF02820374>. Acesso em: 10 jan. 2020.

COLLI, L.; *et al.* Further measurements on the bioluminescence of the seedlings. **Experientia**, v. 11, p. 479 - 481, 1955. <http://dx.doi.org/10.1007/bf02166829>. Acesso em: 10 nov. 2019.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **A cultura do Trigo**. p. 218, 2017. Disponível em: https://www.conab.gov.br/uploads/arquivos/17_04_25_11_40_00_a_cultura_do_trigo_versao_digital_final.pdf. Acesso em: 14 abr. 2020.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Série Histórica das Safras - Trigo**. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras?start=30>. Acesso em: 02 jul. 2021.

COPELAND, L. O.; MCDONALD, M. F. The Chemistry of Seeds; Seed Germination; Seed Viability and Viability Testing; Seed Vigor and Vigor Testing. **Principles of Seed Science and Technology: Plant Sciences Plant Physiology Agriculture Food Science**. 4. ed. Springer, Boston, MA: Springer Book Archive, 2001. p. 478. ISBN 978-1-4615-1619-4. <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4615-1619-4>. Acesso em: 02 jul.2019.

COSKUN, Y.; KILIC, S.; DURAN, R.E. The effects of the insecticide pyriproxyfen on germination, development and growth responses of maize seedlings. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 24, p.278-284, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/272476972_The_Effects_of_the_Insecticide_Pyriproxyfen_on_Germination_Development_and_Growth_Responses_of_Maize_Seedlings. Acesso em: 07 abr. 2021.

COSTA, M. G.; SOUZA, E. L.; STAMFORD, T.L.M. Qualidade tecnológica de grãos e farinhas de trigo nacionais e importados. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 28, n. 1, p. 220 - 225, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612008000100031>. Acesso em: 07 jan. 2020.

CZEKUS, B.; *et al.* Raman and Fourier transform infrared spectroscopy application to the Puno and Titicaca cvs. of quinoa seed microstructure and perisperm characterization. In: **Journal of Cereal Science**, Elsevier, v. 87, p. 25 - 30, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2019.02.011>. Acesso em: 07 abr. 2020.

DAN, L.G.M.; *et al.* Qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas com inseticidas sob efeito do armazenamento. In: **Rev. bras. sementes**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 131 - 139, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222010000200016>. Acesso em: 27 maio 2020.

DAN, L. G. M.; *et al.* Tratamento de sementes com inseticida e a qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Caatinga**, v.25, n.1, p. 45 - 51, 2012. Disponível em: <https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/caatinga/article/view/2073>. Acesso em: 08 abr. 2021.

DANTAS, B. F.; RIBEIRO, L. S.; ARAGÃO, C. A. Germination, initial growth and cotyledon protein content of bean cultivars under salinity stress. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.2, p.106 - 110, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222007000200014>. Acesso em: 10 jan. 2019.

DEMIR, P.; ONDE, S.; SEVERCAN, F. Phylogeny of cultivated and wild wheat species using ATR - FTIR spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 135, p. 757 - 763, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2014.07.025>. Acesso em: 08 abr. 2021.

DEVARAJ, B.; USA, M.; INABA, H. Biophotons: ultraweak light emission from living systems. **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, v. 2, n. 2, p. 188 - 193, 1997. [http://dx.doi.org/10.1016/S1359-0286\(97\)80064-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1359-0286(97)80064-2). Acesso em: 10 jun. 2020.

DWIVEDI, C.; *et al.* Chapter 9 - Electrospun Nanofibrous Scaffold as a Potential Carrier of Antimicrobial Therapeutics for Diabetic Wound Healing and Tissue Regeneration, Editor(s): Alexandru Mihai Grumezescu. **Nano and Microscale Drug Delivery Systems**, Elsevier, p. 147 - 164, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-52727-9.00009-1>. Acesso em: 20 maio 2020.

EICHELBERGER, L. Produção de sementes de trigo. **Trigo no Brasil: bases para produção competitiva e sustentável**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, cap. 14, p. 349 - 370, 2011. Acesso em: 10 jun. 2019.

FABUNMI, O. **A More Efficient Method for Extracting and Analyzing Pesticides in Baby foods**. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Kennesaw State University, 2019. Disponível em: https://digitalcommons.kennesaw.edu/mscs_etd/24/. Acesso em: 23 abr. 2020.

FAN, Y.; MA, S.; WU, T. Individual wheat kernels vigor assessment based on NIR spectroscopy coupled with machine learning methodologies, **Infrared Physics & Technology**, v.105, p. 1 - 7, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.infrared.2020.103213>. Acesso em: 23 abr. 2020.

FERREIRA, T. F.; *et al.* Quality of soybean seeds treated with fungicides and insecticides before and after storage. **J. Seed Sci.**, Londrina, v. 38, n. 4, p. 278 - 286, 2016. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v38n4161760>. Acesso em: 20 jun. 2020.

FESSEL, S.A.; *et al.* Efeito do tratamento químico sobre a conservação de sementes de milho durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v.25, n.1, p. 25 - 28, 2003. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222003000100005>. Acesso em: 20 jun. 2019.

FOOTITT, S.; *et al.* Ultraweak Photon Emission from the Seed Coat in Response to Temperature and Humidity - A Potential Mechanism for Environmental Signal Transduction in the Soil Seed Bank. **Photochemistry and Photobiology**, v. 92, p. 678 - 687, 2016. <http://dx.doi.org/10.1111/php.12616>. Acesso em: 23 abr. 2020.

FRANCESCHI, L.; *et al.* Fatores pré-colheita que afetam a qualidade tecnológica de trigo. **Ciência Rural**, v.39, n.5, p.1624 - 1631, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782009005000060>. Acesso em: 20 jun. 2020.

GALLEP, C.M. Ultraweak, spontaneous photon emission in seedlings: toxicological and chronobiological applications. **Luminescence**, v. 29, p. 963 - 968, 2014. <http://dx.doi.org/10.1002/bio.2658>. Acesso em: 15 maio 2020.

GALLEP, C. M.; ROBERT, D. Time-resolved Ultra-Weak photon emission as germination performance indicator in single seedlings. **Photochemistry and Photobiology**, v. 1, n. 100001, p. 1 - 5, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jpap.2020.100001>. Acesso em: 10 dez. 2020.

GALLEP, C. M.; SANTOS, S.R. Photon-counts during germination of wheat (*Triticum aestivum*) in wastewater sediment solutions correlated with seedling growth. **Seed Sci. & Technol.**, v. 35, p. 607 - 614, 2007. <http://dx.doi.org/10.15258/sst.2007.35.3.08>. Acesso em: 28 abr. 2020.

GORGULU, S. T.; DOGAN, M.; SEVERCAN, F. The Characterization and Differentiation of Higher Plants by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. **Applied Spectroscopy**, v. 61, n. 3, p. 300 - 308, 2007. <http://dx.doi.org/10.1366/000370207780220903>. Acesso em: 20 fev. 2020.

GRASSO, F.; *et al.* Spectra of photons emitted from germinating seeds. In: **Il Nuovo Cimento D**, v. 13, n.7, p. 891 - 897, 1991. <http://dx.doi.org/10.1007/bf02457176>. Acesso em: 25 jun. 2020.

GRASSO, R.; *et al.* Nondestructive evaluation of watermelon seeds germination by using delayed luminescence. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biol.**, v. 187, p. 126 - 130, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.08.012>. Acesso em: 21 maio 2020.

GUO, Q.; *et al.* Alleviation of adverse effects of drought stress on wheat seed germination using atmospheric dielectric barrier discharge plasma treatment. **Scientific reports**, v. 7, p. 1 - 14, 2017. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-16944-8>. Acesso em: 27 abr. 2020.

GURWITSCH, A. A., Historical review of the problem of mitogenetic radiation. In: **Experientia**, v. 44, p. 545 - 550, 1988. <http://dx.doi.org/10.1007/BF01953301>. Acesso em: 27 abr. 2020.

HAMAMATSU PHOTONICS KK. **Integrated Photon Counting Head**: Operating Instructions. p. 1 - 4, 2004. Disponível em: <https://www.digchip.com/datasheets/parts/datasheet/190/H6240SERIES.php>. Acesso em: 23 abr. 2020.

HAVAUX, M. Spontaneous and thermoinduced photon emission: New methods to detect and quantify oxidative stress in plants. **Trends in Plant Science**, v.8, n.9, p. 409 - 413, 2003. [http://dx.doi.org/10.1016/S1360-1385\(03\)00185-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1360-1385(03)00185-7). Acesso em: 23 abr. 2020.

HIDEG, È. On the spontaneous ultraweak light emission of plants. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.18, p. 239 - 244, 1993. [http://dx.doi.org/10.1016/1011-1344\(93\)80070-P](http://dx.doi.org/10.1016/1011-1344(93)80070-P). Acesso em: 10 jun. 2019.

HORII, A.; MCCUE, P.; SHETTY, K. Enhancement of seed vigour following insecticide and phenolic elicitor treatment. **Bioresource Technology**, v.98, p. 623 - 632, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2006.02.028>. Acesso em: 10 jul. 2020.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Perfil Ambiental Tiametoxam - CAS 153719-23-4**. p.19, 2019. Disponível em: http://www.ibama.gov.br/phocadownload/agrotoxicos/perfisambientais/2019/Perfil%20Ambiental%20-%20Tiametoxam%20-%202002_10_2019.pdf. Acesso em: 01 jun. 2021.

ICHIMURA, T.; *et al.* Two-dimensional imaging of ultra-weak emission from intact soybean roots. **Photochemistry and Photobiology**, v. 50, n.3, p. 283 - 286, 1989. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-1097.1989.tb04161.x>. Acesso em: 01 ago. 2019.

KAI, S.; MITANI, T.; FUJIKAWA, M. Anomalous biophoton emission during germination process of red bean. **Japanese. Journal of Applied Physics**, v.32, n. 3B, p. 417 - 419, 1993. <http://dx.doi.org/10.1143/JJAP.32.L417>. Acesso em: 10 jan. 2020.

KAI, S.; MORIYA, T. O. K.; FUJIMOTO, T. Growth Control and Biophoton Radiation by Plant Hormones in Red Bean. **Japanese. Journal of Applied Physics** v.34, n. 12A, p. 6530 - 6538, 1995. <http://dx.doi.org/10.1143/JJAP.34.6530>. Acesso em: 10 jan. 2020.

KARUPPANAPANDIAN, T.; *et al.* Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, Australia, v. 5, n. 6, p. 709 -725, 2011. Disponível em: http://www.cropj.com/kim_5_6_2011_709_725.pdf. Acesso em: 23 fev. 2020.

KATO, K.; *et al.* Application of Ultra-Weak photon emission measurements in agriculture. **Journal of Photochemistry and Photobiology. B: Biology.**, Elsevier, v. 139, p. 54 - 62, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.06.010>. Acesso em: 23 maio 2020.

KIZIL, R.; IRUDAYARAJ, J.; SEETHARAMAN, K. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3912 - 3918, 2002. <http://dx.doi.org/10.1021/jf011652p>. Acesso em: 20 maio 2020.

KRZYZANOWSKI, F. C. **Vigor de sementes**. Embrapa Soja, p. 11, 1999. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/460706>. Acesso em: 17 maio 2021.

KURDZIEL, M.; *et al.* Stable radicals and biochemical compounds in embryos and endosperm of wheat grains differentiating sensitive and tolerant genotypes - EPR and Raman studies. **Journal of Plant Physiology**, v. 183, p. 95 - 107, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2015.05.018>. Acesso em: 13 out. 2019.

LARIOS, G. S.; *et al.* Laser-Induced Breakdown Spectroscopy as a Powerful Tool for Distinguishing High- and Low-Vigor Soybean Seed Lots. **Food Analytical Methods**, v.13, p. 1691 - 1698, 2020. <http://dx.doi.org/10.1007/s12161-020-01790-8>. Acesso em: 20 maio 2020.

LARIOS, G. S.; *et al.* Soybean seed vigor discrimination by infrared spectroscopy and machine learning algorithms. **Analytical Methods**, n.35, v.12, p. 4303 - 4309, 2020. <http://dx.doi.org/10.1039/d0ay01238f>. Acesso em: 22 maio 2020.

LIU, R.; YU, H.; HUANG, Y.; Structure and morphology of cellulose in wheat straw. **Cellulose**, v.12, n.1, p. 25 - 34, 2005. <http://dx.doi.org/10.1023/b:cell.0000049346.28276.95>. Acesso em: 10 fev. 2020.

LOBO JÚNIOR, M.; BRANDÃO, L.T.D.; MARTINS, B.E.M. Testes para avaliação da qualidade de sementes de Feijão Comum. **Embrapa: Circular Técnica**, n. 90, 2013. Disponível em: https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/970251/1/circu_lartecnica90.pdf. Acesso em: 22 nov. 2020.

LORENZETTI, E. R.; *et al.* Influência de inseticidas sobre a germinação e vigor de sementes de milho após armazenamento. In: **Cultivando Saber**, v.7, n.1, p.14 - 23, 2014. Disponível em: <https://www.fag.edu.br/revista/cultivando-o-saber/38>. Acesso em: 07 abr. 2021.

MACEDO, W. R; CASTRO, P. R. C. Thiamethoxam: Molecule moderator of growth, metabolism and production of spring wheat. In: **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Elsevier, v.100, p. 299 - 304, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.05.003>. Acesso em: 25 fev. 2020.

MACEDO, W. R. **Bioativador em culturas monocotiledôneas: avaliações bioquímica, fisiológicas e da produção**. 80 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba - SP, 2012. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11144/tde-28032013-103142/pt-br.php>. Acesso em: 13 abr. 2021.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176 - 177, 1962. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>. Acesso em: 15 maio 2020.

MANKE, A.; WANG, L.; ROJANASAKUL, Y. Mechanisms of nanoparticle induced oxidative stress and toxicity. **BioMed research international**, v. 2013, p. 1 - 15, 2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/942916>. Acesso em: 15 out. 2019.

MARCOS FILHO, J. M. **Fisiologia de Sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, p. 495, v. 12, p. 199 - 204; 150 - 158; 222- 249; 430 - 440; 459 - 486, 2005, ISBN 85-7133-038-7.

MARCOS FILHO, J. Importância do potencial fisiológico da semente de soja. **Informativo Abrates**, v. 23, n. 1, p. 21-24, 2013. Disponível em: https://www.abrates.org.br/img/informations/950ff7fa-c03a-4960-a520-f6cb0870babe_IA%20vol.23%20n.1.pdf. Acesso em: 17 jun. 2020.

MARCOS FILHO, J. Conceituação do vigor der sementes em seus múltiplos aspectos. **Informativo Abrates**, v.27, n.3, p.28, 2017. Disponível em: [https://www.abrates.org.br/img/informations/f2811391-056f-42d0-85d0-f47aea183d7cINFORMATIVO%20-%20Anais%20XXCBSementes%20\(1\).pdf](https://www.abrates.org.br/img/informations/f2811391-056f-42d0-85d0-f47aea183d7cINFORMATIVO%20-%20Anais%20XXCBSementes%20(1).pdf). Acesso em: 25 abr. 2021.

MIRANDA, M. Z. **Trigo: germinação e posterior extrusão para obtenção de farinha integral extrusada de trigo germinado**. Brasília - DF, p. 1 - 34, 2006. Folheto (Documentos online 74). Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/852529/trigo-germinacao-e-posterior-extrusao-para-obtenc-ao-de-farinha-integral-extrusada-de-trigo-germinado>. Acesso em: 12 maio 2018.

MORAES, T. A.; *et al.* Spontaneous light Emission of wheat seedlings with K₂Cr₂O₇. **Latin America Optics and Photonics Conference (LAOP)**, p. 27 - 30, 2010. <http://dx.doi.org/10.1364/LAOP.2010.MB11>. Acesso em: 15 maio 2020.

MORGENSTERN, H. F.; ZUNINO, P.M. **Biologia de Cultivos Anuales - Cereales - Trigo Harinero**. Disponível em: http://www7.uc.cl/sw_educ/cultivos/index2.htm. Acesso em: 07 dez. 2020.

MOROI, A.; *et al.* Prediction of the ash content of wheat flours using spectral and chemometric methods. **The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI - Food Technology**, v. 35, p. 33 - 45, 2011. Disponível em: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012070305>. Acesso em: 28 jan. 2021.

MUGNOL, D.; EICHELBERGER, L. Qualidade de sementes. In: **IV Mostra de Iniciação Científica da Embrapa Trigo - Resumos**, Passo Fundo - RS. Documento On-line 94, p. 45, 2008 Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do94.htm. Acesso em: 11 ago. 2020.

MUSUMECI, F.; *et al.* Relation between delayed luminescence and functional state in soya seeds. In: **II Nuovo Cimento D**, v. 16, n.1, p. 65 - 73, 1994. <http://dx.doi.org/10.1007/bf02452003>. Acesso em: 20 abr. 2020.

NAKAGAWA, J. Teste de vigor baseados na avaliação de plântulas. In: **VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M.** Testes de vigor em sementes. Jaboticabal: FUNEP, p.49 - 86, 1994. Acesso em: 15 maio 2020.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho de plântulas. In: **KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B.** Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, p. 1 - 24, 1999. Acesso em: 15 maio 2020.

NAUMANN, D. Infrared Spectroscopy in Microbiology. **Encyclopedia of Analytical Chemistry**, John Wiley & Sons Ltd., Chichester, p. 102 - 131, 2000. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Helmut-Brandl3/post/Hey_mates_How_do_I_determine_which_functional_groups_affect_lead_to_the_adsorption_of_heavy_metals_from_the_FTIR_data/attachment/59d62ae679197b80779894b0/AS%3A340995494432769%401458311069362/download/paperNaumann2000_FTIRmicrobiology.pdf. Acesso em: 20 out. 2020.

NEMATOLLAHI, M. A.; *et al.* Ultra-weak photon emission: a nondestructive detection tool for food quality and safety assessment. **Quality Assurance and Safety of Crops & Foods**, v.12, p. 18 - 31, 2020. <http://dx.doi.org/10.15586/qas.v12iSP1.766>. Acesso em: 10 dez. 2020.

NIGGLI, H. J. Ultraweak photons emitted by cells: Biophotons. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Elsevier, v. 14, p. 144 - 146, 1991. [http://dx.doi.org/10.1016/1011-1344\(92\)85090-H](http://dx.doi.org/10.1016/1011-1344(92)85090-H). Acesso em: 20 abr. 2020.

OLIVEIRA, L. E. M. **Temas de Fisiologia Vegetal: Tipos de substâncias de reserva**. Universidade Federal de Lavras, 2015. Disponível em: <http://www.ledson.ufla.br/metabolismo-da-germinacao/mobilizacao-de-reservas/tipos-de-substancias-de-reserva/>. Acesso em: 10 nov. 2018.

OLIVEIRA, T. L.; *et al.* Biochemical changes and physiological quality of corn seeds subjected to different chemical treatments and storage times. **Journal Seed Science**, Londrina, v. 42, e202042038, 2020. <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v42234181>. Acesso em: 10 jan. 2021.

PAIVA, D. L.; *et al.* Espectroscopia no Infravermelho e Espectroscopia no ultravioleta. **Introdução à Espectroscopia**. 4. ed. rev. São Paulo: Cengage Learning, cap. 2, cap. 7, p. 16 - 99; 365, 2010.

PEDERSEN, M.; *et al.* Monitoring wheat mitochondrial compositional and respiratory changes using Fourier transform mid-infrared spectroscopy in response to agrochemical treatments. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, Elsevier, v. 173, p. 727-732, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2016.10.025>. Acesso em: 10 jan. 2021.

POPP, F.A.; CHANG, J.J. The Physical Background and the Informational Character of Biophoton Emission. In: Chang JJ., Fisch J., Popp FA. (eds) **Biophotons**. Springer, Dordrecht, p. 239 - 250, 1998. https://doi.org/10.1007/978-94-017-0928-6_18. Acesso em: 20 abr. 2020.

POPP, F. A. Biophoton - Background, experimental results, theoretical approach and applications. In: Popp FA., Belousov L. (eds) **Integrative Biophysics**, cap. 12, p. 387 - 438, 2003. https://doi.org/10.1007/978-94-017-0373-4_12. Acesso em: 20 nov. 2019.

POPP, F. A. Properties of biophotons and their theoretical implications. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 41, n. 5, p. 391 - 402, 2003. PMID: 15244259. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15244259/>. Acesso em: 13 abr. 2019.

POSPÍŠIL, P. Ultra-weak photon emission from living systems – from mechanism to application. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 139, p.1, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.06.013>. Acesso em: 13 abr. 2019.

POSPÍŠIL, P.; PRASAD, A.; RÁC, M. Role of reactive oxygen species in ultra-weak photon emission in biological systems. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 139, p. 11 - 23, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.02.008>. Acesso em: 15 maio 2019.

RAFIEIOLHOSSEINI, N.; *et al.* Photocount statistics of Ultra-Weak photon emission from germinating mung bean. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Elsevier, v. 162, p. 50 - 55, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.06.001>. Acesso em: 13 abr. 2019.

RAVEN, P. H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S. E. **A composição Molecular das Células Vegetais**. BIOLOGIA Vegetal. 7. ed. rev. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 2, p. 17 - 30, 2007. ISBN 978-85-277-1229-3.

REIS, E. M. **Morfologia da planta de trigo**. Disponível em: <http://www.orsementes.com.br/sistema/anexos/artigos/58/Morfologia%20planta%20de%20trigo.pdf>. Acesso em: 01 jul. 2018.

RICO, C. M.; PERALTA-VIDEA, J. R.; GARDEA-TORRESDEY, J. L. Differential effects of cerium oxide nanoparticles on rice, wheat, and barley roots: A Fourier transform infrared (ft-ir) microspectroscopy study. **Applied Spectroscopy**, v.69, n.2, p. 1 - 9, 2015. <http://dx.doi.org/10.1366/14-07495>. Acesso em: 25 jun. 2019.

ROBERT, P.; *et al.* FT-ir investigation of cell wall polysaccharides from cereal grains. arabinoxylan infrared assignment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n.18, p. 7014 -7018, 2005. <http://dx.doi.org/10.1021/jf051145y>. Acesso em: 10 maio 2020.

RODRIGUEZ-SAONA, L.; AYVAZ, H.; WEHLING, R. L. Infrared and raman spectroscopy. NIELSEN, S.S. (ed.). **Food Analysis**. 5. ed. West Lafayette: Springer, cap. 8, p. 107 - 128, 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-3-319-45776-5.pdf>. Acesso em: 27 abr. 2020.

SANTOS, R. M. S.; SANTOS, M. F.; COSTA, M. F. D. Quimioluminescência e Bioluminescência. **Química Nova**, v.16, n. 3, p. 200 - 209, 1992. Disponível em: http://static.sites.s bq.org.br/quimicanova.s bq.org.br/pdf/Vol16No3_200_v16_n3_%286%29.pdf. Acesso em: 24 abr. 2020.

SAULNIER, L.; *et al.* Wheat endosperm cell walls: Spatial heterogeneity of polysaccharide structure and composition using micro-scale enzymatic fingerprinting and FT-IR microspectroscopy. **Journal of Cereal Science**, v. 50, n. 3, p. 312 - 317, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2009.05.003>. Acesso em: 10 maio 2020.

SCHULZ, H.; BARANSKA, M. Identification and quantification of valuable plant substances by IR and raman spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, Elsevier, v. 43, p. 13 - 25, Elsevier, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vibspec.2006.06.001>. Acesso em: 20 jun. 2020.

SELIGER, H. H. The origin of bioluminescence. In: **Photochemistry and Photobiology**, v. 21, p. 355 - 361, 1975. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-1097.1975.tb06684.x>. Acesso em: 10 maio 2020.

SILVA, S. A.; MARCOS FILHO, J.; KRZYZANOWSKI, F. C. **Teste de comprimento de plântulas para avaliação do vigor de sementes de trigo**. Informativo ABRATES, Londrina, v. 23, n. 2, p. 144, ago. 2013. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/91050/1/Teste-de-comprimento-de-plantulas-para-avaliacao-do-vigor-de-sementes-de-trigo.PDF>. Acesso em: 03 jan. 2021.

SINGH, C. B.; *et al.* Synchrotron based infrared imaging study of compositional changes in stored wheat due to infection with *Aspergillus glaucus*. **Journal of Stored Products Research**, v. 47, n. 4, p. 372 -377, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jspr.2011.07.001>. Acesso em: 20 jun. 2020.

SINGH, V. K.; *et al.* Spectroscopic investigation of wheat grains (*Triticum aestivum*) infected by wheat seed gall nematodes (*Anguina tritici*). In: **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, Elsevier, v. 9, p. 58 - 66, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2016.11.005>. Acesso em: 10 abr. 2020.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Teoria da espectrometria de absorção na região do infravermelho. In: **Princípios de Análise Instrumental**. Trad. 5°. ed. Porto Alegre: Bookman, cap. 16, p. 342 - 360, 2002. ISBN 9788573079760.

SKOOG, D. A.; *et al.* Medidas Espectroscópicas e Instrumentos com Transformada de Fourier. **Fundamentos de Química Analítica**. Trad. 8°. ed. São Paulo: Thomson Learning, cap. 24, cap. 25, p. 675 - 693; 734 - 740, 2005. ISBN 9788522104369.

SLAWINSKI, J.; GRABIKOWSKI, E.; CIESLA, L. Spectral distribution of the ultraweak luminescence from germinating plants. **Journal of Luminescence**, v.24-25, p. 791 - 794, 1981. [https://doi.org/10.1016/0022-2313\(81\)90093-4](https://doi.org/10.1016/0022-2313(81)90093-4). Acesso em: 13 maio 2020.

SUCHOWILSKA, E.; *et al.* Fourier transform infrared - attenuated total reflection for wheat grain. **International Agrophysics**, v. 26, p.207 - 210, 2012. <http://dx.doi.org/10.2478/v10247-012-0030-x>. Acesso em: 21 jun. 2020.

SUJKA, K.; *et al.* The Application of FT-IR Spectroscopy for Quality Control of Flours Obtained from Polish Producers. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2017, p. 1 - 9, 2017. <http://dx.doi.org/10.1155/2017/4315678>. Acesso em: 15 maio 2020.

SURGET, A.; BARRON, C. Histologie du grain de blé. **Industrie des Céréales**, n.145, p. 3 - 7, 2005. Disponível em: <https://www.aemic.com/uploads/pdfs/ldC145.03.pdf>. Acesso em: 07 abr. 2021.

SYNGENTA. **CRUISER® 350 FS**. Disponível em: https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/zhg256/f/cruiser_350_fs_2.pdf?token=1562327970. Acesso em: 03 out. 2019.

SYNGENTA. **CRUISER® 700 WS**. Disponível em: https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/zhg256/f/cruiser_700_ws_1.pdf?token=1545237566. Acesso em: 25 maio 2021.

TAIZ, L.; *et al.* **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6ª edição, Editora Artmed, p. 520 - 526; 734, 2017. ISBN 9788582713662.

TAVARES, S.; *et al.* Avaliação dos efeitos fisiológicos de tiametoxam no tratamento de sementes de soja. **Revista de Agricultura**, v.82, p.47 - 54, 2007. Acesso em: 20 nov. 2019.

TONIN, R. F. B.; *et al.* Potencial fisiológico de sementes de milho híbrido tratadas com inseticidas e armazenadas em duas condições de ambiente. **Scientia Agropecuária**, v. 5, n. 1, p. 7 - 16, 2014. <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2014.01.01>. Acesso em: 15 jul. 2020.

TULUKCU, E.; CEBI, N.; SAGDIC, O. Chemical Fingerprinting of Seeds of Some *Salvia* Species in Turkey by Using GC-MS and FTIR. **Food**, v. 8, n. 118, p. 1 - 12, 2019. <http://dx.doi.org/10.3390/foods8040118>. Acesso em: 10 maio 2020.

USDA - United States Department of Agriculture. **Grain: World Markets and Trade**. Disponível em: <https://downloads.usda.library.cornell.edu/usda-esmis/files/zs25x844t/v118sd53m/q524kn052/grain.pdf>. Acesso em: 25 set. 2021.

VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de condutividade elétrica. In: **KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.)**. Vigor de sementes: conceitos e testes. Brasília: ABRATES, cap. 4, p. 1 - 26, 1999.

WANG, J.; YU, Y. Relationship between Ultra-Weak bioluminescence and vigour or irradiation dose of irradiated wheat. **Luminescence**, v. 24, p. 209 - 212, 2009. <http://dx.doi.org/10.1002/bio.1096>. Acesso em: 27 ago. 2019.

WEI, Z.; JIAO, D.; XU, J.; Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy to Study Effects of Magnetic Field Treatment on Wheat (*Triticum aestivum L.*) Seedlings. **Journal of Spectroscopy**, Hindawi, p. 1 - 7, 2015. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/570190>. Acesso em: 20 abr. 2021.

WIJEWARDANA, C.; REDDY, K.R.; BELLALOU, N. Soybean seed Hindi physiology, quality, and chemical composition under soil moisture stress, **Food Chem.**, v.278, p. 92 - 100, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.035>. Acesso em: 30 jan. 2020.

XIE, Z. Ultraweak bioluminescence of maize under NaCl stress. In: **2009 International Conference on Optical Instruments and Technology: Optoelectronic Imaging and Process Technology**, v.7513, 2009. <http://dx.doi.org/10.1117/12.836550>. Acesso em: 20 mar. 2020.

YAN, Y. Biophoton emission and delayed luminescence of plants. In: **Shen X., Van Wijk R. (eds) Biophotonics**. Springer, Boston, MA., p.195 - 204, 2005. ISBN 9780387249957. <http://dx.doi.org/10.1007/0-387-24996-615>. Acesso em: 03 maio 2020.

YU, P.; *et al.* Rapid characterization of molecular chemistry, nutrient make-up and microlocation of internal seed tissue. **Journal of Synchrotron Radiation**, v. 14, p. 382 - 390, 2007. <http://dx.doi.org/10.1107/S0909049507014264>. Acesso em: 30 set. 2019.

YU, Y.; WANG, J. Ultra-weak bioluminescence and vigour of irradiated rice. In: **Int J Agric & Biol Eng.**, v.3, n.1, p. 85 - 90, 2010. <http://dx.doi.org/10.3965/j.issn.1934-6344.2010.01.085-090>. Acesso em: 20 abr. 2021.

YÜCEL, N.C.; HEYBET, E.H.; GOKMEN, O.O. The antioxidant response system in wheat exposed to pesticides and its combined induced oxidative damage. **Acta Chimica Slovenica**, v.65, n.2, p.266 - 270, 2018. <http://dx.doi.org/10.17344/acsi.2017.3586>. Acesso em: 03 jan. 2021.

ZEIGER, B. F. Photon emission of cereal seeds, "biophotons", as a measure of germinative ability and vigour. In: Chang JJ., Fisch J., Popp FA. (eds) **Biophotons**. Springer, Dordrecht, p. 251 - 297, 1998. https://doi.org/10.1007/978-94-017-0928-6_19. Acesso em: 13 abr. 2019.

APÊNDICE A - Análise quantitativa das bandas espectrais ao longo dos cinco dias após a instalação do teste e diferentes doses do i.a. THX

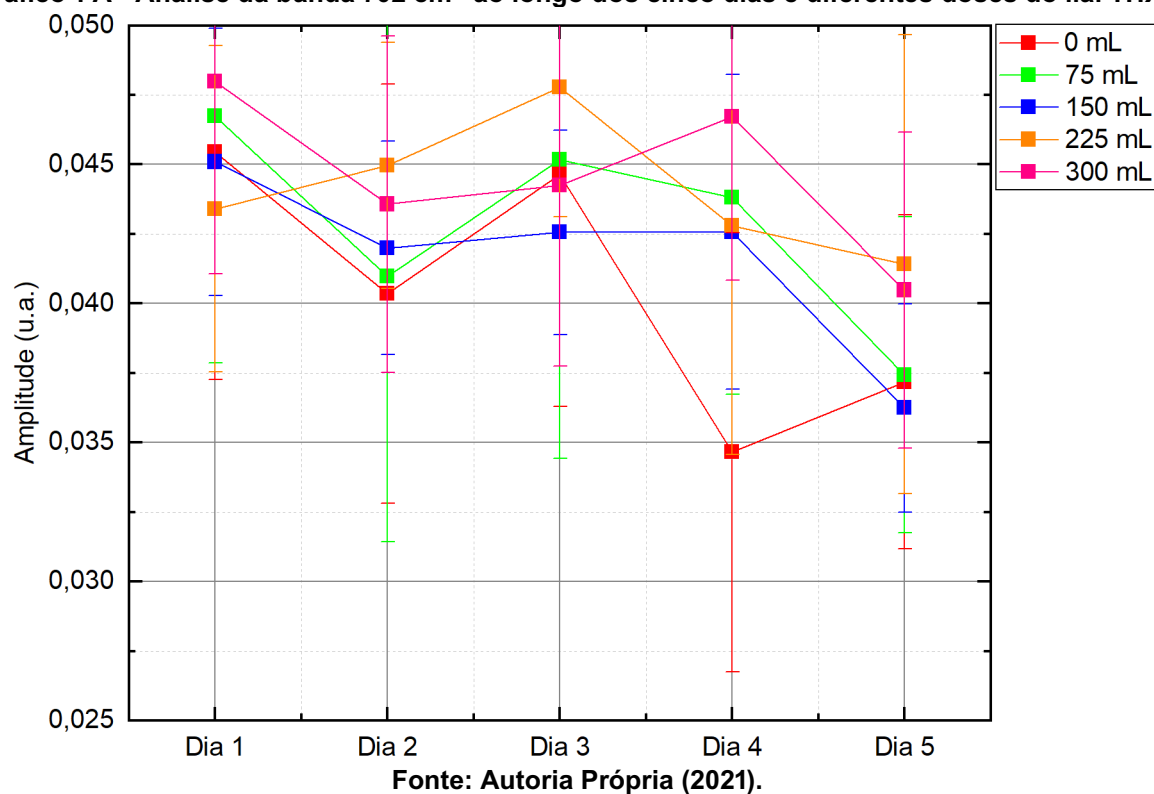
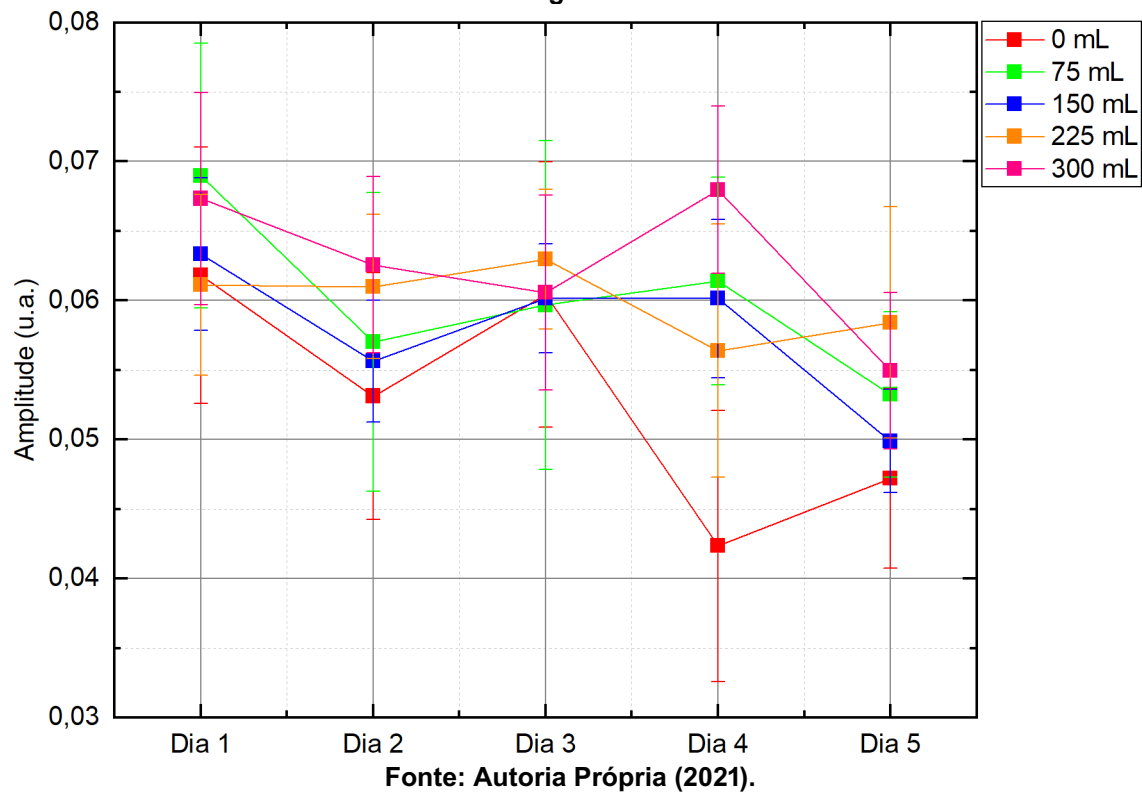
Gráfico 1 A - Análise da banda 702 cm⁻¹ ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX**Gráfico 2 A - Análise da banda 764 cm⁻¹ ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX**

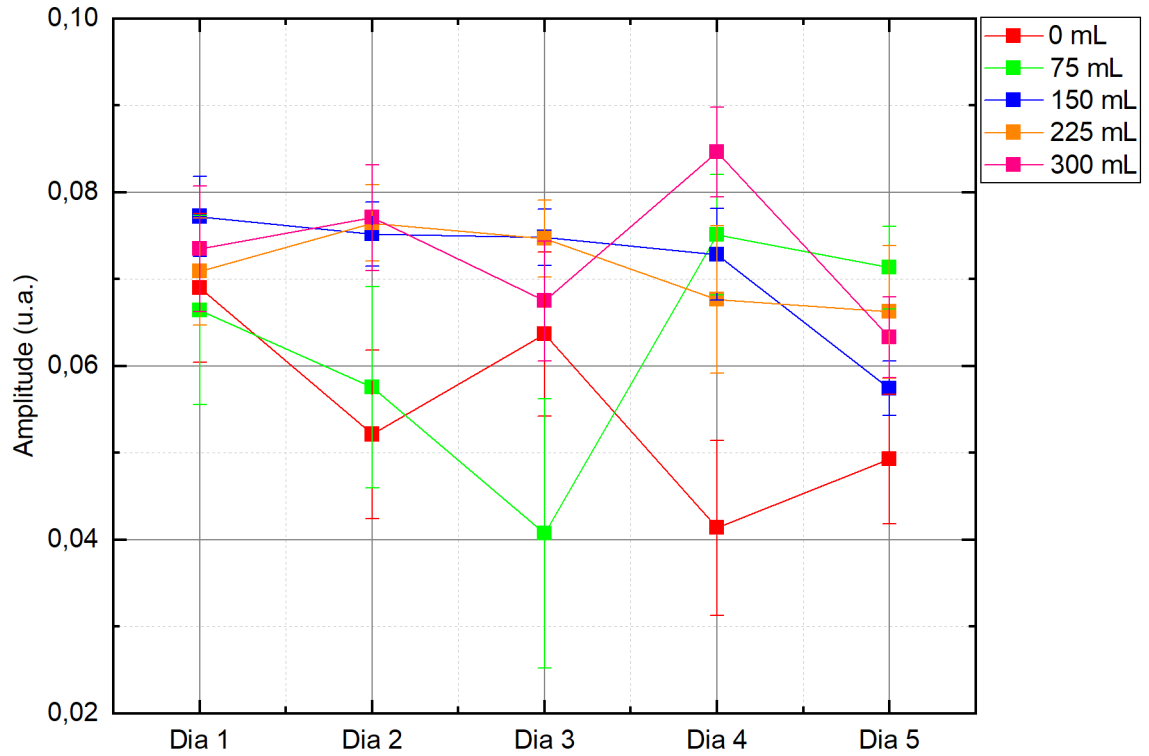
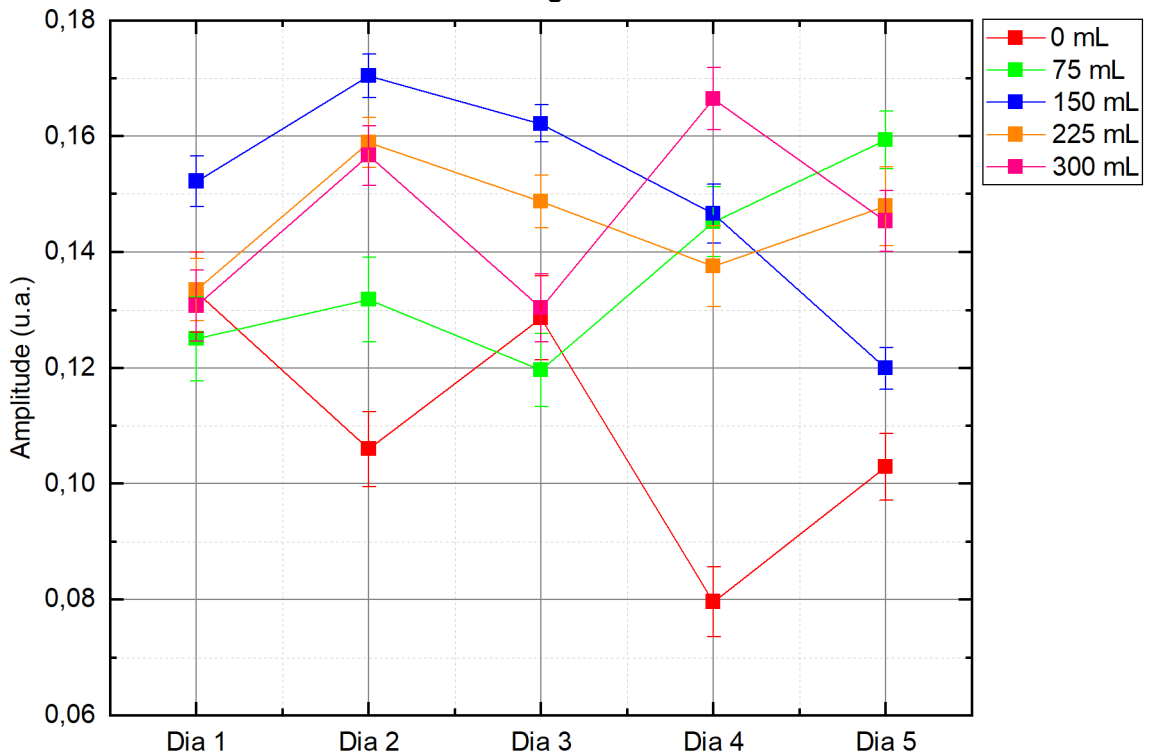
Gráfico 3 A - Análise da banda 861 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THXGráfico 4 A - Análise da banda 897 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX

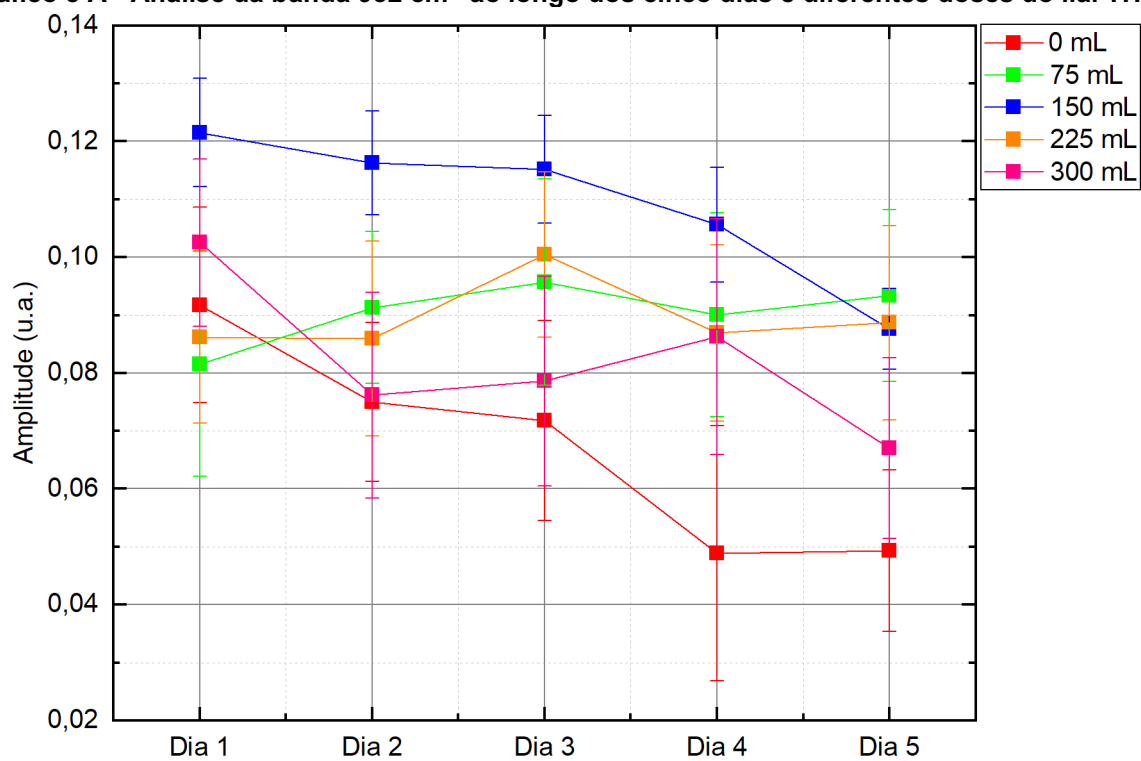
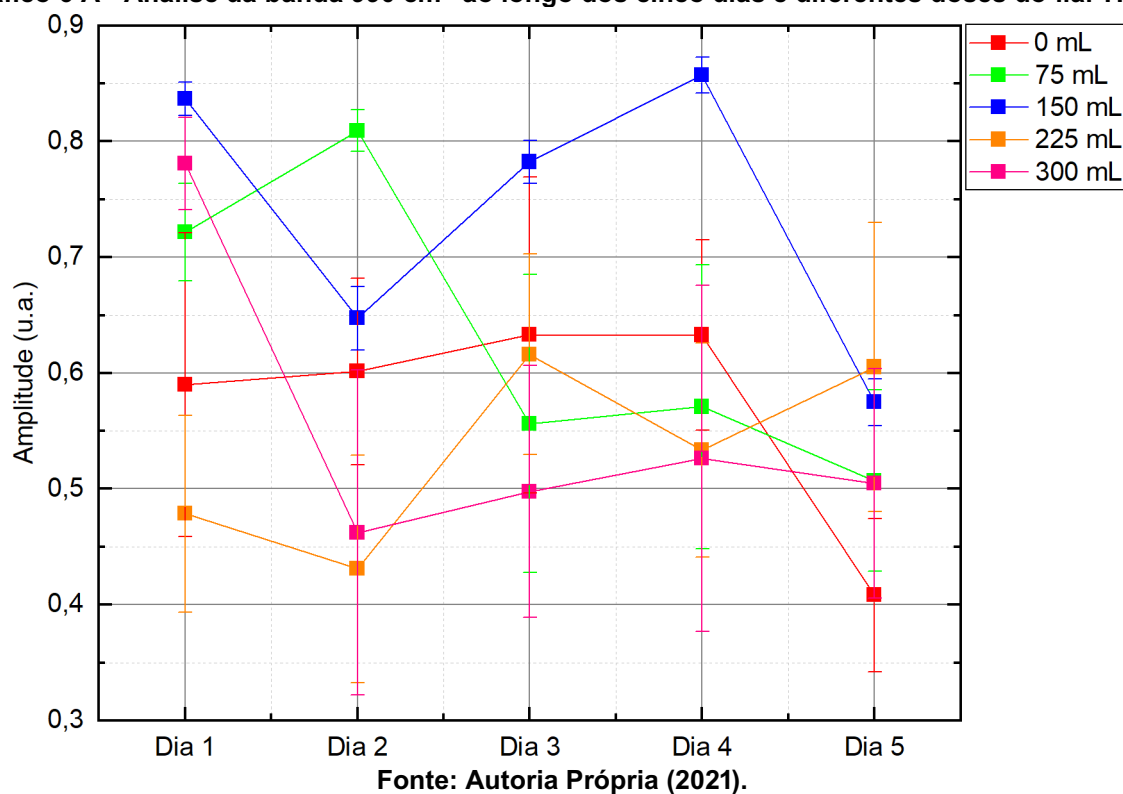
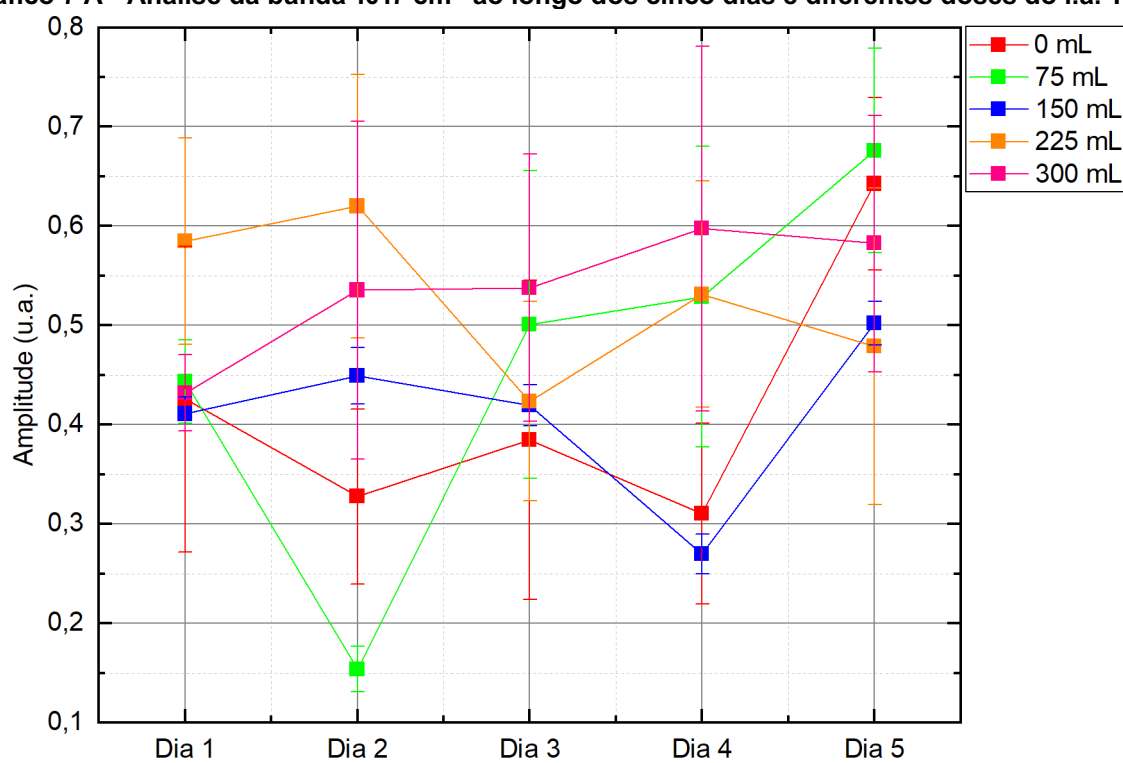
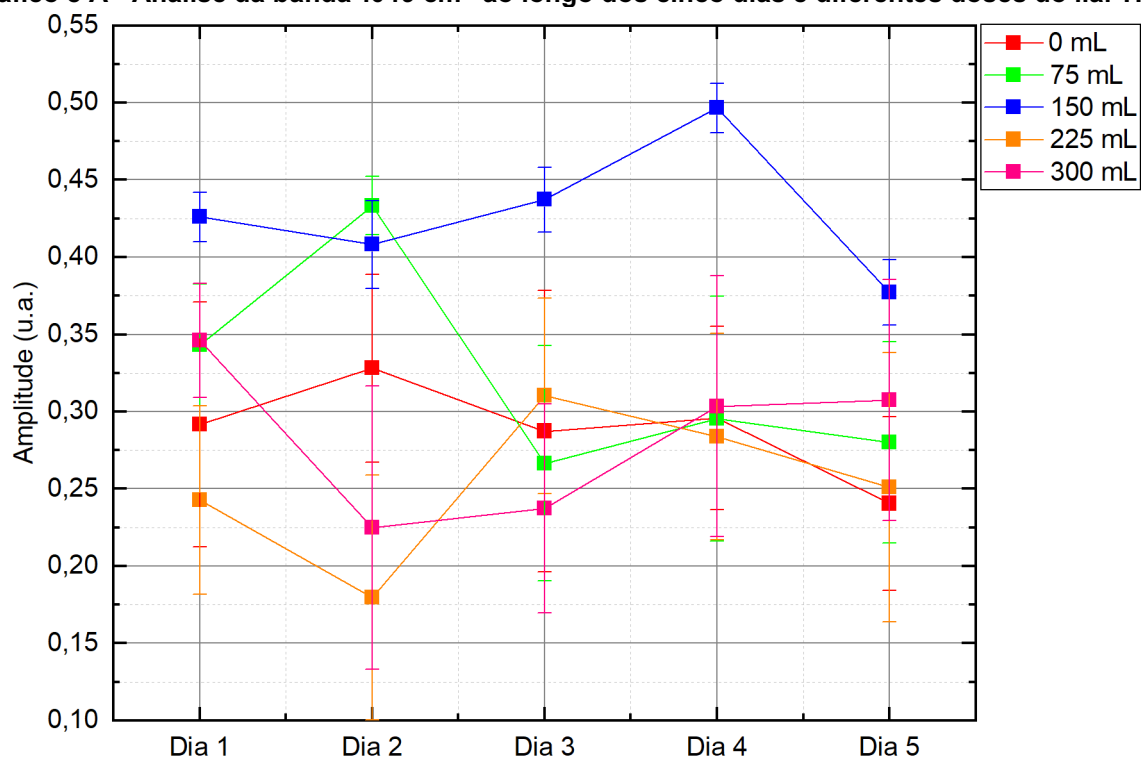
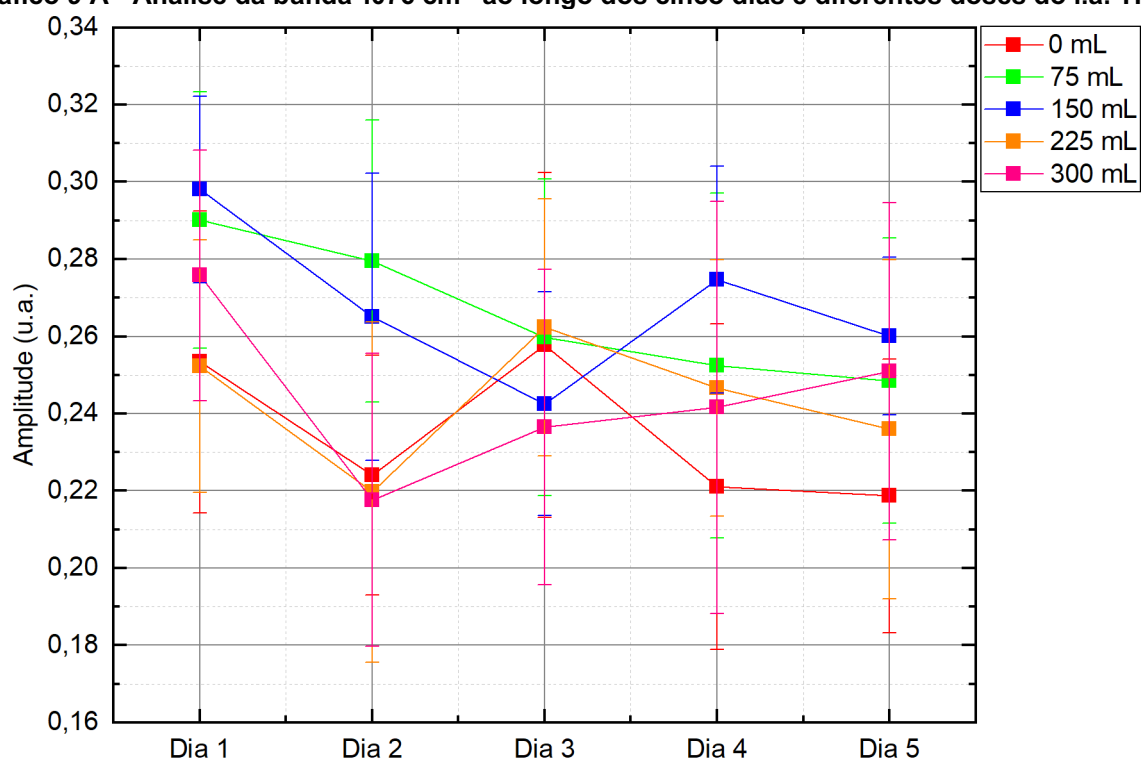
Gráfico 5 A - Análise da banda 932 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THXGráfico 6 A - Análise da banda 990 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX

Gráfico 7 A - Análise da banda 1017 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX

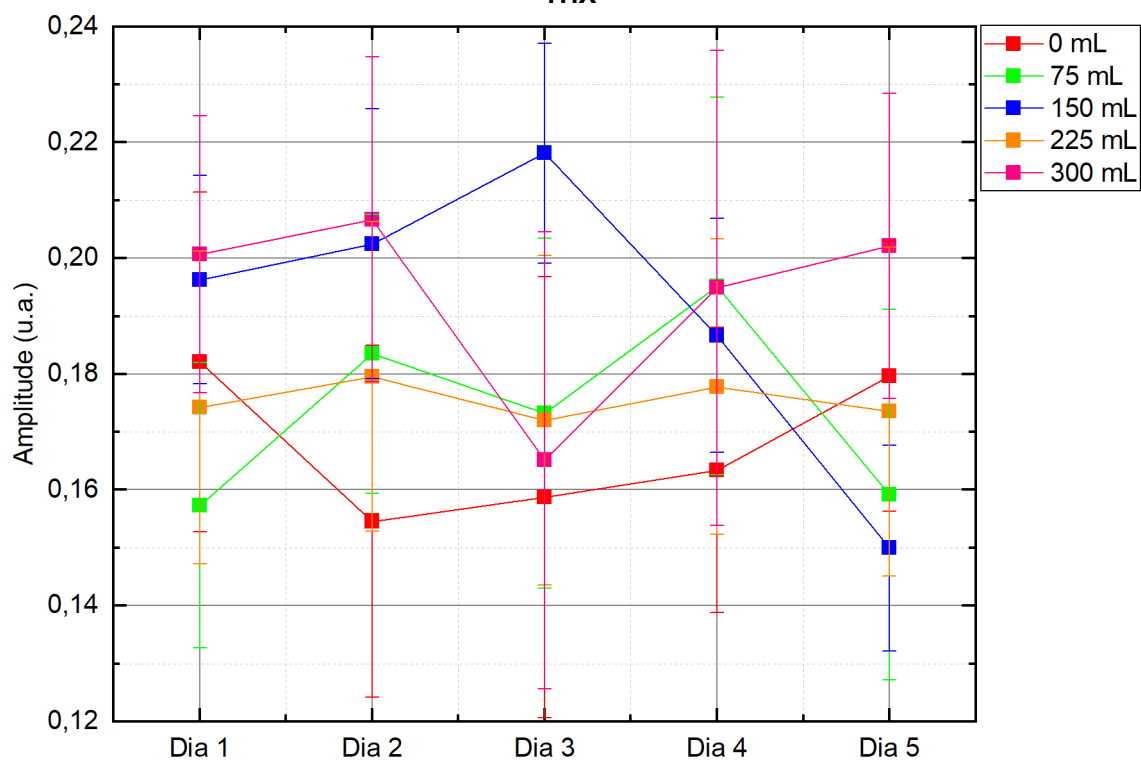
Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 8 A - Análise da banda 1049 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX

Fonte: Autoria Própria (2021).

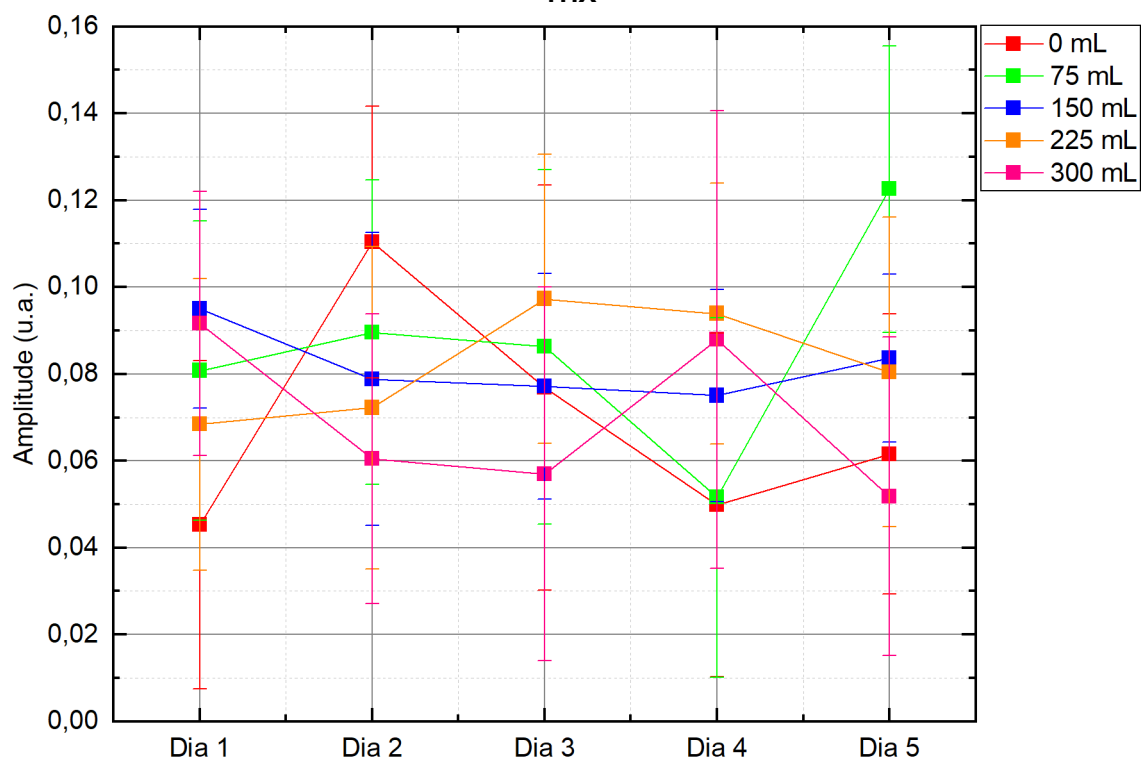
Gráfico 9 A - Análise da banda 1076 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX

Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 10 A - Análise da banda 1101 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX

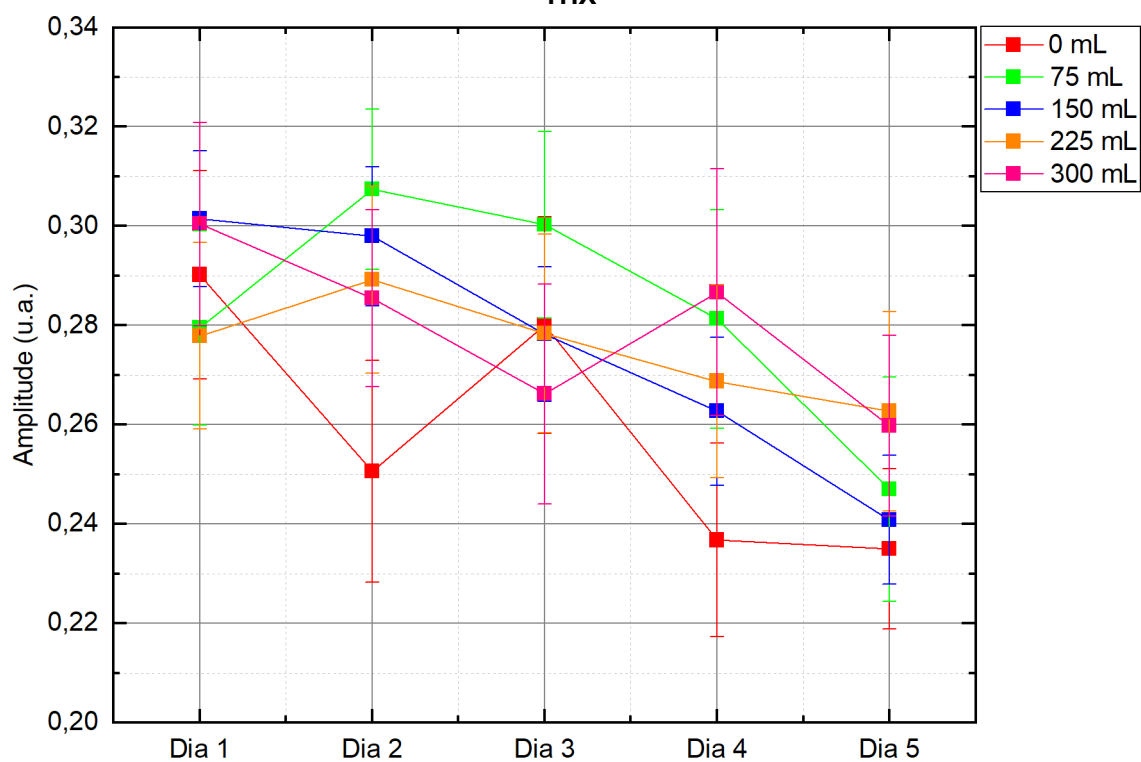
Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 11 A - Análise da banda 1124 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX



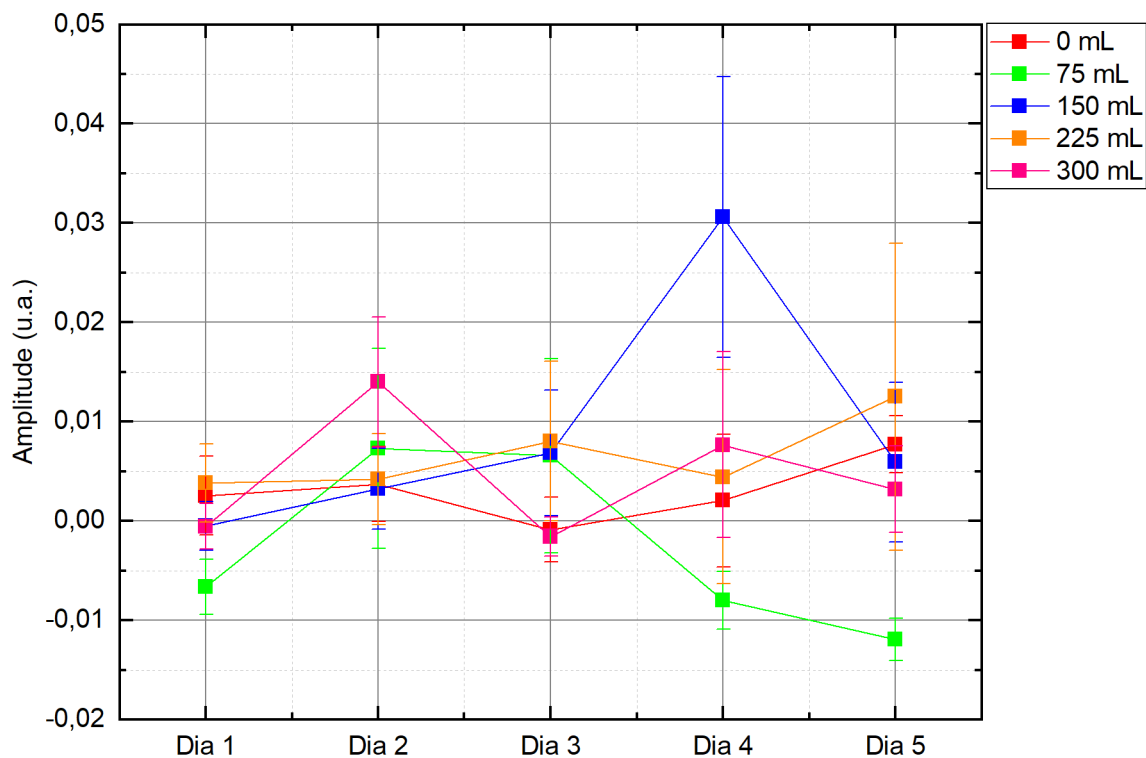
Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 12 A - Análise da banda 1150 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX



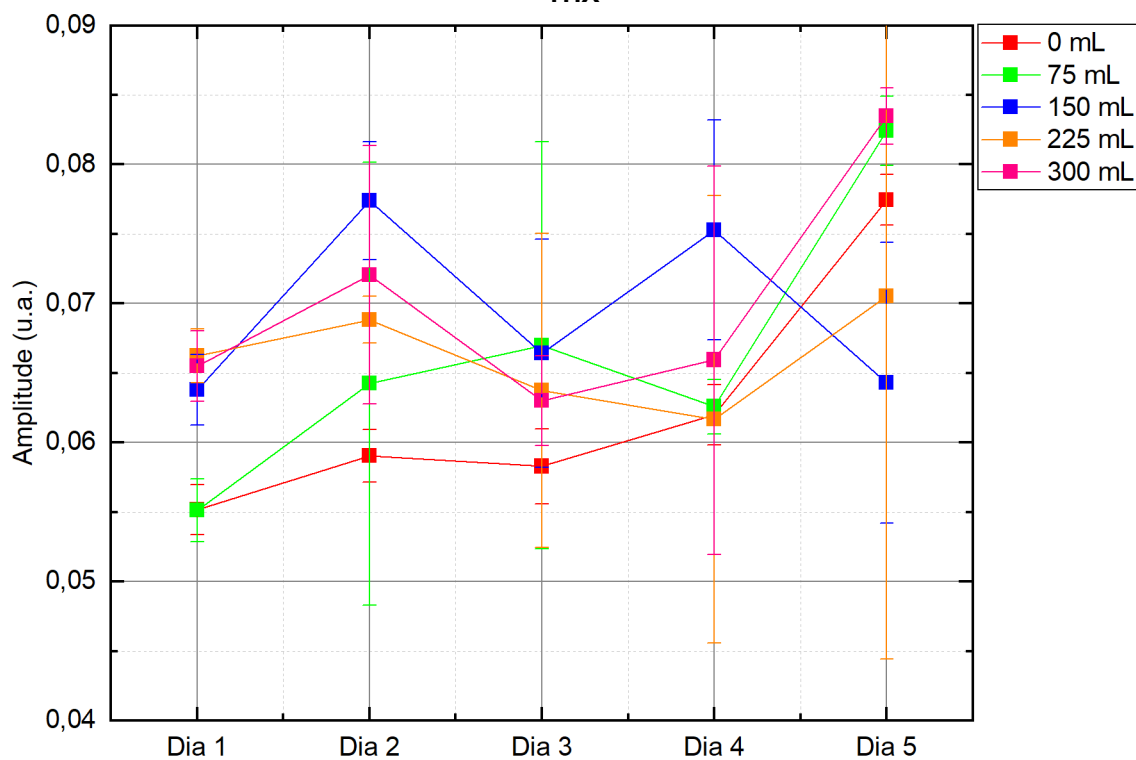
Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 13 A - Análise da banda 1205 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX



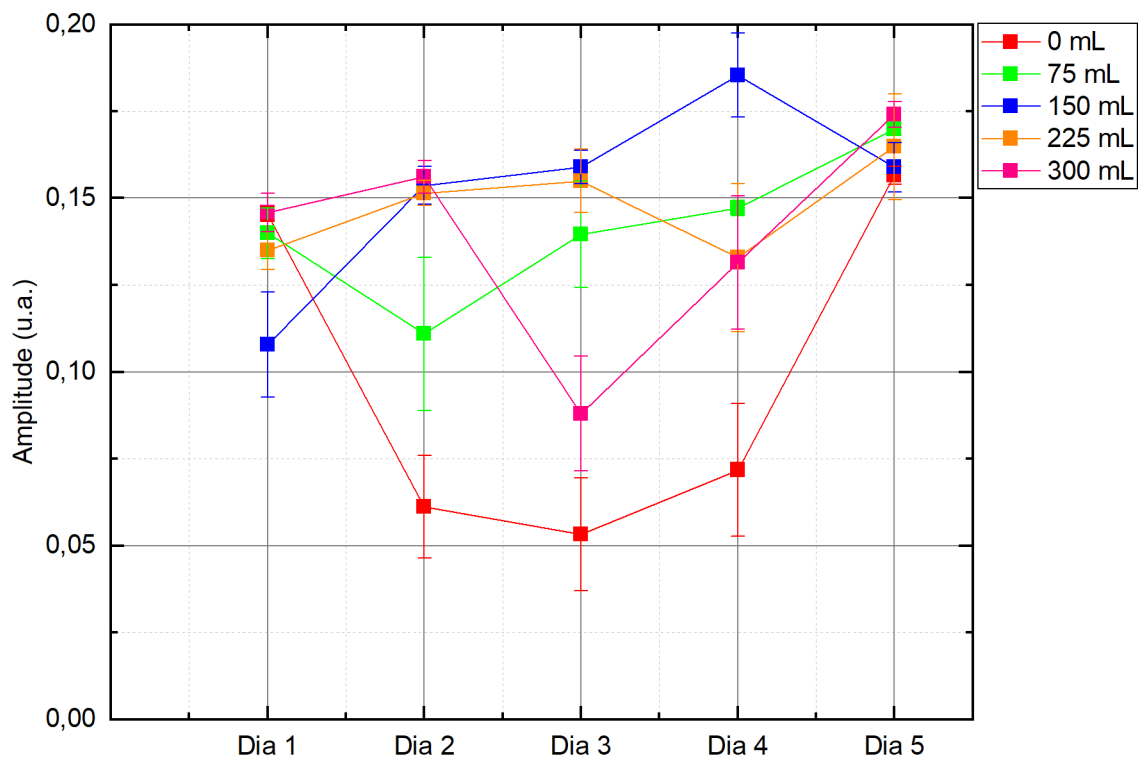
Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 14 A - Análise da banda 1239 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX



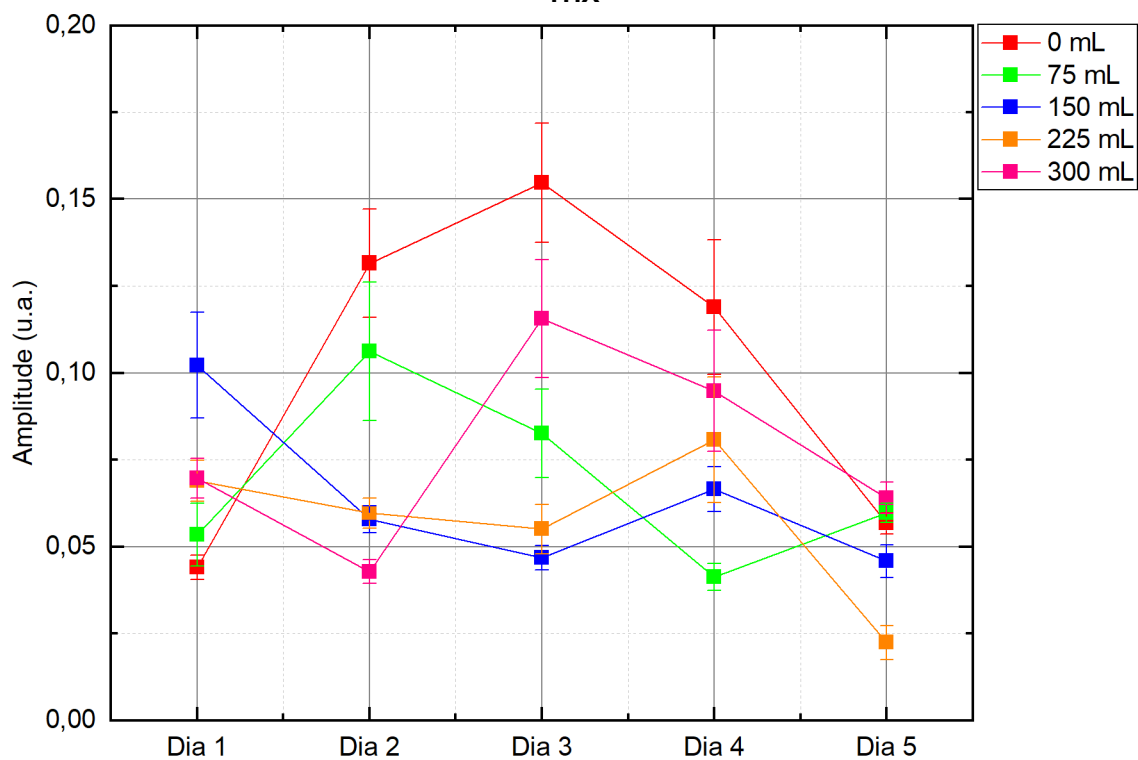
Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 15 A - Análise da banda 1335 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX



Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 16 A - Análise da banda 1369 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX



Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 17 A - Análise da banda 1414 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX

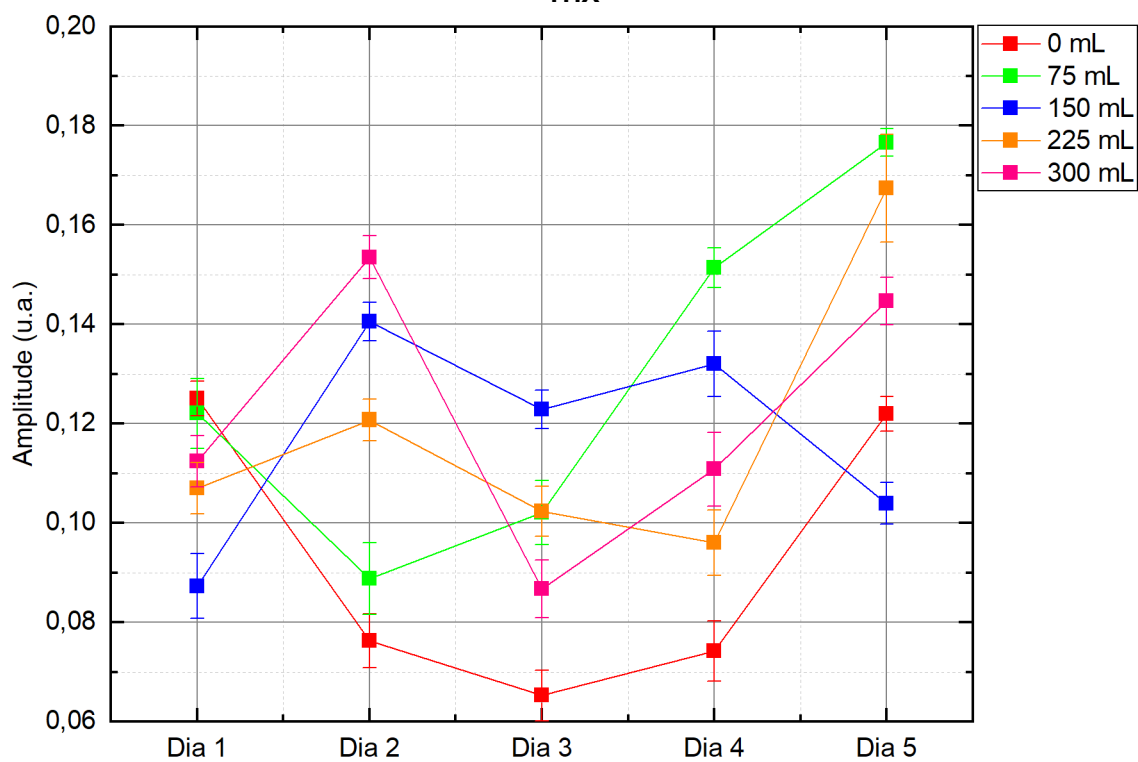


Gráfico 18 A - Análise da banda 1446 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX

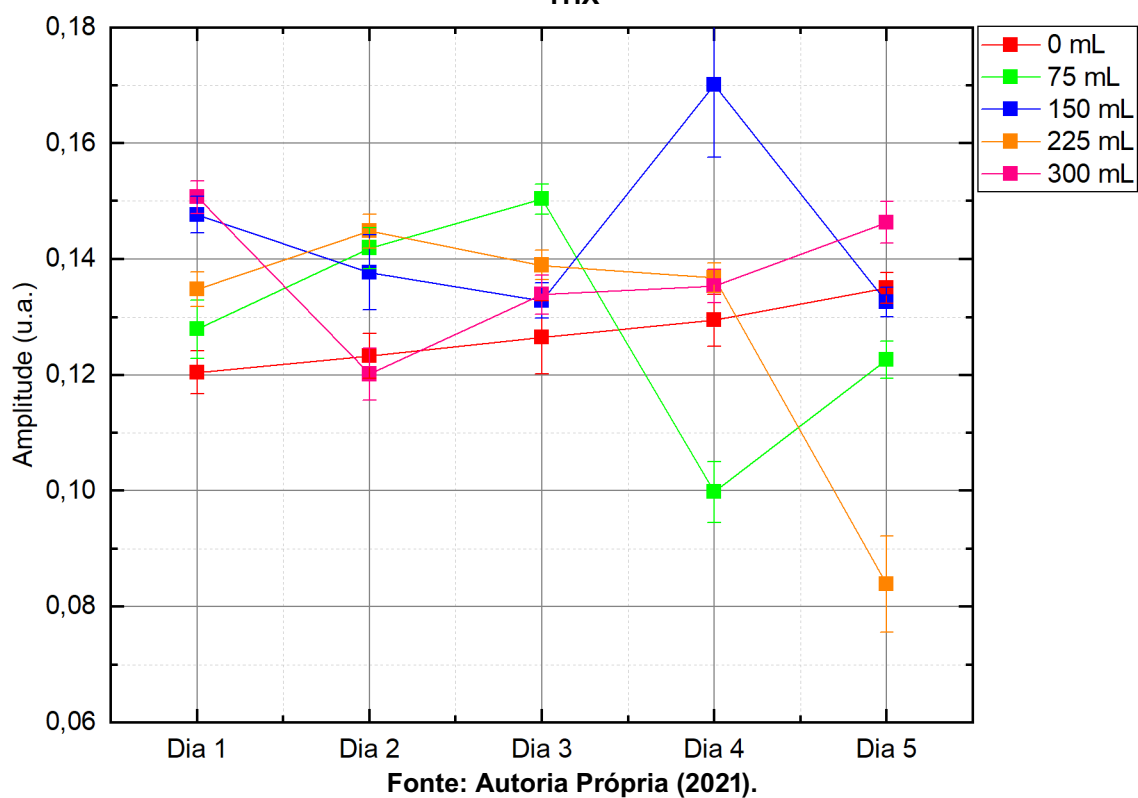
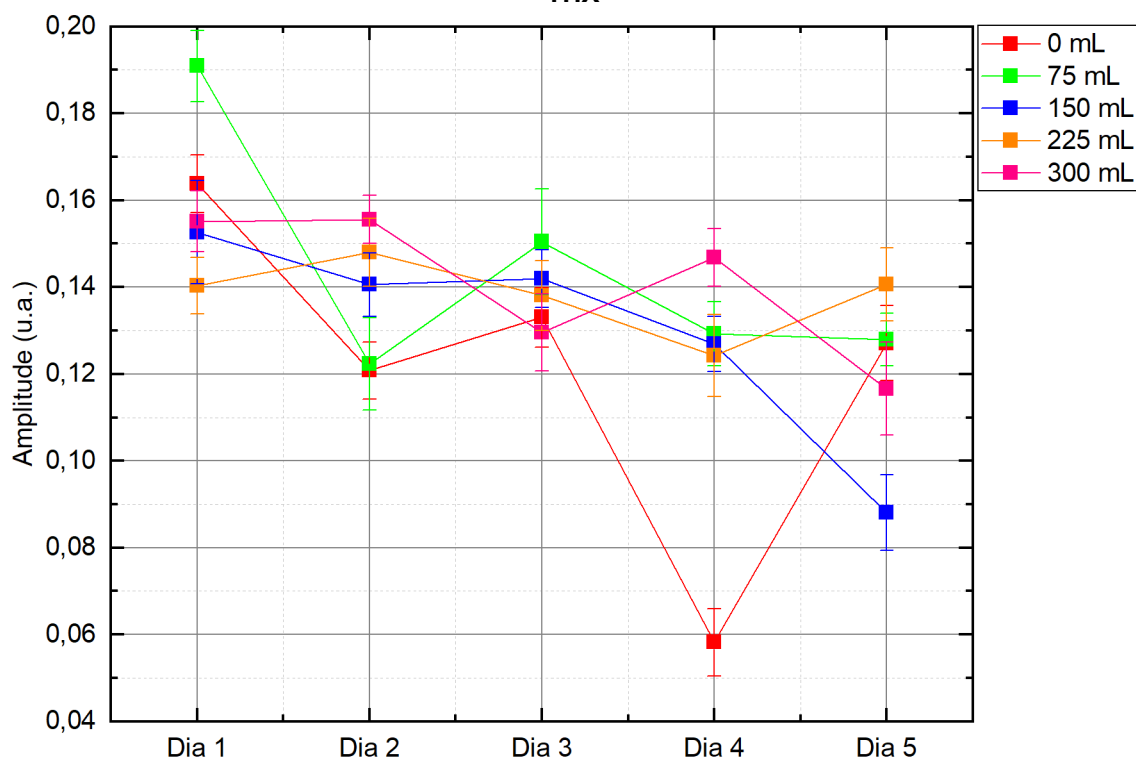
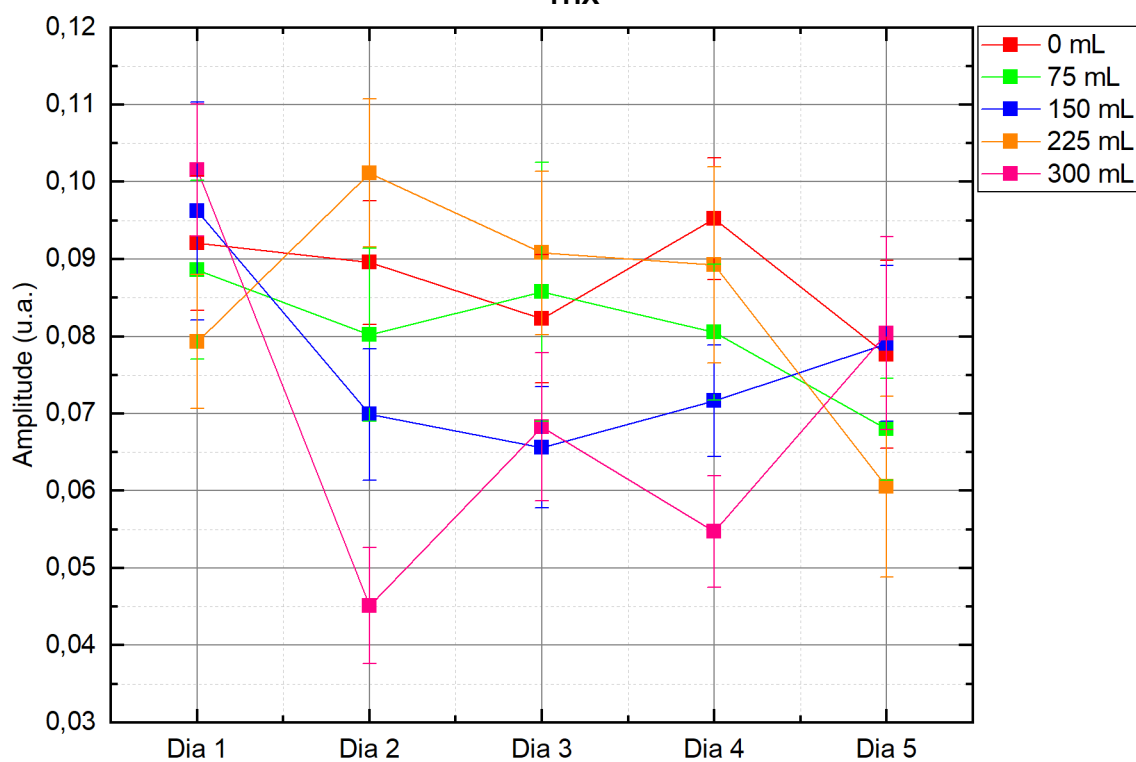


Gráfico 19 A - Análise da banda 1514 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX



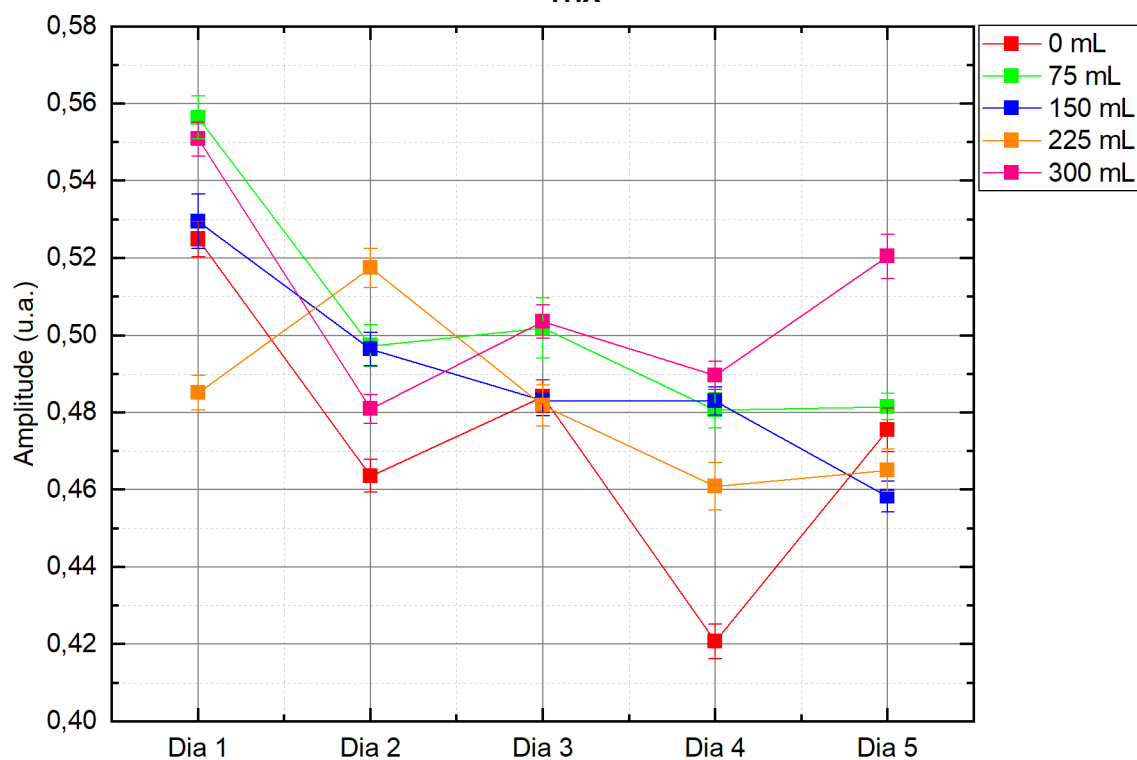
Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 20 A - Análise da banda 1540 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX



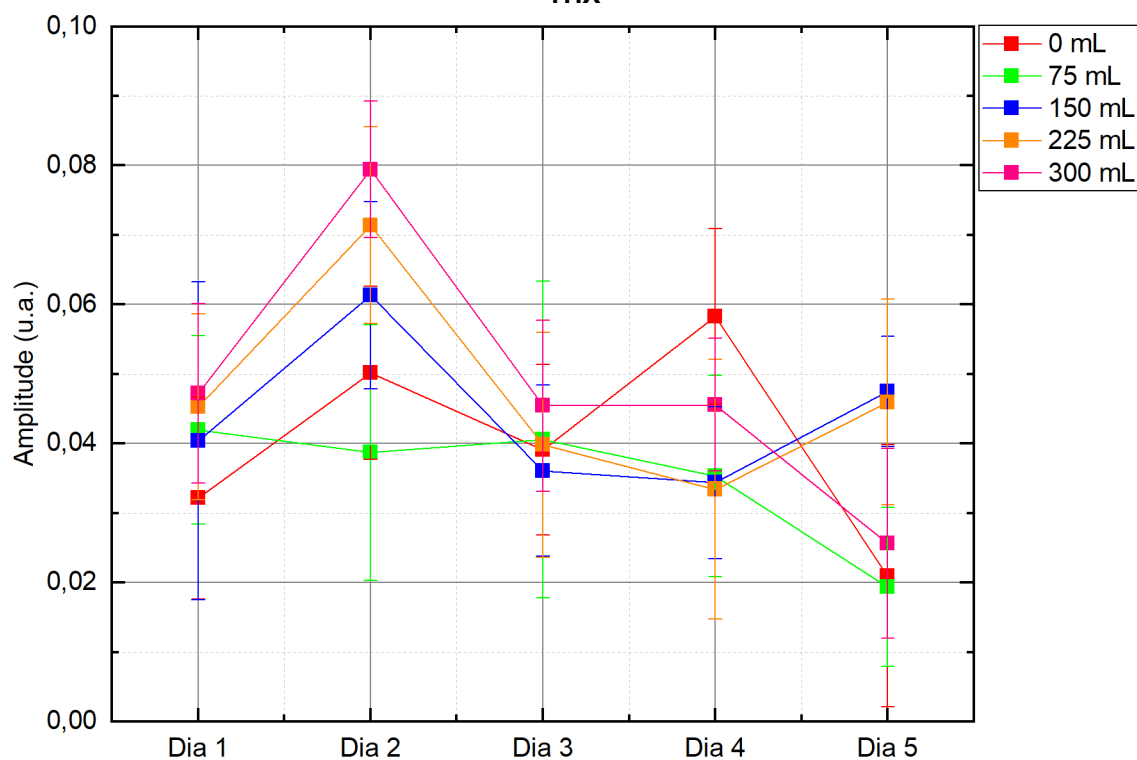
Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 21 A - Análise da banda 1642 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX



Fonte: Autoria Própria (2021).

Gráfico 22 A - Análise da banda 1745 cm^{-1} ao longo dos cinco dias e diferentes doses do i.a. THX



Fonte: Autoria Própria (2021).

APÊNDICE B - Germinação entre papel

O teste de germinação entre papel foi realizado no Laboratório da Empresa Sementes Mutuca. As etapas dos procedimentos foram estabelecidas pelas regras de análise de sementes (RAS) (BRASIL, 2009a). O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado (DIC). As sementes de trigo de cada grupo que foram tratadas, conforme descrito na seção 3.1., depois de homogeneizadas, foram contadas e separadas em quatro repetições de 100 sementes por grupo. As folhas de papel para germinação de sementes (28 x 38 cm com 65 g) da marca J. PROLAB® foram pesadas e umedecidas com um volume de água da torneira equivalente a duas vezes e meia a massa do substrato seco. Em seguida, as sementes foram colocadas sobre duas folhas e recobertas com uma terceira formando o rolo. Posteriormente à montagem, os rolos foram colocados em sacos plásticos e acondicionados em uma estufa incubadora BOD (do inglês, *Biochemical Oxygen Demand*) da Tecnal®, desinfetada com álcool 70 %, regulada com temperatura constante de 20 °C durante oito dias sob fotoperíodo de 12 h.

O registro dos dados foi realizado no oitavo dia após a instalação do teste, anotando o número de plântulas normais, plântulas anormais, de sementes classificadas em duras, dormentes ou mortas, conforme as especificações descritas nas RAS (BRASIL, 2009a).

Então, a porcentagem de germinação foi calculada a razão entre o número de plântulas normais no oitavo dia após a instalação do teste e o número de sementes colocadas para germinar em cada repetição. O resultado final do teste de germinação é dado em porcentagem média referente às médias das quatro repetições para cada um dos grupos (BRASIL, 2009a).

O teste foi empregado com o objetivo de determinar o potencial máximo de germinação dos grupos de sementes analisados, ou seja, determinar a viabilidade dos diferentes grupos de sementes.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, em caso de efeito significativo, as médias foram comparadas entre si, pelo teste de Scott-Knott a uma probabilidade de erro de 5 %. Ademais, as médias também foram comparadas com a médias do grupo controle e com as médias do grupo tratado com a dose recomendada pelo fabricante (150 mL do i.a. THX), separadamente, pelo teste de Dunnett a uma probabilidade de erro de 5 %. Além disso, o ajuste polinomial foi empregado para identificar o polinômio de ajuste para as variáveis dependentes de acordo com as doses do i.a. THX empregadas.

As porcentagens médias das plântulas normais para o teste de germinação entre papel são apresentadas na Tabela 1 B.

Tabela 1 B - Porcentagem média de germinação das plântulas normais - germinação entre papel

Dose do i.a. THX (mL)	Porcentagem média de germinação (%)
0	72,00 ± 1,15 d #
75	82,00 ± 1,15 c * #
150	85,00 ± 1,15 b *
225	83,00 ± 1,15 c *
300	87,00 ± 1,15 a *
Média Geral	81,80
C.V. (%)	1,41

Nota: Na coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade; médias seguidas de * diferem estatisticamente do grupo controle, pelo teste de Dunnett, a 5 % de probabilidade; médias seguidas de # diferem estatisticamente do grupo tratado com a dose de 150 mL do i.a. THX, pelo teste de Dunnett, a 5 % de probabilidade; coeficiente de variância (C.V.).

Fonte: Autoria Própria (2021).

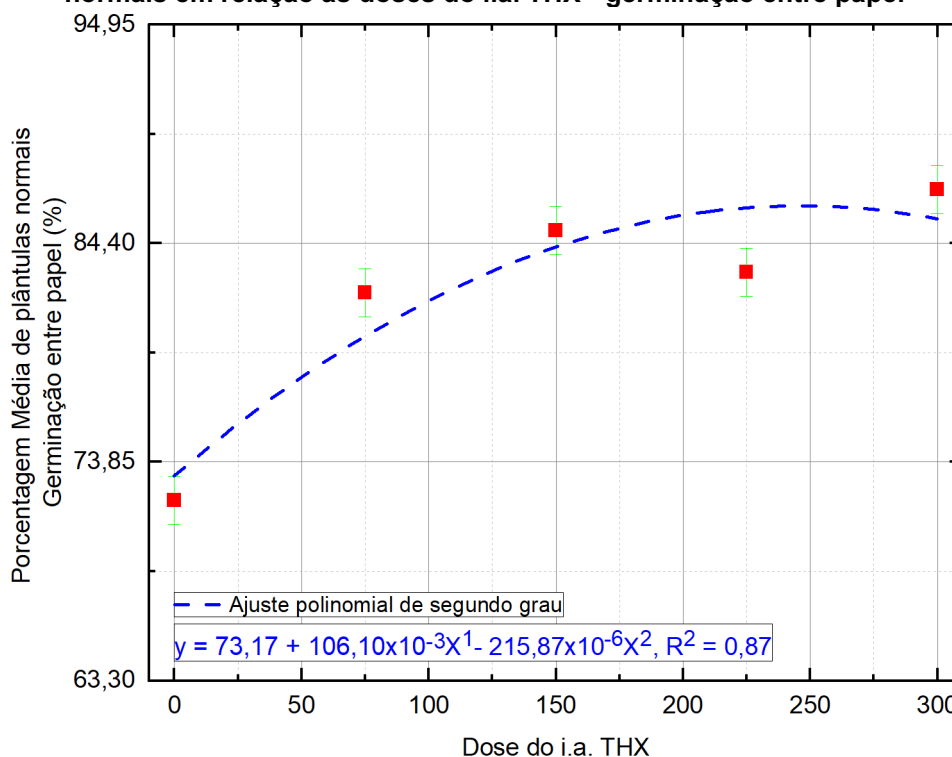
Há uma diferença estatisticamente significativa, pelo teste de Scott-Knott, entre a média da porcentagem de germinação do grupo controle em relação aos grupos de sementes tratadas com as diferentes doses do i.a. THX. Observa-se que, as médias das porcentagens de germinação dos grupos tratados diferem significativamente do grupo controle, pelo teste de Dunnett, representado na Tabela 1 B pelo símbolo *. Ademais, as médias das porcentagens grupo controle e o tratado com a menor dose diferem significativamente do grupo tratado com a dose recomendada pelo fabricante (150 mL do i.a. THX), pelo teste de Dunnett, representado na Tabela 1 B pelo símbolo #. Além disso, as porcentagens médias para os grupos tratados com as doses de 225 e 300 mL do i.a. THX são 83 % e 87 %, respectivamente, e não apresentam diferença significativa em relação ao grupo tratado com a dose de 150 mL do i.a. THX (85 %), pelo teste de Dunnett.

Destaca-se que as sementes sem tratamento (grupo controle), apresentaram média de porcentagem de germinação de 72 % que é abaixo do padrão mínimo necessário para a comercialização de sementes de trigo que de acordo com a legislação é de 80 % (BRASIL, 2013). A menor média de porcentagem de germinação encontrada para o grupo controle pode ser explicada devido à ação do produto de tratamento, auxiliando em fatores externos que possam prejudicar a germinação das sementes, como a incidência de patógenos que ficam aderidos na superfície externa das sementes. Um resultado similar foi encontrado por Hossen *et al.* (2014), onde as

sementes de trigo que foram tratadas com a dose de 60 mL do i.a. THX obtiveram porcentagem de germinação superior quando comparada ao grupo controle. Um outro resultado similar é encontrado em Ferreira *et al.* (2016), onde as sementes de soja tratadas com Cruiser® ((2,5 mL para cada kg) + Derosal Plus® (2 mL para cada kg)), obtiveram maior porcentagem de germinação comparado ao grupo controle. Desta maneira, há um indicativo de que o i.a. THX pode ter auxiliado na porcentagem de germinação.

Seguindo a literatura, foi elaborado o ajuste polinomial de segunda ordem para as porcentagens médias de germinação e seus respectivos desvios padrões em relação às doses do i.a. THX. Esse ajuste é apresentado no Gráfico 1 B.

Gráfico 1 B - Ajuste polinomial de segundo grau para as porcentagens médias de plântulas normais em relação às doses do i.a. THX - germinação entre papel



Fonte: Autoria Própria (2021).

Com base nesse ajuste, há um indicativo de aumento na porcentagem média de germinação com o incremento das doses do i.a. THX até a dose recomendada pelo fabricante (150 mL do i.a. THX). Um resultado semelhante foi encontrado por Almeida *et al.* (2012), onde duas cultivares de sementes de trigo tratadas com a dose de 150 e 300 mL do i.a. THX apresentaram indicativos do aumento da porcentagem de germinação em papel em comparação ao grupo controle até a dose de 300 mL do i.a. THX.

Escolhidas para representar esse teste são apresentadas as repetições, após o fim do ensaio das sementes tratadas com a dose de 300 mL do i.a. THX. Na Fotografia 1 B (a) e na Fotografia 1 B (b) são apresentadas são apresentadas as plântulas normais e as plântulas anormais, sementes duras, dormentes ou mortas, respectivamente.

Fotografia 1 B - Repetições de 100 sementes cada para o grupo de sementes de trigo tratadas com a dose de 300 mL do i.a. THX. a) Plântulas normais; b) plântulas anormais, sementes duras, dormentes ou mortas - germinação entre papel



Fonte: Autoria Própria (2021).

Através do teste de germinação entre papel com as sementes de trigo da cultivar FPS Certero tratadas com as diferentes doses do i.a. THX foram observadas diferenças significativas nas médias das porcentagens de germinação dos grupos de sementes que receberam o tratamento em relação ao grupo controle.

O teste indica que as sementes de trigo tratadas com o inseticida apresentam maior porcentagem de germinação quando comparadas ao grupo controle, porém esse resultado não deixa claro que o i.a. THX alterou a qualidade fisiológica das sementes, pois mesmo que os testes de germinação sejam utilizados para identificar a qualidade fisiológica das sementes, devido à complexidade da germinação, há a necessidade de avaliar as sementes por outros testes (VIEIRA; CARVALHO; SADER, 1994) para observar os indicativos mais perceptíveis de alteração na qualidade das sementes.

Os resultados da germinação entre papel foram diferentes dos resultados do teste de emergência em areia. Uma possível explicação para esta diferença é que nos testes entre papel, a plântula não deixa de ter contato com o inseticida, pois os pericarpos externos e internos e os tegumentos das sementes (parte da semente onde

o produto foi aplicado) não se desloca, permanecendo próxima a plântula durante o seu processo germinativo. Ao contrário, ocorre quando a semente de trigo é avaliada no substrato areia, pois devido ao atrito das sementes com os grãos que compõem a areia, a parte externa da semente se desloca, implicando no não contato (ou pouco contato) com a plântula em emergência. Além disso, nos testes em papel há a presença de fungos que podem interferir nos resultados.

REFERÊNCIAS DO APÊNDICE

ALMEIDA, A. S.; *et al.* Physiological Performance of Wheat and Barley Seeds Treated with Bioactivator. **American Journal of Experimental Agriculture**, v. 2, n. 1, p. 90 - 101, 2012. <https://doi.org/10.9734/AJEA/2012/685>. Disponível em: <https://www.journaljeai.com/index.php/JEAI/article/download/25237/47245>. Acesso em: 10 jun. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de Sementes (RAS)**. Brasília - DF, p. 399, 2009. Disponível em: https://www.abrates.org.br/files/regras_analise_de_sementes.pdf. Acesso em: 15 maio 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 45, de 17 de setembro de 2013**. Padrões para a produção e a comercialização de sementes. Brasília - DF, Diário Oficial da União, seção 1, n. 183, ANEXO XXVI, p. 24, 20 set. 2013. Disponível em: https://diarios.s3.amazonaws.com/DOU/2013/09/Secao1/pdf/20130920_24.pdf?AWSAccessKeyId=AKIARMMD5JEA067SMCVA&Expires=1621875427&Signature=T29VjoBaba4BbZ%2BvEX9w9HvwHV4%3D. Acesso em: 28 jul. 2020.

FERREIRA, T. F.; *et al.* Quality of soybean seeds treated with fungicides and insecticides before and after storage. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 38, n. 4, p. 278 - 286, 2016. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v38n4161760>. Acesso em: 28 jan. 2021.

HOSSEN, D.C.; *et al.* Tratamento químico de sementes de trigo. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 1, p. 104-109, 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/S1983-40632014000100014>. Acesso em: 28 maio 2020.

VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M.; SADER, R. Teste de vigor e suas possibilidades de uso. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (Eds.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: Funep, p.31, 1994.