

UNIVERSIDADE REGIONAL INTEGRADA DO ALTO URUGUAI E DAS MISSÕES
PRÓ-REITORIA DE ENSINO, PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CAMPUS DE ERECHIM
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

LIZIANE CASSIA CARLESSO

ATRIBUTOS DE QUALIDADE DAS SEMENTES DE MILHO TRATADAS COM
NANOPARTÍCULAS DE COBRE

LIZIANE CASSIA CARLESSO

ATRIBUTOS DE QUALIDADE DAS SEMENTES DE MILHO TRATADAS COM
NANOPARTÍCULAS DE COBRE

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutora, pelo Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciências Agrárias da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim.

Orientadoras: Prof. Dra. Juliana Steffens

Prof. Dra. Clarice Steffens

Co-orientador: Prof. Dr. Cristiano Reschke
Lajús

Erechim – RS, 2021

LIZIANE CASSIA CARLESSO

ATRIBUTOS DE QUALIDADE DAS SEMENTES DE MILHO TRATADAS COM
NANOPARTÍCULAS DE COBRE

Tese de doutorado apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutora, pelo Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciências Agrárias da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Clarice Steffens
URI – Erechim

Prof^a. Dr^a. Juliana Steffens
URI – Erechim

Prof. Dr. Cristiano Reschke Lajús
UNOCHAPECÓ-Chapecó

Prof. Dra. Carina Rossoni
Universidade Lusófona

Dra. Francieli Dalcanton
UNOCHAPECÓ-Chapecó

Dr. Rogério Luis Cansian
URI – Erechim

Prof^a. Dr^a. Rosicler Colet
URI – Erechim

Erechim, abril 2021

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, quero agradecer a Deus, por ter abençoado todos os dias da minha vida, por iluminar meu caminho e me dar forças para seguir sempre em frente.

Aos meus pais, que muitas vezes se doaram e renunciaram aos seus sonhos, para que eu pudesse realizar os meus. Quero dizer que essa conquista não é só minha, mas nossa. Tudo que consegui só foi possível graças ao amor, apoio e dedicação que vocês sempre tiveram por mim. Sempre me ensinaram agir com respeito, simplicidade, dignidade, honestidade e amor ao próximo.

Mãe, só consegui chegar até aqui, pela sua força e incentivo, sempre irei lembrar-me quando me dizia, que todos podem ser o que quiserem, basta ter vontade, dedicação e fé. Foi por tua influência que conclui mais esta importante etapa, amo-te incondicionalmente.

Aos meus irmãos Aline e Luan, pela amizade, carinho e companheirismo de sempre; por estar sempre torcendo pelas minhas conquistas. Pelo apoio e incentivo incondicional. Obrigado!

A minha nona Natalina, pelo apoio, torcida e confiança.

Gratidão a minha segunda mãe Luci Stempkoviski, que sempre me incentivou, pela ajuda em todos os momentos. A alegria, bondade e generosidade são características que te definem perfeitamente. Agradeço pelos conselhos, apoio e confiança. Obrigada por iluminar minha vida com descontração e alegria. Você sempre estará em meu coração.

As minhas orientadoras Juliana Steffens e Clarice Steffens. Agradeço por toda paciência, confiança, carinho e amizade. Foi um convívio sempre prazeroso e enriquecedor. Minha admiração pelo vosso caráter, ética e postura. A vocês minha eterna gratidão. Vocês Profs, são os exemplos do que a palavra Mestre representa, são minha inspiração.

Agradeço ao professor Cristiano Reschke Lajús, a oportunidade de tê-lo como co-orientador de Iniciação Científica, Mestrado e Doutorado. Tenho muito orgulho de citá-lo como um dos responsáveis pela minha formação profissional. Agradeço pela confiança, pela amizade, conselhos e paciência. És um exemplo de simplicidade, compreensão e competência. Admiro sua dedicação e amor ao trabalho, a pesquisa

com os alunos e orientados. Enfim, vai muito além do que o dever impõe. Preocupado não só com a realização do trabalho, mas principalmente com o bem humano.

Aos professores, secretárias, estagiários e voluntários pelo modo prestativo e eficiente com que sempre me auxiliaram com as análises, em especial a Profa. Rosicler.

Agradeço também a Professora Franciele Dalcanton e Carina Rossoni, que para minha alegria e honra aceitaram ser banca desta tese. Tenho muito respeito e admiração pela vossa ética, seu conhecimento e trajetória profissional.

Aos meus amigos de turma de Doutorado: Veronica Baldon e Simone Dal Maso, por terem tornado o dia a dia na pós-graduação tão prazeroso! Foi extremamente enriquecedor conhecer e conviver com vocês.

À CAPES e a URI que me concederam uma bolsa, durante a realização deste doutorado, fato este que muito contribuiu para a viabilização desta tese. Portanto, deixo aqui expresso meu agradecimento.

Foram muitas as pessoas que estiveram ao meu lado durante essa caminhada. Talvez eu não consiga expressar toda a minha gratidão por meio de palavras...

Obrigada!

Não sei se a vida é curta ou longa para nós, mas sei que nada do que vivemos tem sentido, se não tocarmos o coração das pessoas.

Muitas vezes basta ser: colo que acolhe, braço que envolve, palavra que conforta, silêncio que respeita, alegria que contagia, lágrima que corre, olhar que acaricia, desejo que sacia, amor que promove. E isso não é coisa de outro mundo, é o que dá sentido à vida. É o que faz com que ela não seja nem curta, nem longa demais, mas que seja intensa, verdadeira, pura enquanto durar. Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.

Cora Coralina

RESUMO

Na busca pela elevação dos níveis atuais de rendimento e redução nos custos de produção do milho no Brasil, novas tecnologias vêm sendo incorporadas aos sistemas de produção. Dentre essas, destaca-se a utilização de nanopartículas de nutrientes aplicadas via tratamento de sementes (TS). Especificamente as nanopartículas de óxido de cobre possuem capacidade de promover alterações metabólicas nas células. Assim, se justifica a presente pesquisa, que objetivou avaliar os aspectos agrônômicos, microbiológicos e físico-químicos em híbridos de milho submetidos ao TS com nanopartículas de Cu. O delineamento experimental utilizado foi o Delineamento de Blocos Casualizados (DBC), em esquema fatorial (5 x 5), sendo que no fator A foram alocados os híbridos de milho (H1: 22S18 TOP2[®]; H2: 20A30 VIPTERA[®]; H3: 20A80 TOP2[®]; H4: 22S18 TOP3[®] e H5: 20A20 TOP2[®]) e no fator B foram alocados as doses de nanopartículas de Cu via TS (D1: testemunha; D2: 100,00 mg.L⁻¹; D3: 300,00 mg.L⁻¹; D4: 900,00 mg.L⁻¹ e D5: 2700,00 mg.L⁻¹), com 3 repetições. As sementes de híbridos de milho tratadas com nanopartículas de cobre foram submetidas aos testes de germinação e vigor. Para análise das condições sanitárias, utilizou-se os cinco híbridos com o tratamento de 900 mg.L⁻¹ nanopartículas de Cu, com base em estudo prévio obtido por Carlesso *et al.* (2020), onde com esta dose o milho apresentou melhor qualidade fisiológica. A incidência dos grãos avariados e os parâmetros microbiológicos foram determinados conforme Instrução Normativa Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento n° 60/2011. Para avaliar as características físico-químicas e morfológicas dos 5 híbridos, verificou-se a diferença das sementes com e sem tratamento utilizando nanopartículas de cobre (900 mg de nanopartículas de Cu.L⁻¹). Os dados coletados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) pelo teste F ($p \leq 0,05$), para as doses de nanocobre foi realizada a análise de regressão ($p \leq 0,05$) com a escolha dos modelos matemáticos através o coeficiente de determinação (R^2). As diferenças entre médias foram comparadas pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Os resultados expressos quanto a qualidade fisiológica das sementes demonstrou que a presença de nanopartículas nas sementes não afetou a velocidade de germinação por híbrido. Este indicador mostra que as nanopartículas não interferem nos mecanismos metabólicos na fase de germinação, tendo destaque para a dose de 900 mg L⁻¹ que demonstrou maior efetividade no vigor das plântulas. Quanto aos achados da qualidade sanitária dos híbridos com a melhor dose 900 mg L⁻¹ e sem, constata-se que a atividade antimicrobiana do cobre, sobretudo na forma de nanopartículas, ocorre neste estudo como em outros relatados de forma preventiva. Os híbridos HB 05: 20A20 TOP2[®] e HB 02: 20A30 VIPTERA3[®] destacaram-se por apresentarem melhores resultados quanto aos parâmetros estabelecidos quanto aos níveis microbiológicos. Por meio das características morfológicas e de distribuição dos aglomerados de nanopartículas de Cu verificou-se a adsorção do Cu na superfície e no interior das sementes de milho. O HB 04 tratado com nanopartículas de Cu apresentou maior conteúdo de proteína, fibra e fósforo em relação aos demais híbridos, resultado expressivo em decorrência da morfologia do tipo de grão que tem particularidades em relação ao genótipo. Sendo um grão semiduro, com maior espessura da parede celular, diminuindo a quantidade lúmen celular, em consequência diminuição do amido.

Palavras-chave: Híbridos de milho, nanotecnologia, cobre, parâmetros qualitativos.

ABSTRACT

In the quest to raise current income levels and reduce corn production costs in Brazil, new technologies have been incorporated into production systems. Among these, the use of nutrient nanoparticles applied via seed treatment (TS) stands out. Specifically, copper oxide nanoparticles have the ability to promote metabolic changes in cells. Thus, this research is justified, which aimed to evaluate the agronomic, microbiological and physical-chemical aspects in corn hybrids submitted to TS with Cu nanoparticles. The experimental design used was the Randomized Block Design (DBC), in a factorial scheme (5 x 5), and in factor A the corn hybrids were allocated (H1: 22S18 TOP2[®]; H2: 20A30 VIPTERA[®]; H3: 20A80 TOP2[®]; H4: 22S18 TOP3[®] and H5: 20A20 TOP2[®]) and factor B were allocated the doses of Cu nanoparticles via TS (D1: control; D2: 100.00 mg.L⁻¹; D3: 300.00 mg.L⁻¹; D4: 900.00 mg.L⁻¹ and D5: 2700.00 mg.L⁻¹), with 3 repetitions. The seeds of corn hybrids treated with copper nanoparticles were submitted to germination and vigor tests. For the analysis of sanitary conditions, the five hybrids were used with the treatment of 900 mg.L⁻¹ nanoparticles of Cu, based on a previous study obtained by Carlesso et al. (2020), where with this dose corn showed better physiological quality. The incidence of damaged grains and microbiological parameters were determined according to Normative Instruction Ministry of Agriculture Livestock and supply n° 60/2011 (BRASIL, 2011). To evaluate the physical-chemical and morphological characteristics of the 5 hybrids, the difference of the seeds with and without treatment was verified using copper nanoparticles (900 mg of Cu.L⁻¹ nanoparticles). The collected data were submitted to Analysis of Variance (ANOVA) by the F test ($P \leq 0.05$), for the nanocopper doses, regression analysis ($P \leq 0.05$) was performed with the choice of mathematical models through the coefficient of determination (R^2). Differences between means were compared using the Tukey test ($P \leq 0.05$). The results expressed regarding the physiological quality of the seeds demonstrated that the presence of nanoparticles in the seeds did not affect the germination speed by hybrid. This indicator shows that the nanoparticles do not interfere with the metabolic mechanisms in the germination phase, with emphasis on the 900 mg L⁻¹ dose, which demonstrated greater effectiveness in the seedling vigor. As for the findings of the sanitary quality of the hybrids with the best dose 900 mg L⁻¹ and without, it appears that the antimicrobial activity of copper, especially in the form of nanoparticles, occurs in this study as in others reported preventively. The hybrids HB 05: 20A20 TOP2[®] and HB 02: 20A30 VIPTERA3[®] stood out for presenting better results regarding the parameters established regarding the microbiological levels. Through the morphological and distribution characteristics of the Cu nanoparticle clusters, Cu adsorption was verified on the surface and inside of the corn seeds. The HB 04 treated with Cu nanoparticles showed a higher content of protein, fiber and phosphorus in relation to the other hybrids, an expressive result due to the morphophysiology of the type of grain that has particularities in relation to the genotype. Being a semi-hard grain, with a greater thickness of the cell wall, decreasing the amount of cell lumen, consequently decreasing the starch.

Keyword: Corn hybrids, nanotechnology, copper, qualitative parameters.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I	12
CAPÍTULO II	16
Figura 1 – Características agronômicas do Híbrido 22S18 TOP2®.....	19
Figura 2 – Características agronômicas do Híbrido 20A30 VIPTERA3®.....	19
Figura 3 – Características agronômicas do Híbrido 20A80 TOP2®.....	20
Figura 4 – Características agronômicas do Híbrido 22S18 TOP3®.....	20
Figura 5 – Características agronômicas do Híbrido 20A20 TOP2®.....	21
CAPÍTULO III	43
Figura 1 – Sub-sample of 50 seeds for each treatment of the experiment (São José do Cedro, SC - Harvest 2018/2019).....	45
Figura 2 – Packaging of the sub-sample of 50 seeds for each treatment of the experiment (São José do Cedro, SC - Harvest 2018/2019).....	46
Figura 3 – Evaluation of the germination test for each treatment of the experiment (São José do Cedro, SC - Harvest 2018/2019).....	46
Figura 4 – Percentage of normal seedlings in the experiment in relation to the factor of doses of Cu nanoparticles (São José do Cedro, SC - Harvest 2018/2019).....	47
Figura 5 – Percentage of normal seedlings of the experiment in relation to the hybrid factor (São José do Cedro, SC - Harvest 2018/2019).....	49
Figura 6 – Germination speed of the experiment in relation to the factor of doses of Cu nanoparticles (São José do Cedro, SC - Harvest 2018/2019).....	50
Figura 7 – Germination speed of the experiment in relation to the hybrid factor (São José do Cedro, SC - Harvest 2018/2019).....	51
CAPÍTULO IV	54

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I	12
CAPÍTULO II	16
Tabela 1 – Limites Máximos Tolerados (LMT) para micotoxinas no Brasil.....	29
CAPÍTULO III	43
CAPÍTULO IV	54
Tabela 1 – Limites máximos de tolerância expressos em percentual (Instrução Normativa (I.N.) MAPA nº 60/2011 (MAPA, 2011)).....	56
Tabela 2 – Enquadramento dos híbridos selecionados com 900 mg de nanopartículas de Cu.....	57
Tabela 3 – Contagem de <i>Aspergillus fumigatus</i> e detecção de micotoxinas (<i>aflatoxinas totais</i> e <i>fumonisina</i>) dos híbridos selecionados com 900 mg de nanopartículas de Cu.....	60
CAPÍTULO V	67
Tabela 1 – Resumo da ANOVA do experimento para às variáveis respostas pH, proteína, lipídio, fibra bruta, umidade e minerais (Ca, P e Cu).....	71
Tabela 2 – pH do experimento em relação a interação híbridos x doses de nanopartículas de Cu....	71
Tabela 3 – Teor de proteína dos grãos de milho dos híbridos com e sem aplicação de nanopartículas de Cu.....	72
Tabela 4 – Teor de lipídios dos grãos de milho dos híbridos com e sem aplicação de nanopartículas de Cu.....	73
Tabela 5 – Fibra bruta dos grãos de milho dos híbridos com e sem aplicação de nanopartículas de Cu.....	74
Tabela 6 – Teor de umidade dos grãos de milho dos híbridos com e sem aplicação de nanopartículas de Cu.....	75
Tabela 7 – Resultados de minerais (Fósforo e Cálcio) dos grãos de milho dos híbridos com e sem aplicação de nanopartículas de Cu.....	76
Tabela 8 – Resultados de Cobre do experimento dos grãos de milho dos híbridos com e sem aplicação de nanopartículas de Cu por espectrofotometria de absorção atômica (AAS).....	76

Tabela 9 – Micrografia Eletrônica de Varredura de amostras de híbridos de milho com aplicação de 900 mg.L⁻¹ com diferentes ampliação.....	78
---	----

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	08
LISTA DE TABELAS.....	09
CAPÍTULO I.....	12
1 INTRODUÇÃO.....	12
1.1 INTRODUÇÃO GERAL.....	13
1.2 OBJETIVOS.....	14
1.2.1 Objetivo geral.....	14
1.2.2 Objetivos específicos.....	14
REFERÊNCIAS.....	15
CAPÍTULO II.....	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DO MILHO.....	16
2.2 TRATAMENTO DE SEMENTES.....	17
2.2.1 Híbridos Utilizados.....	18
2.2.2 Cobre (Cu).....	21
2.3 GRÃOS ARDIDOS EM MILHO.....	23
2.3.1 Fungos deteriorantes toxigênicos.....	25
2.3.2 Principais micotoxinas nos grãos de milho.....	26
2.4 LEGISLAÇÃO PARA FUNGOS E MICOTOXINAS.....	28
2.4.1 Aflatoxinas.....	29
2.4.2 Fumonisinias.....	30
2.5 IMPORTÂNCIA DA NANOTECNOLOGIA.....	32
2.5.1 Nanotecnologia na agricultura e alimentos.....	33
2.5.2 Nanopartículas de Cu.....	35
2.5.3 Impactos sociais e éticos da nanotecnologia e a falta de pesquisa e regulamentação.....	37
REFERÊNCIAS.....	38

CAPÍTULO III	43
3 PHYSIOLOGICAL QUALITY OF MAIZE HYBRID SEEDS TREATED WITH COPPER NANOPARTICLES	43
3.1 INTRODUCTION.....	43
3.2 MATERIAL AND METHODS.....	45
3.3 RESULTS AND DISCUSSION.....	47
3.1 Percentage of normal seedlings	47
3.2 Germination speed	49
3.4 RESULTS AND DISCUSSION.....	47
3.3.1 Porcentagem de plântulas normais	39
3.3.2 Velocidade de germinação	
4 CONCLUSION.....	51
REFERENCES.....	52
CAPÍTULO IV	54
4 QUALIDADE SANITÁRIA DAS SEMENTES DE HÍBRIDOS DE MILHO TRATADAS COM NANOPARTÍCULAS DE COBRE	54
1 INTRODUÇÃO.....	55
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	56
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
3.1 Grãos avariados, quebrados, com matérias estranhas e impurezas	57
3.2 Unidade formadora de colônias, isolamento de fungos gêneros e identificação das espécies	60
4 CONCLUSÃO.....	63
REFERÊNCIAS.....	63
CAPÍTULO V	67
5 AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MORFOLÓGICA DE HÍBRIDOS DE MILHO OBTIDOS DE SEMENTES TRATADAS COM NANOPARTÍCULAS DE COBRE	67
1 INTRODUÇÃO.....	67
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	69
2.1 Delineamento experimental	69
2.2 Análises físico-químicas	70
2.3 Análise morfológica	70
2.4 Análise estatística	71
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	71
3.1 pH	71
3.2 Proteína	72
3.3 Extrato etéreo	73
3.4 Fibra bruta	74
3.5 Umidade	75
3.6 Cálcio	75

3.7 Fósforo	76
3.8 Análise morfológica	77
REFERÊNCIAS	80
6 CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	83

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

A referida tese está organizada em 5 Capítulos.

O Capítulo I apresenta uma introdução geral sobre o uso da nanotecnologia no campo da agricultura. Também neste mesmo capítulo os objetivos gerais e específicos são expostos.

O Capítulo II apresenta os aspectos teóricos que fundamentam esta tese.

Os resultados, obtidos estão divididos em 3 capítulos, que tratam de forma independente, cada um dos estudos realizados. Desta forma, os estudos experimentais apresentados nos Capítulos III, IV e V foram estruturados com uma breve introdução, metodologia utilizada, apresentação dos resultados, conclusões e referências.

1.1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil encontra-se consolidado como 3º maior produtor de milho no mundo e 2º maior exportador, com um consumo doméstico elevado, uma vez que é um dos principais produtores mundiais de proteína animal (CONAB, 2018). No país a produção de milho no ano de 2019/2020 foi de 250,9 milhões de toneladas, 3,6% ou 8,8 milhões de toneladas, superior ao colhido em 2018/19 (CONAB, 2021).

A dinâmica da cadeia produtiva do milho mudou no país, visto que o grão deixou de ser apenas um produto destinado à alimentação animal, mas também uma *commodity* exportável, configurando-se no cenário do agronegócio brasileiro como um dos cereais mais importantes, em termos de produtividade e rentabilidade. A produção pode ser comprometida de forma significativa ao ser atacada por pragas e doenças durante o período de germinação das sementes e emergência das plântulas. Os principais fungos que atacam as sementes de milho são *Fusarium moniliforme* (Sheld.), *Cephalosporium* sp., *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp., e ocorrem em duas etapas específicas do sistema de produção: na pré-colheita (podridões fúngicas de espigas, com a formação de grãos ardidos) e na pós-colheita, durante o beneficiamento, armazenamento e transporte (grãos mofados ou embolorados) (STEFANELLO *et al.*, 2012). Por isso, é extremamente importante que todas as sementes semeadas germinem e assegurem, o número desejado de plantas no momento da colheita e o bom rendimento da lavoura (PESKE; BAUDET, 2013).

Para Jandrey (2014), as sementes de milho híbrido carregam um dos mais modernos pacotes tecnológicos da agricultura moderna. Isso tem provocado

investimentos cada vez maiores em qualidade e proteção, pois com a introdução de eventos que incorporam características como resistência a doenças, insetos e herbicidas, ocorreu um aumento do custo inicial de implantação da lavoura, aumentando o valor agregado da semente. Além das tecnologias, o melhoramento genético tem propiciado materiais adaptados aos mais diferentes ambientes.

Na busca pela elevação dos níveis atuais de rendimento e redução nos custos de produção do milho no Brasil, novas tecnologias vêm sendo incorporadas aos sistemas de produção. Dentre essas, destaca-se a utilização de nanopartículas de nutrientes aplicadas via tratamento de sementes (TS), a qual é considerada uma estratégia agrônômica promissora, pois garante o sucesso no estabelecimento da respectiva cultura, possibilitando às plantas maior capacidade em resistir aos estresses bióticos (ocasionados por pragas e doenças) ou abióticos (em função das condições ambientais e nutrição) durante as fases de definição dos componentes de rendimento (SEGATTO, 2015).

Especificamente as nanopartículas de óxido de cobre (Cu) possuem capacidade de promover alterações metabólicas nas células, indicando a dependência do tamanho da nanopartícula no seu desempenho como material que destrói micróbios ou mesmo impedem seu desenvolvimento. Além disto, as nanopartículas de cobre possuem maiores níveis de citotoxicidade quando comparadas com nanopartículas de outros óxidos metálicos, como o óxido de ferro, dióxido de titânio e óxido de zinco (BOCHICCHIO *et al.*, 2015). O Cu é essencial para a planta completar seu ciclo. Ele desempenha importante papel em diversos processos fisiológicos, tais como: fotossíntese, respiração, distribuição de carboidratos, entre outros. Controla as relações de água na planta e a sua produção de DNA e RNA, sendo que a sua deficiência reduz a produção de sementes pelo aumento da esterilidade do pólen; está envolvido, também, nos mecanismos de resistência a doenças (TAIZ *et al.*, 2017).

Neste sentido, a nanotecnologia apresenta um largo espectro de oportunidades e possibilidades, embora seja amplamente empregada em diversas áreas do conhecimento, ainda é pouca utilizada em estudos agrônômicos, nutricionais e de tecnologia de alimentos. Assim, se justifica a presente pesquisa, com o objetivo de avaliar os aspectos agrônômicos, microbiológicos e físico-químicos em híbridos de milho submetidos ao TS com nanopartículas de Cu.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar os atributos de qualidade de sementes de milho de diferentes híbridos tratados com nanopartículas de Cu.

1.2.2 Objetivos específicos

- Analisar a qualidade fisiológica (germinação e vigor) das sementes de milho tratadas com nanopartículas de Cu;
- Determinar a qualidade sanitária das sementes de milho através da quantificação dos grãos avariados;
- Verificar a incidência de fungos (*Aspergillus fumigatus*, aflatoxinas totais e fumonisinas) em grãos ardidos;
- Analisar físico-quimicamente as sementes de milho a partir da identificação do tratamento com maior eficiência em relação a qualidade fisiológica;
- Determinar os minerais das sementes de milho tratadas com nanopartículas de Cu.
- Analisar morfológicamente sementes de milho tratadas com nanopartículas de Cu.

REFERÊNCIAS

BOCHICCHIO, R. *et al.* Root architecture and morphometric analysis of *Arabidopsis thaliana* grown in Cd/Cu/Zn-gradient agar dishes: A new screening technique for studying plant response to metals. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 91, p. 20-27, jun. 2015.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Perspectivas para a agropecuária/Companhia Nacional de Abastecimento** - v.1 - Brasília: Conab, 2018.

_____. **Perspectivas para a agropecuária/Companhia Nacional de Abastecimento** - v.1 - Brasília: Conab, 2021.

JANDREY, D. B. **Manejo de milho para altos rendimentos**. Informativo PIONEER, 38. ed., p. 14, 2014.

PESKE, S. T.; BAUDET, L. **Beneficiamento de Sementes**. In: PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E.; Sementes: Fundamentos Científicos e Tecnológicos. 3. ed., Pelotas: Ed. Universitária/UFPel, p. 457, 2012.

SEGATTO, C. Nanopartículas de óxido de zinco aplicadas no tratamento de sementes da cultura do milho (*Zea mays* L.). Chapecó, 2015. 111f. **Dissertação** (Mestrado em Tecnologia e Gestão da Inovação). Universidade Comunitária da Região de Chapecó. 2015.

STEFANELLO, J. *et al.* Incidência de fungos em grãos de milho em função de diferentes épocas de aplicação foliar de fungicida. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, p. 476-481, 2012.

TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. Artmed, 6. ed. Porto Alegre - RS, 2017.

CAPÍTULO II

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste item é apresentada uma breve revisão da literatura sobre a cultura do milho e os parâmetros fisiológicos, elencando as principais doenças que acometem as sementes. Explicando ainda os condicionantes climáticos como fatores intervenientes para o aparecimento destas, demonstrando também como influenciam diretamente no rendimento, e caracterização de qualidade. Posteriormente será discorrido sobre a nanotecnologia a favor do melhoramento da qualidade dos híbridos de milho, agindo como potenciais substâncias preventoras de eventos que comprometam a qualidade fisiológica destes cultivares.

2.1 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DO MILHO

O milho é originário do México e começou a ser utilizado pelo homem a mais de 10.000 anos. A domesticação da espécie foi realizada pelos povos nativos, Maias e Astecas, que fizeram primeiramente a seleção de plantas com mutações favoráveis, observando as características das espigas mais fáceis de serem colhidas e armazenadas e as plantas mais vigorosas, produtivas e de melhor qualidade.

Posteriormente, passaram a observar redução do número de espigas por planta e que estas produziam espigas maiores e com maior número de grãos. Até início do século XX, a produção das variedades era de polinização aberta, depois surgiu o método de endogamia e hibridação, produzindo híbrido simples e mais tarde a utilização de híbridos duplos. Após a revolução industrial, houve uma melhoria na produção do milho, através do uso de fertilizantes e agroquímicos, além disso, viabilizou-se a utilização de híbridos simples, mais produtivos (ZANCANARO, 2013).

No mercado se encontram, híbridos de milho com diferentes características fisiológicas que se adaptam melhor às condições de ambiente de diferentes regiões e que visam a atender as finalidades do agricultor. Para atender às características peculiares e diversificadas das regiões produtoras do Brasil, foram desenvolvidos novos sistemas de produção e, para tanto, as Empresas empenharam-se em obter híbridos de menor porte, precoces e mais eficientes na absorção de água, luz, temperatura e absorção de nutrientes (NASCIMENTO *et al.*, 2011). Tais características permitiram aperfeiçoar a utilização de germoplasmas de híbridos de milho de clima temperado nos mais diversos climas encontrados no território brasileiro (SZCESNY, 2015).

2.2 TRATAMENTO DE SEMENTES

A cada avanço na pesquisa agrícola, há um incremento de custo sobre as sementes a serem utilizadas pelos agricultores, por esse motivo deve-se ter o maior cuidado com esse importante insumo. Neste contexto, uma das medidas agrônômicas adotadas é o TS (Tratamento de sementes), que, provavelmente, seja a medida mais antiga, barata e a mais segura no controle de doenças transmitidas por sementes, especialmente as ocasionadas por fungos, e na prevenção ao ataque de pragas (PEREIRA; OLIVEIRA, EVANGELISTA, 2005).

De acordo com Menten *et al.* (2010), o TS, pode se referir à aplicação de produtos químicos às sementes, conferindo proteção contra a ação de fitopatógenos, ou no sentido amplo, é a aplicação de processos e substâncias que preservem ou aperfeiçoem o desempenho das sementes, permitindo que as culturas expressem todo seu potencial genético. Inclui a aplicação de agroquímicos, produtos biológicos, inoculantes, estimulantes, micronutrientes, etc. ou a submissão ao tratamento térmico ou outros processos físicos.

Segundo Peske e Baudet (2012), o TS para ser eficiente tem que erradicar o patógeno causador do dano. Para que essa eficiência seja alcançada há uma série de requisitos básicos, tais como:

- tipo de produto químico utilizado;
- tipo de patógeno;
- modo de sobrevivência do patógeno na semente;
- potencial do inóculo sobre a semente;
- variabilidade do patógeno e inseto quanto à sensibilidade ao tratamento químico;
- condições de campo em que as sementes tratadas serão semeadas;
- dose do produto químico;
- método e equipamento utilizado para realizar o tratamento.

Além disto, o TS está diretamente ligado características como: não tóxico às plantas, homem e ambiente; apresentar alta estabilidade, aderência e cobertura; não ser corrosivo; ser de baixo custo e fácil aquisição; além de ser compatível com outros produtos. Geralmente, o TS realizado nas propriedades é feito sem a utilização de equipamentos especiais e o risco de uma variação da quantidade e na cobertura do agroquímico por semente é grande. Esta falta de precisão pode acarretar em uma série de problemas futuros (PESKE; BAUDET, 2012).

Na última década a tecnologia de tratamento evoluiu de um processo *on-farm* para o processo industrial. Nesse contexto, o tratamento de sementes industrial (TSI) é uma alternativa que auxilia no controle de pragas, doenças, deficiências nutricionais, entre outras, assegurando a definição dos principais componentes de rendimento da lavoura (PIONEER SEMENTES, 2019).

Com o propósito de avaliar a emergência e a absorção de cobre por plantas de milho em resposta ao tratamento de sementes com doses de sulfato de cobre (0,00; 1,00; 2,00; 4,00 e 6,00g de cobre por kg de sementes), Luchese *et al.* (2004), observaram que a aplicação de cobre nas sementes de milho prejudicou a emergência das mesmas e a dose de 5,09g de cobre por kg de sementes foi a que mais influenciou negativamente nesta variável. A partir do tratamento com 4,00g de cobre por kg de sementes, sintomas de toxicidade foram observados sem afetar a massa seca das plantas.

2.2.1 Híbridos utilizados

Os híbridos utilizados na presente pesquisa apresentam diferentes características agronômicas, as quais podem ser observadas nas Figuras 1, 2, 3, 4 e 5.

As características agronômicas do Híbrido 22S18 TOP2® podem ser observadas na Figura 1.

Figura 1 – Características agronômicas do Híbrido 22S18 TOP2®



Fonte: Sempre Sementes (2019).

Na Figura 2 são detalhadas as características agronômicas do híbrido 20A30 VIPTERA3®.

Figura 2 – Características agronômicas do Híbrido 20A30 VIPTERA3®



Fonte: Sempre Sementes (2019).

As características agronômicas do Híbrido 20A80 TOP2® podem ser verificadas na Figura 3.

Figura 3 – Características agronômicas do Híbrido 20A80 TOP2®



Fonte: Sempre Sementes (2019).

As características agronômicas do Híbrido 22S18 TOP3® podem ser observadas na Figura 4.

Figura 4 – Características agronômicas do Híbrido 22S18 TOP3®



Fonte: Sempre Sementes (2019).

Na Figura 5 são detalhadas as características agronômicas do híbrido 20A20 TOP2®.

Figura 5 – Características agronômicas do Híbrido 20A20 TOP2®



Fonte: Sempre Sementes (2019).

2.2.2 Cobre (Cu)

Para Broadley *et al.* (2012), o Cu é um elemento que faz parte de vários compostos orgânicos, como proteínas e enzimas vitais ao metabolismo vegetal, atuando no controle da síntese de DNA e RNA, e participando de vários processos fisiológicos, como fotossíntese, respiração e metabolismo de carboidratos, lipídeos e do nitrogênio. Cambrollé *et al.* (2015), afirmam que fisiologicamente, o excesso de Cu provoca aumento na síntese de proteínas e enzimas envolvidas na defesa aos danos oxidativos, alteração no transporte de elétrons da fotossíntese e fotoinibição. Bochicchio *et al.* (2015) citam que o estresse por Cu pode danificar a estrutura das raízes, o que pode reduzir a absorção de água e nutrientes minerais do solo e, assim, diminuir o crescimento das plantas.

Segundo Marschner (2012), a absorção, a distribuição e o acúmulo de Cu em plantas é realizada por meio de transportadores de membrana, que, por sua vez, são essenciais para os processos de homeostase e tolerância ou detoxificação desse metal. Os transportadores de metais nas plantas estão presentes na membrana plasmática das células da epiderme e do córtex das raízes, incluindo os pelos radiculares, ou mesmo em outros órgãos da planta, e também nas membranas de organelas celulares, como o vacúolo.

De acordo com Arbaoui *et al.* (2014) existem muitas dúvidas em relação à caracterização destes transportadores, principalmente no caso específico do Cu, mas sabe-se que existem diversas famílias de carregadores, com função e atuação diferentes, que podem ser específicas para determinados nutrientes, podendo variar de acordo com a disponibilidade do mesmo no solo e com o local de ação na planta.

A absorção de Cu ocorre predominante na forma de Cu^{2+} ou Cu^+ , sendo mediada por transportadores de membranas, especialmente os da família COPT (proteína transportadora de Cu do inglês: *copper transporter protein*) e por ATPases de metais pesados, proteínas que atuam como transportadores de membrana. Entre os transportadores da família COPT, o COPT é o membro que melhor a caracteriza, estando localizado na membrana plasmática e sendo responsável pela entrada de Cu na célula, do exterior para citoplasma, com alta expressão em plantas sob condições de baixa disponibilidade de Cu no solo e sendo pouco expresso quando há alta concentração deste metal. As ATPases (enzimas que catalisam a decomposição do trifosfato de adenosina (ATP) em adenosina difosfato (ADP) e um íon de fosfato livre) de metais pesados não são exclusivas para Cu, sendo responsáveis pelo transporte de diversos metais através de membranas celulares.

As ATPases de metais pesados utilizam ATP para bombear íons através das membranas, enquanto os transportadores COPT1 não usam ATP para importar Cu para o citoplasma (TAIZ *et al.*, 2017).

As ATPases de metais pesados são divididas em dois grupos: as que transportam cátions monovalentes, como Cu^+ , e as que transportam cátions divalentes, como Cu^{2+} . Membros da família das ATPases de metais pesados podem estar presentes em diferentes órgãos da planta, como raízes, folhas, flores, pólen e tecidos vasculares, e ter diferentes localizações na célula, como na membrana plasmática, em membranas dos tilacóides, nos cloroplastos, sendo fundamentais para a homeostase do Cu na planta (FLOSS, 2011).

A utilização de cobre como fungicida na agricultura tem sido documentada há mais de um século (REIS; REIS; CARMONA, 2010). O sulfato de cobre já era utilizado como fungicida no século XIX, recomendado para tratamento de sementes de trigo contra o carvão. Possuía alta solubilidade na água e penetrava em tecidos vegetais, sendo fitotóxico e, portanto, não era empregado em aplicações nas folhagens. Em 1882, acidentalmente, foi então descoberta a calda bordalesa; esta calda possuía em excesso o hidróxido de cálcio que acabava por neutralizar o sulfato de cobre, resultando, quando pulverizada sobre os vinhedos, o controle do míldio. Possui em sua formulação baixa toxidez aos mamíferos e grande poder residual, por apresentar alta tenacidade. A necessidade por cobres de baixa solubilidade era grande de modo que os cobres fixos, ou também chamados de neutros, apareceram para suceder a calda bordalesa. Apresentam baixa solubilidade, conseqüentemente menor fitotoxicidade e maior facilidade de preparo. São produtos quimicamente heterogêneos, apresentando largo espectro de ação antifúngica e antibacteriana, baixa toxidez aos animais e ao homem, por exemplo, oxiclreto de cobre, hidróxido de cobre, óxido cuproso e sulfato básico de cobre (KIMATI, 2011).

O cobre é utilizado em tratamentos de inverno por apresentar ação de contato com penetração direta pela parede celular de qualquer estrutura do fungo, estando ele dormente. O produto é aplicado quando os esporos ou inóculos estão presentes na superfície da planta, em quando as plantas estão em dormência, por consequência acabam perdendo as folhas. Quando o cobre entra em contato com qualquer tipo de inóculo de fungos o fungicida acaba sendo absorvido, portanto a ação de contato é uma característica do fungicida (REIS; REIS; CARMONA, 2010).

2.3 GRÃOS ARDIDOS EM MILHO

Os grãos ardidos são causados por fungos que atacam as sementes de milho, tais como: *Fusarium moniliforme* (Sheld.), *Cephalosporium* sp., *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp., e ocorrem em duas etapas específicas do sistema de produção: na pré-colheita (podridões fúngicas de espigas, com a formação de grãos ardidos) e na pós-colheita, durante o beneficiamento, armazenamento e transporte (grãos mofados ou embolorados) (STEFANELLO *et al.*, 2012). Para os mesmos autores, grãos ardidos constituem-se em um dos principais problemas na qualidade dos grãos de milho, devido à possibilidade da presença de micotoxinas, tais como: *aflatoxinas*, *fumonisinias*, *zearalenona*, *toxina T-2* e *ocratoxina*, dentre outras. A perda qualitativa por grãos ardidos é motivo de desvalorização do produto e uma ameaça à saúde dos rebanhos e humana. A podridão destaca-se, no mundo, como uma das mais importantes doenças que atacam a cultura do milho, por reduzir a produção e a qualidade dos grãos.

Para Lima (2017), os grãos ardidos são mais leves provocando a redução da produção e apresentam a qualidade inferior em consequência baixo valor nutricional. Com isso, há desvalorização do produto no mercado, diminuindo o valor de venda. Em geral, na comercialização de grãos de milho, é descontado do preço oferecido, um percentual correspondente à incidência de grãos avariados. A proporção máxima como padrão de qualidade para grãos avariados utilizada pela maioria dos órgãos de comercialização e cooperativas é 6%.

O percentual de grãos ardidos em um lote também é utilizado para classificar o milho nos tipos 1 (até 1%), 2 (até 3%) e 3 (até 3%). As cooperativas no estado catarinense consideram amostras com até 6% de grãos avariados sem atribuição de desconto ao produtor. No Brasil, o milho sob a forma de grãos destinado à comercialização interna é classificado em grupos, classes e tipos, respectivamente de acordo com a sua consistência, coloração e qualidade. Pela classificação oficial as características qualitativas são avaliadas em um lote de milho para sua tipificação: grãos ardidos, fermentados, mofados, germinados, gessados carunchados, chochos ou imaturos, quebrados impurezas e matérias estranhas (BRASIL, 2011). Os grãos ardidos são o reflexo das podridões de espigas, causadas, principalmente, pelos fungos presentes no campo. Estes fungos podem

ser divididos em dois grupos: os que apenas produzem grãos ardidos e os que, além da produção de grãos ardidos, são exímios produtores de toxinas, denominadas micotoxinas. Os principais danos causados pelo ataque são: a descoloração dos grãos e a redução nos conteúdos de carboidratos, proteínas e açúcares totais. É importante ressaltar que a presença do fungo toxigênico não implica, necessariamente, na produção de micotoxinas, as quais estão intimamente relacionadas à capacidade de biossíntese do fungo e das condições ambientais predisponentes, como, em alguns casos, a alternância entre temperaturas diurna e noturna (LIMA, 2017).

Micotoxinas são definidas como metabólitos secundários, produzidos por fungos filamentosos. Os metabólitos primários são essenciais ao desenvolvimento e crescimento, e os secundários são formados durante o final da fase exponencial de crescimento e não possuem significância aparente. Em geral, os metabólitos secundários parecem ser formados quando grandes quantidades de precursores de metabólitos primários, tais como aminoácidos, acetato, piruvato e outros, são acumulados. A presença de algumas espécies de fungos associadas aos grãos pode levar ao acúmulo de metabólitos secundários tóxicos ao homem e aos animais, denominados de micotoxinas. Quando consumidas por animais ou pelo homem podem causar doenças denominadas de micotoxicoses. Entretanto, a simples presença do(s) fungo(s) não indica a produção de toxinas, pois as condições nas quais o fungo produz sua micotoxina são muito específicas (FLOSS, 2011).

As micotoxinas têm sido identificadas em grãos de milho, destacando-se as *aflatoxinas*, *ocratoxinas*, *tricotecenos*, *zearalenona*, *fumonisininas* (ZAIN, 2011), produzidas por algumas espécies dos gêneros dos fungos *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. Algumas espécies do gênero *Fusarium* podem produzir mais de uma micotoxina. As micotoxinas produzidas pelo *Fusarium*, podem ser produzidos principalmente no campo, embora possa ocorrer alguma síntese de toxina durante o armazenamento. *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. foram os gêneros de fungos mais comuns encontrados em grãos e alimentos para cereais armazenados (LEE; KIM; LEE, 2010).

2.3.1 Fungos deteriorantes toxigênicos

Os fungos são microrganismos que possuem ampla distribuição geográfica e são relevantes em diversas atividades econômicas como a produção de alimentos, fármacos, enzimas e ácidos orgânicos. Porém, alguns fungos são patogênicos para plantas e deterioradores de alimentos, podendo causar redução no valor nutritivo dos alimentos, produção de metabólitos secundários tóxicos e doenças em humanos e animais (SILVA *et al.*, 2015).

Dentre os principais danos causados em grãos armazenados em função do desenvolvimento de fungos podem-se citar a fermentação, alterações na coloração e aparecimento de manchas, alterações no odor e no sabor, alterações químicas, perdas de matéria seca, diminuição do poder germinativo e produção de micotoxinas (FERRARI FILHO, 2011). O milho é uma cultura suscetível ao ataque e desenvolvimento de fungos, entre eles aqueles que acometem o grão tanto antes quanto após a colheita, também chamados de fungos de campo e de armazenamento, respectivamente. Entretanto, a distinção entre esses grupos não se dá pela classificação taxonômica, mas sim pelas condições ambientais que favorecem o seu crescimento e desenvolvimento. Entre os principais fungos presentes no campo e que são encontrados em colmos, sementes e folhas do milho estão *Stenocarpella maydes* (*Diplodia maydes*), *Stenocarpella macrospora* (*Diplodia macrospora*), *Fusarium verticillioides*, *Fusarium subglutinans*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium sporotrichioides*, *Cephalosporium* spp., *Colletotrichum graminicola*, *Bipolares maydes*, *Alternaria* spp., *Rhizopus* spp., *Trichoderma* spp. e *Gibberella zeae* (ALVES *et al.*, 2012).

As espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* são os principais contaminantes do milho na secagem e no armazenamento (HERMANNNS *et al.*, 2006). Alguns fungos são chamados de intermediários, pois se desenvolvem em grãos maduros ou imaturos, desde que o período esteja próximo do armazenamento ou da pós-colheita. Esse grupo compreende os fungos dos gêneros *Epicoccum*, *Nigrospora* e *Papularia* (FIGUEIRA *et al.*, 2003). Os fungos que mais se destacam por serem responsáveis pela deterioração dos grãos na pré-colheita e, posteriormente, durante o armazenamento, são *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium* (BENTO, 2012).

2.3.2 Principais micotoxinas nos grãos de milho

Em 1960, no Reino Unido, houve um surto de mortes inexplicáveis de aves, especialmente de perus, que ficou conhecido como “*Turkey x disease*”. A investigação revelou que as mortes haviam sido provocadas por ração contaminada com uma substância fluorescente produzida pelo *Aspergillus flavus*, que deu origem a palavra *aflatoxina*. A partir desse ocorrido, pesquisas posteriores identificaram outros fungos produtores de substâncias tóxicas (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009). Os fungos toxigênicos são responsáveis pela síntese de metabólitos secundários, as micotoxinas, originadas, principalmente, por espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (FREIRE *et al.*, 2007).

Os metabólitos secundários são formados ao final da fase exponencial de crescimento do fungo, em geral quando se tem o acúmulo de metabólitos primários usados como precursores. Fungos desses gêneros são produtores de algumas micotoxinas como *aflatoxinas*, *fumonisinias*, *ocratoxinas*, *zearalenonas* e *desoxinivalenol*. O crescimento fúngico e a contaminação dos alimentos com essas toxinas dependem de fatores como umidade, temperatura, pH, tempo para o crescimento fúngico, presença de oxigênio, características genéticas, constituição do substrato, lesões nos grãos causadas por insetos ou dano mecânico/térmico, quantidade de inóculo fúngico e interação/competição de linhagens fúngicas de colheita, de pós-colheita, de transporte, de processamento e de armazenamento do produto (MAZIERO; BERSOT, 2010).

Uma mesma micotoxina pode ser produzida por diferentes espécies de fungos, e um fungo pode também produzir vários tipos de micotoxinas (MAZIERO; BERSOT, 2010). Conforme os mesmos autores, a inserção das micotoxinas na cadeia alimentar pode ocorrer de duas formas: direta ou indiretamente. Na contaminação direta, o fungo toxigênico contamina o produto e sintetiza a micotoxina, permanecendo no produto. Na contaminação indireta, a micotoxina estará presente no produto final resultante de contaminação fúngica prévia, porém, o fungo é eliminado durante o processamento do alimento.

A presença de micotoxinas em alimentos é relevante devido à sua associação com doenças em humanos e animais, além de afetar a produtividade e o comércio de grãos. A ingestão de produtos contaminados pode causar micotoxicoses, cuja gravidade depende de fatores como grau de exposição, toxicidade da micotoxina,

idade e estado nutricional do indivíduo. Os rins, o fígado e os sistemas endócrino, imunológico e nervoso, são os locais mais afetados pelos metabólitos tóxicos, dentre outros órgãos e sistemas (MAZIERO; BERSOT, 2010).

As micotoxicoses podem gerar doenças agudas ou crônicas, levando à morte rápida ou à formação de tumores. A maioria das micotoxinas é termoestável, dessa forma, são necessárias estratégias que minimizem o ataque de fungos aos grãos, como a utilização de linhagens de plantas resistentes, a colheita e o armazenamento adequado, controle de insetos e roedores, e controle da temperatura e umidade (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009).

As *aflatoxinas* eram as únicas micotoxinas cujos níveis máximos em alimentos estavam previstos na legislação brasileira. No entanto, por meio da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n° 7 de 18 de fevereiro de 2011, a ANVISA estabeleceu os Limites Máximos Tolerados (LMT) para as micotoxinas *aflatoxinas* (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2 e AFM1), *ocratoxina A* (OTA), *desoxinivalenol* (DON), *fumonisin* (FB1 + FB2) e *zearalenona* (ZON) em alimentos prontos para oferta ao consumidor e em matérias-primas no Brasil.

2.4 LEGISLAÇÃO PARA FUNGOS E MICOTOXINAS

Fungos são organismos multicelulares filamentosos que podem crescer em grãos e alimentos e produzem substâncias tóxicas chamadas de micotoxinas (NONES *et al.*, 2014). No que diz respeito aos parâmetros microbiológicos relativos à contagem padrão em placa, não há uma resolução nacional que estabeleça um limite máximo para fungos em cereais. Entretanto, a presença de fungos no milho, especialmente fungos toxigênicos podem ser indicativos de deterioração e contaminação por micotoxinas. De acordo com o processamento realizado com o milho, a contagem padrão de fungos e leveduras pode ser bastante diversificada, pois seu desenvolvimento irá depender do tipo de substrato e das condições ambientais. Serra (2005) ressalta que sendo as micotoxinas contaminantes naturais,

é impossível assegurar a isenção completa delas nos produtos alimentares, mas que a sua presença pode e deve ser minimizada a níveis que não representem risco para a saúde, empregando o princípio de ALAR, que significa “tão baixo quanto seja possível”.

No Brasil, a resolução nº 07/2011 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), determina que os níveis de micotoxinas deverão ser tão baixos quanto razoavelmente possível, devendo ser aplicadas as melhores práticas e tecnologias na produção, manipulação, armazenamento, processamento e embalagem, de forma a evitar que um alimento contaminado seja comercializado ou consumido. A resolução estabelece ainda os limites máximos toleráveis (LMT) para *aflatoxinas* (AFLs - AFB1+AFB2+AFG1+AFG2, AFM1), *fumonisinias* (FBs), *ocratoxina A* (OTA), *deoxivalenol* (DON), *zearalenona* (ZON), além de *patulina* e *citrinina* em diferentes alimentos (ANVISA, 2011).

Para milho (grão, farinha, sêmola) e outros produtos destinados ao consumo humano, os LMTs para *AFLs totais* (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2), *ocratoxina A* e *fumonisinias* de 20, 20 e 5.000 µg/kg em cereais em grãos para posterior processamento, respectivamente (com exceção do trigo), para adequação até 2014, conforme Tabela 1. No entanto, em dezembro de 2011, uma nova resolução entrou em vigor prorrogando o prazo limite para adequação destes limites (Tabela 1) para primeiro de janeiro de 2017 (BRASIL, 2011), uma vez que produtores de grãos, unidades armazenadoras e indústria deverão atender os limites previstos na legislação, implantando medidas de controle mais rigorosas a fim de reduzir ainda mais os teores de fungos e micotoxinas, sem causar escassez de alimentos disponíveis no mercado.

Tabela 1 – Limites Máximos Tolerados (LMT) para micotoxinas no Brasil

Micotoxinas	Aplicação em 2011	
	Alimento	LMT (µg.kg ⁻¹)
<i>Aflatoxinas B1, B2, G1, G2</i>	Milho, milho em grão (inteiro, partido, amassado, moído), farinhas ou sêmolas de milho.	20
<i>Fumonisinias (B1+B2)</i>	Milho de pipoca.	2000
<i>Fumonisinias (B1+B2)</i>	Alimentos à base de milho para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância).	200
<i>Zearalenona</i>	Alimentos à base de cereais para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância).	20
<i>Ocratoxina A</i>	Cereais, e produtos de cereais, incluindo cevada malteada.	10

<i>Desoxinivalenol (DON)</i>	Alimentos à base de cereais para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância).	200
Aplicação em janeiro de 2012		
<i>Fumonisinias (B1+B2)</i>	Farinha de milho, creme de milho, fubá, flocos, canjica, canjiquinha.	2500
<i>Fumonisinias (B1+B2)</i>	Amido de milho e outros produtos à base de milho.	2000
<i>Fumonisinias (B1+B2)</i>	Milho em grão para posterior processamento.	5000
<i>Zearalenona</i>	Milho de pipoca, canjiquinha, canjica, produtos e subprodutos à base de milho.	300
<i>Desoxinivalenol (DON)</i>	Farinha de trigo, massas, crackers, biscoitos de água e sal, e produtos de panificação, cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada.	1750

Fonte: Adaptado de RDC nº 7 de 18 de fevereiro de 2011 (ANVISA).

2.4.1 Aflatoxinas

A morte de mais de 100 mil perus na Inglaterra em 1960, por consumirem ração à base de amendoim contaminado, fez com que as aflatoxinas se tornassem as micotoxinas mais estudadas e conhecidas. Existem várias espécies do fungo *Aspergillus* que atuam na produção das micotoxinas, porém, destacam-se *A. flavus* e *A. parasiticus*, que produzem as *aflatoxinas B1, B2, G1 e G2*. Dentre as micotoxinas, essas são as que apresentam os maiores danos aos seres humanos e aos animais, devido à alta toxicidade e à ampla ocorrência (OLIVEIRA; KOLLER, 2011). A *aflatoxina B1* é produzida por todas as linhagens produtoras de *aflatoxinas* e é considerada a mais tóxica de todas as 17 diferentes moléculas que o grupo apresenta, atacando principalmente o fígado (ROCHA *et al.*, 2008).

No Brasil, algumas condições são favoráveis à produção de *aflatoxinas*, como o clima quente e úmido e técnicas inadequadas de plantio, colheita, secagem e armazenamento (OLIVEIRA; KOLLER, 2011). Essas toxinas geralmente contaminam os alimentos durante o armazenamento.

A temperatura mínima necessária para o desenvolvimento do fungo e a produção da *micotoxina 22* encontra-se entre 10 e 12 °C, com temperatura ótima acima de 25 °C. Além do milho, essas toxinas encontram-se presentes em diversos outros alimentos, como amendoim, castanhas, feijão, arroz, cevada, sementes de girassol e rações para animais (OLIVEIRA; KOLLER, 2011).

A ingestão de alimentos altamente contaminados por *aflatoxinas* pode causar intoxicações agudas, denominadas *aflatoxicoses*.

Entretanto, por possuírem propriedades carcinogênicas, mutagênicas, teratogênicas e imunossupressoras, as *aflatoxinas*, quando ingeridas continuamente, mesmo que em baixas concentrações, podem originar sérios danos à saúde animal e humana, como por exemplo, o câncer hepático (DILKIN *et al.*, 2000; OLIVEIRA; KOLLER, 2011).

Os efeitos causados pelas *aflatoxinas* podem diferir de acordo com as espécies alvo e podem, também, variar dentro da mesma espécie em função de alguns fatores como idade, sexo, condições nutricionais do animal e composição da dieta. O tempo de exposição e a quantidade ingerida são fatores que também influenciam nos efeitos causados pela micotoxina. A toxicidade da *aflatoxina* é maior para animais jovens e machos, quando comparados com velhos e fêmeas, e a maioria das espécies animais que apresenta suscetibilidade a *aflatoxinas* pode morrer após três dias da ingestão, dependendo da dose (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009).

Segundo Nogueira (2009), a prevenção é a forma mais eficaz de se controlar a contaminação por *aflatoxinas*. Os estudos a respeito dessa micotoxina referentes às condições favoráveis para sua produção são extremamente úteis para a mitigação do problema.

2.4.2 Fumonisinias

As *fumonisinias* encontram-se entre as principais micotoxinas contaminantes do milho, havendo sido descritas e caracterizadas pela primeira vez em 1988. São produzidas, principalmente, pelo gênero fúngico *Fusarium* (CRUZ, 2010 *et al.*, 2013). A espécie *F. verticillioides* é muito comum em campo, sendo encontrada com maior frequência em grãos recém-colhidos, com níveis de contaminação de até 100% (GONG, 2010). Porém, outras espécies do gênero *Fusarium* também são produtoras de fumonisinias: *F. proliferatum*, *F. nygamai*, *F. anthophilum*, *F. dlamini*, *F. napiforme*, *F. subglutinans*, *F. polyphialidicum* e *F. oxysporum* (POZZI *et al.*, 2002).

Existem diversos tipos de *fumonisinias* e até o momento são conhecidas 25 substâncias, sendo *B1*, *B2* e *B3* as que ocorrem com maior frequência, entretanto a *B1* é considerada a *fumonisinina* que mais interfere no metabolismo dos esfingolipídios, causando principalmente efeitos carcinogênicos (CRUZ, 2010).

O Brasil possui clima favorável para contaminação dos grãos por *fumonisin*as, pois sua produção requer condições de alta umidade e temperaturas de aproximadamente 20 a 26°C (CRUZ, 2010). As *fumonisin*as possuem característica de hidrossolubilidade, apresentando maior solubilidade em acetonitrila-água ou metanol e insolúveis em solventes orgânicos. Entretanto, assim como as outras micotoxinas, são estáveis em calor (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009).

De acordo com Minami *et al.* (2004), não existe nenhum processo industrial comumente utilizado em alimentos que possa eliminar as *fumonisin*as do produto contaminado. Assim como no caso das *aflatoxinas*, a ingestão de produtos à base de grãos contaminados com *fumonisin*as pode causar sérios danos à saúde animal e humana. Por possuírem estruturas semelhantes aos precursores dos esfingolipídios, as *fumonisin*as podem alterar funções celulares importantes como o controle da integridade da membrana, a proliferação celular, a diferenciação e a apoptose. Além disso, essas micotoxinas são conhecidas por causarem leucoencefalomalácia em equinos, edemas pulmonares em suínos e câncer de esôfago em humanos. As *fumonisin*as têm sido associadas à incidência de câncer de esôfago em humanos em diversos países, principalmente na África do Sul e nos Estados Unidos, devido ao consumo de milho e outros produtos com elevado índice de contaminação (CRUZ, 2010).

Um dos efeitos mais graves causados pelas *fumonisin*as ocorre em equinos, a leucoencefalomalácia, que é uma doença não infecciosa esporádica e altamente fatal, que pode resultar na morte dos animais dentro de horas a uma semana. Essa doença atinge o sistema nervoso central e é caracterizada por uma encefalite hemorrágica aguda (MINAMI *et al.*, 2004; CRUZ, 2010).

2.5 IMPORTÂNCIA DA NANOTECNOLOGIA

A palavra “nanotecnologia” está relacionada às tecnologias que permitem a construção de materiais ou estruturas numa escala muito reduzida: a do nanômetro (nm). Este corresponde à bilionésima parte do metro (10^{-9} m). Popularmente, o prefixo “nano” é usado para descrever objetos, sistemas ou fenômenos com características decorrentes de sua estrutura em escala nanométrica (BUZEA; PACHECO; ROBBIE, 2007).

O uso da nanotecnologia vem modificando substancialmente a forma como os diversos tipos de materiais são utilizados. Em escala nanométrica, os materiais apresentam comportamento muito distinto de suas conhecidas propriedades físicas e químicas em escalas maiores, principalmente no que diz respeito à sua reatividade química, resistência mecânica e comportamento sob ação da luz. Particularmente, as nanopartículas metálicas e seus óxidos provaram, no decorrer dos anos, terem inúmeras aplicações, especialmente medicinais, pela ação dos íons e metais reduzidos contra bactérias e fungos patogênicos, graças à sua interação com células vivas (GARCIA, 2015).

No Brasil, estudos relacionados à nanotecnologia vêm sendo incentivados pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Ministério de Ciência e Tecnologia (MCT), desde 2001. O país vem investindo cada vez mais em nanotecnologia. A produção científica em Nanociência e Nanotecnologia (N&N) no Brasil desfruta de certo prestígio no cenário mundial, com uma comunidade científica composta por cerca de 3 mil indivíduos e a melhor infraestrutura da América Latina (SANT'ANNA; ALENCAR; FERREIRA, 2013). Atualmente, espera-se que a nanotecnologia tenha um profundo impacto na economia e na sociedade durante o século 21, comparável à tecnologia da informação ou aos avanços na Biologia Celular e Molecular. Referencias???? Pesquisas científicas em nanotecnologia podem trazer grandes descobertas nas áreas de engenharia, medicina, agricultura, meio ambiente, energia, biotecnologia, tecnologia da informação, entre tantas outras possibilidades. Vê-se o potencial que a tecnologia pode proporcionar no desenvolvimento de nações (Estados) o que também poderá gerar benefícios diretos ao desenvolvimento da sociedade, incluindo o meio ambiente como um todo. Verificam-se possibilidades de melhoramento nas propriedades de diversos produtos utilizados pelas pessoas, mas também seus resíduos devem atingir potencialmente o meio ambiente, sejam alimentos, pinturas, tecidos, embalagens inteligentes, materiais esportivos, medicamentos.

Alguns analistas acreditam que a nanotecnologia tem o potencial de trazer benefícios importantes à saúde, segurança e ao meio ambiente, como por exemplo, redução do consumo de energia, poluição e as emissões de gases com efeito de estufa; remediação de danos ambientais; cura, gerenciamento ou prevenção de doenças; além de oferecer novos materiais, mais fortes para proteção e reforço da

segurança, com capacidade de autorreparação e adaptação (SARGENT JÚNIOR, 2013).

A Organização Internacional do Trabalho (2010) aponta que novos e emergentes riscos no ambiente de trabalho podem ser desencadeados por novas tecnologias ou processos de produção a exemplo da nanotecnologia e da biotecnologia. A busca por um desenvolvimento que seja sustentável, ou seja, que permita que a geração presente satisfaça as suas necessidades sem comprometer as gerações futuras é um dos maiores desafios atuais da nanotecnologia.

2.5.1 Nanotecnologia na agricultura e alimentos

Segundo Biju *et al.* (2008), a nanotecnologia é verdadeiramente uma ciência multidisciplinar com potenciais aplicações em praticamente todos os ramos da ciência e da tecnologia atuais. A nanociência e a nanotecnologia visam, respectivamente, a compreensão e o controle da matéria na escala nanométrica, ou de forma mais abrangente, desde a escala do átomo até próximo de 100 nanômetros.

Dalcomuni (2006) define nanociência e a nanotecnologia como o entendimento, controle e exploração de materiais e sistemas, cujas estruturas e componentes exibem propriedades e fenômenos físicos, químicos e biológicos significativamente novos e/ou modificados a partir de sua nanoestrutura. A possibilidade de manipular átomos de forma individualizada suscita entre os cientistas a ânsia de usar nanotecnologias em todos os campos científicos (física, química e biologia) e em suas diversas áreas (medicina, cosméticos, alimentos, novos materiais, energia e agricultura), isso ressalta o conteúdo eminentemente revolucionário desse empreendimento tecno-científico.

As possibilidades nanotecnológicas nos fazem vislumbrar o limiar de um novo processo de industrialização agrícola, mais do que isso, a revolução científica presente nas atividades de nanociência e a nanotecnologia promete ser muito mais profunda do que a ascensão dos fertilizantes e corretivos. Conforme Alves (2005) existem aplicações da nanotecnologia voltadas para a melhoria da fertilidade do solo, na produção e melhoria de sementes, na fabricação de nanosensores destinados ao monitoramento da saúde animal, na remoção de contaminantes do solo via utilização de nanopartículas magnéticas, nas análises de solo metro a metro com o fim de reduzir o uso intensivo de agrotóxicos.

As áreas que recebem grandes investimentos incluem o melhoramento através de modificações e rearranjo atômico de sementes tornando possível modificar as propriedades das plantas como cor, época, rendimento da colheita e resistência contra estresses e patógenos. Outras áreas de investimentos incluem NPS biodegradáveis para controle de fertilizantes e defensivos agrícolas. A nanotecnologia traz vantagens para o desenvolvimento de pesticidas, pois, quando as moléculas são convertidas à nanoescala, se mantidas estáveis, apresentam grande solubilidade em água quando comparadas às moléculas maiores, muitos agroquímicos disponíveis para o consumo são praticamente insolúveis em água (WHITEHOUSE; RANNARD, 2010). Desta forma, para que sejam eficientes, é necessário utilizar grandes quantidades de solventes orgânicos. Os resíduos destes solventes voláteis podem contaminar o ambiente e os trabalhadores, além de serem significativamente mais caros que água. A utilização de solventes orgânicos faz com que o pesticida seja hidrofóbico e quando em contato com ambientes aquosos pode ser tornar ineficiente. Outras vantagens para o uso de NPs (nanopartículas) em defensivos agrícolas é a grande mobilidade destas, o que permite a penetração mais eficiente nos tecidos dos insetos. Grandes empresas do agroquímico, como a BASF e BAYER (BASF, 2005), desenvolvem pesquisas sobre a formulação de pesticidas em escala nanométrica via encapsulamento.

Segundo o estudo de Letchford e Burt (2007), onde o tamanho reduzido das nanopartículas traz grandes vantagens: otimiza a eficiência do produto; podendo ser programadas para liberar seu princípio ativo nas mais variadas condições; tempo de atividade do princípio ativo; há redução de danos em culturas; perda de pesticidas por evaporação é menor; redução do impacto ambiental; redução da poluição do ar, solo e águas; redução substancial do contato dos trabalhadores com o agroquímico; é utilizada menor quantidade de produto.

Segundo o ETC Group (2004), em 1999 a empresa *Kraft Foods* fundou o primeiro laboratório de pesquisa sobre as aplicações da nanociência na produção de alimentos. Desde então, as maiores companhias da área como Ajinomoto, Bayer, Danone, Nestle, Pepsi, Syngenta, Unilever, acompanharam e deram início as suas pesquisas na área.

Em 2013 a Nanowerk, apresentou uma base de dados elencando cerca de 2170 empresas que comercializam produtos nanotecnológicos, sendo 1122 dos

Estados Unidos, 221 da Alemanha, e apenas 1 no Brasil. Neste setor alimentício, a nanotecnologia tem vasta utilização nos aditivos alimentares. Diversas substâncias que são encapsuláveis na escala manométrica, incrementam alimentos processados, modificando sua aparência e sabor. Um exemplo de aditivo alimentar mais utilizado é o Ômega 3 (CENTER FOR ADVANCED FOOD TECHNOLOGY, 2011).

Além dos aditivos alimentares, na categoria de alimentos e bebidas existiam no ano de 2013, 115 produtos que continham nanopartículas disponíveis comercialmente (CPI, 2013). Estes nanoalimentos foram cultivados, processados e embalados utilizando técnicas nanotecnológicas com adição de nanopartículas (JOSEPH; MORRISON, 2006).

A grande vantagem dos nanoalimentos é a capacidade de customização, pois a cor, sabor e nutrientes podem ser modificados de acordo com a demanda. Apesar da ênfase no desenvolvimento de alimentos customizáveis, uma das principais aplicações comerciais da nanotecnologia no setor alimentício foi no armazenamento (ROACH, 2006), já que a *shelf life* sempre foram grandes preocupações deste setor. Assim, acompanhando o desenvolvimento das nano partículas e nanocápsulas, os envoltórios alimentares nanotecnológicos foram desenvolvidos possuindo várias funções.

2.5.2 Nanopartículas de Cu

A nanobiotecnologia é uma ciência de fronteira, é uma ciência avançada e altamente interdisciplinar, sendo a combinação entre nanotecnologia e biotecnologia. A sociedade será altamente beneficiada pela fusão dessas duas tecnologias ao longo deste século, devido às potenciais aplicações em medicina, agricultura, eletrônica, cosméticos, meio ambiente etc (BIRLA *et al.*, 2009).

Para os autores supracitados, a nanobiotecnologia verde é enriquecida na medida em que utiliza princípios da química verde para o desenvolvimento sustentável. No entanto, esta ciência está em sua infância e precisa se promover de modo a desenvolver tecnologias ecologicamente corretas e economicamente viáveis, que são as necessidades do momento na direção do desenvolvimento sustentável. Pode-se definir nanobiotecnologia verde quando baseada em princípios limpos de sínteses de nanopartículas, como, por exemplo, a partir de processos biotecnológicos. Vê-se cada vez mais notoriamente, as

nanoestruturas de materiais com base de cobre, incluindo o óxido de cobre, vêm sendo amplamente utilizadas nas mais diversas áreas. Esse tipo de nanopartícula tem sua importância não somente no campo científico, mas também na indústria devido a sua aplicação em dispositivos eletrônicos, tais como: placas de circuito impressos e condensadores multicamadas de cerâmica.

Tem crescido o interesse em relação à síntese verde e ao uso de nanopartículas de cobre como agentes potencialmente antimicrobianas contra patógenos de plantas, especialmente, devido ao desenvolvimento de resistência pelos patógenos aos fungicidas existentes. Fungicidas têm sido usados nos últimos 200 anos para o controle de doenças de plantas cultivadas. Notadamente, formulações que usam cobre e enxofre ainda são usadas por fazendeiros. Contrariamente, no entanto, muitos desses produtos são banidos por inúmeras razões incluindo questões de segurança humana no que diz respeito ao uso de fungicidas químicos. Essas substâncias químicas também são responsáveis pelo aumento da poluição ambiental (RAI; GADE; YADAV, 2009).

Conforme os mesmos autores, uma área de pesquisa que merece atenção é a de uso de nanopartículas para a promoção do crescimento de plantas de cultivo, sendo que o crescimento microbiano causado pelo endófito em nanopartículas será muito útil para aumentar o crescimento dessas plantas e para mantê-las livres de patógenos. As nanopartículas também podem ser usadas para a transferência de genes em plantas. Os potenciais da tecnologia do DNA já foram constatados por todos os biotecnológicos.

2.5.3 Impactos sociais e éticos da nanotecnologia e a falta de pesquisa e regulamentação

A apreensão ou sua falta atualmente com os plausíveis riscos da aplicação da nanotecnologia na produção de alimentos remete à grande polêmica mundial nos anos 1990, a respeito dos alimentos transgênicos e seus riscos. Nodari e Guerra (2003) relatam a experiência com agroquímicos, a partir da Segunda Guerra Mundial, e o perigo da aplicação desta tecnologia sem a cumprimento de testes apropriados, pois os seus nefastos efeitos só foram conhecidos após.

Conforme a Grupo de Ação sobre Erosão, Tecnologia e Concentração (ETC-GROUP, 2004), a voracidade por patentes de produtos e processos em nanoescala pode significar megamonopólios, porém envolvem todos os setores da indústria, desestabilizando o comércio e a vida dos trabalhadores mais pobres e mais vulneráveis, que não têm flexibilidade econômica para responder a demandas imediatas de novas habilidades ou diferentes matérias-primas.

A nanotecnologia tem muitas características que tanto aumentam o seu potencial, como produzem novas questões de governança de risco global. As implicações da nanotecnologia são amplas porque suas aplicações se dão na confluência com a biologia moderna, a revolução digital e as ciências cognitivas (nano-bio-infocogno, tecnologias convergentes ou NBIC em Roco, Williams e Alivisatos, (2003).

Segundo os mesmos autores, os resultados da integração NBIC são esperados para levar a impactos significativos a longo prazo, pois oferece uma plataforma de tecnologia abrangente para a indústria, biomedicina e ambiente, bem como uma variedade quase infinita de aplicações potenciais. Tal como acontece com outras novas tecnologias, a nanotecnologia evoca entusiasmo e grandes expectativas: de um lado, estão previstos o progresso da ciência e tecnologia, novas aplicações produtivas e ganho econômico potencial; por outro lado, existem preocupações sobre os riscos e efeitos colaterais imprevistos.

É justamente pelas expectativas de impacto sobre o ser humano, seu corpo, sua identidade individual e social que ela é tomada como revolucionária, e é por levantar a questão da condição humana que o debate nessa seara adquire tamanha importância. À primeira vista, a condição humana – como objeto de intervenção e dimensão ética fundamental – parece ser comum à biotecnologia, a intervenção nanotecnológica não se dá da mesma forma que as propostas anteriores, pois, segundo o discurso científico, o controle absoluto proporcionado pela nanotecnologia, com dispositivos que permitiriam a manipulação genética eficaz, também possibilitariam a terapia gênica. Seriam, também, dispositivos nanoestruturados a tornar cada vez mais compatíveis a memória humana e os atuais computadores (ROCO; MIRKIN; HERSAM, 2011).

Neste sentido, Hankin e Caballero (2014) observam que a regulamentação do uso, da pesquisa, do desenvolvimento e da inovação em nanotecnologia passou para o topo da agenda tanto dos governos como da comunidade científica e

tecnológica, uma vez que a insegurança jurídica é um dos principais fatores de represamento dos investimentos em novas tecnologia. O sistema regulatório pode beneficiar e estimular quem promova investigação e inovação responsáveis, como uma forma de vantagem competitiva.

REFERÊNCIAS

- ALVES, E. N. T. D. *et al.* **Alternativas de controle para redução de grãos ardidos na cultura do milho**. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, p. 2012.
- ALVES, O. L. **Nanotecnologia e desenvolvimento**. Instituto de Química UNICAMP, São Paulo, 2005. Disponível em: <http://lqes.iqm.unicamp.br/images/pontos12vistaartigo_divulgacao_351nanotecnologia_desenvolvimento.pdf>. Acesso em: 16 abr. 2021.
- ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da diretoria colegiada (**RDC nº 7 de 18 de fevereiro de 2011**). Disponível em:<www.anvisa.gov.br/legis> Acesso em: 16 abr. 2021.
- ARBAOUI, S. *et al.* **Metal transporters for uptake, sequestration and translocation**. In: GUPTA, D. K.; CHATTERJEE, S. (Eds.). Heavy metal remediation: transport and accumulation in plants. New York: Nova Science Publishers, p. 29-44, 2014.
- BASF. **SoluTM E 200 BG**: Water soluble Vitamin E compound. Products for the Dietary Supplement, Beverage and Food Industries – Technical Information, 2005.
- BIJU, V. *et al.* Semiconductor quantum dots and metal nanoparticles: syntheses, optical properties, and biological applications. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 391, n. 7, p. 2469–95, 2008.
- BIRLA S. S. *et al.* Fabrication of silver nanoparticles by *Phoma glomerata* and its combined effect against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 48, n. 2, p. 173-179, 2009.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa N° 60, de 22 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da União**, DF, 23 dez. 2011. p. 3, Seção 1.
- BROADLEY, M. *et al.* **Function of nutrients**: micronutrients. In: MARSCHNER, P. Marschner's mineral nutrition of higher plants. 3. ed. Londres: Academic Press, p. 191-248, 2012.
- BUZEA, C.; PACHECO, B.I.; ROBBIE, K. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. **Biointerphases**. v. 2, n. 4, p. 1-103, 2007.

CAMBROLLÉ, J. *et al.* Evaluating wild grapevine tolerance to copper toxicity. **Chemosphere**, v. 120, p. 171-178, feb. 2015.

CENTER FOR ADVANCED FOOD TECHNOLOGY. **Food Related Studies**: Final Report, 2011.

CRUZ, J. V. Ocorrência de *aflatoxinas e fumonisinas* em produtos à base de milho e milho utilizado como ingrediente de ração para animais de companhia comercializados na região de Pirassununga, Estado de São Paulo. 73 f., 2010. **Tese** (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 2010.

DALCOMUNI, S. M. Inter-relações fundamentais para o desenvolvimento sustentável. In: MARTINS, P.R. (Org.). **Nanotecnologia, sociedade e meio ambiente**. São Paulo: Xamã, p.49-68, 2006.

ETC GROUP. **Down on the farm**. 2004.

FERRARI FILHO, E. **Métodos e temperaturas de secagem sobre a qualidade físicoquímica e microbiológica de grãos de milho no armazenamento**. 2011, Mestrado em ciência da planta, Faculdade de Agronomia da UFRGS, fevereiro, Porto Alegre, RS, 2011.

FLOSS, E. L. **Fisiologia das plantas cultivadas**: o estudo do que está por trás do que se vê. Passo Fundo: Editora Universitária, 2011.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. As micotoxinas. **Revista Food Ingredients**. América do Sul, n. 7, p. 33-40, 2009.

FREIRE, F. C. O. *et al.* **Micotoxinas**: Importância na Alimentação e na Saúde Humana e Animal. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza. Documentos 110, 1. ed. 2007.

GARCIA, M. R. **Caracterização espectro-temporal de cultivares de trigo por meio do índice de vegetação por diferença normalizada-NDVI de sensores terrestres**. 2015. Disponível em: <http://tede.unioeste.br/bitstream/tede/2708/1/murilo.pdf>. Acesso em: 26 mar. 2019.

HANKIN, S. M.; CABALLERO, N. E. D. **Regulação da Nanotecnologia no Brasil e na União Europeia**. Diálogos Setoriais União Europeia – Brasil. Brasília: MCTI, 2014.

JOSEPH, T; MORRISON, M. **Nanotechnology in Agriculture and Food**. Nanoforum Report. 2006.

KIMATI, H. Controle químico. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.). **Manual de fitopatologia**: princípios e conceitos. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 1, 2011.

LEE, K.; KIM, B.H.; LEE, C. Occurrence of *Fusarium mycotoxin* beauvericin in animal feeds in Korea. **Animal Feed Science and Technology**, v.157, n.3-4, p.190-194, 2010.

LETCHFORD, K.; BURT, H. A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 65, n. 3, p. 259-269, 2007.

LIMA, A. de. Quantificação de fungos e de grãos avariados em milho no estado de Santa Catarina. Lages, 2017. 70f. **Dissertação** (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade do Estado de Santa Catarina. 2017.

LUCHESE, A. V. *et al.* Emergência e absorção de cobre por plantas de milho (*Zea mays*) em resposta ao tratamento de sementes com cobre. **Ciência Rural**, v. 34, n. 6, p. 1949-1952, 2004.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 3. ed London: Elsevier, 2012.

MAZIERO, M. T.; BERSOT, L. S. Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. **Revista Brasileira de Produtos Agroindústria**, Campina Grande, v. 12, n. 1, p. 89-99, 2010.

MENTEN, J. O. M. *et al.* Tratamento de Sementes – Palestra apresentada no III Workshop Brasileiro sobre Controle de Qualidade de Sementes – ABRATES, UFU, UFLA, Uberlândia – MG. **Resumo...**, v. 20, n. 3, 2010.

MINAMI, L. *et al.* **Fumonisins**: Toxicological effects, mechanism of action and biomarkers for exposure assessment. Semina, 2004.

NASCIMENTO, E. S. *et al.* Resposta de híbridos de milho a diferentes espaçamentos entre linhas. **Nucleus**, Ituveraba, v. 9, n. 2, p. 131-140, 2011.

NODARI, R.O.; GUERRA, M.P. Plantas transgênicas e seus produtos: impactos, riscos e segurança alimentar (biossegurança de plantas transgênicas). **Revista de Nutrição**, v. 16, n. 1, p. 105-116, 2003.

NONES, J. *et al.* Evaluation of fungi and fumonisins in swine feed and its ingredients on a farm in Santa Catarina, Brazil. **Revista eletrônica Nutritime**, v. 11, n. 1, p. 3238-3245, Mar/Abr, 2014.

OLIVEIRA, L. S. F.; KOLLER, F. F. C. Ocorrência de *Aspergillus sp.* e aflatoxinas em amostras de amendoim in natura e paçocas. **Revista de Ciências Ambientais**. v. 5, n. 1, p. 57-68, 2011.

ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DEL TRABAJO. **Riesgos emergentes y nuevos modelos de prevención en un mundo de trabajo en transformación**. Ginebra, 2010.

PEREIRA, C. E.; OLIVEIRA, J. A.; EVANGELISTA, J. R. E. Qualidade fisiológica de sementes de milho tratadas associadas a polímeros durante o armazenamento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 6, p. 1201-1208, 2005.

PESKE, S. T.; BAUDET, L. **Beneficiamento de Sementes**. In: PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E.; Sementes: Fundamentos Científicos e Tecnológicos. 3. ed., Pelotas: Ed. Universitária/UFPel, p. 457, 2012.

PIONEER SEMENTES. **Tratamento de Sementes Industrial**. 2019. Disponível em: <http://www.pioneersementes.com.br/Servicos/Tratamento-de-Sementes-Industrial/Pages/Home.aspx>. Acesso em: 26 mar. 2019.

POZZI, C. R. *et al.* Aspectos Relacionados à Ocorrência e Mecanismo de Ação de *Fumonisin*s. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 5, p. 901-907, 2002.

RAI, M.; YADAV, A.; GADE, A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 76-83, 2009.

REIS, E. M.; REIS, A. C.; CARMONA, M. A. **Manual de fungicidas**: guia para o controle químico de doenças de plantas. 6. ed. Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo, 2010.

ROACH S. **Most companies will have to wait years for nanotech's benefits**. 2006.

ROCHA, M. D. *et al.* Incidência de *aflatoxinas* em amostras de amendoim e paçoca comercializadas na cidade de Alfenas MG, Brasil. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 21, n.1, p. 15-19, 2008.

ROCO, M. C.; MIRKIN, C. A.; HERSAM, M.C. Nanotechnology Research Directions for Societal Needs in 2020: Summary of International Study. **Journal of Nanoparticle Research**, 2011.

ROCO, M. C.; WILLIAMS, S.; ALIVISATOS, P. **Nanotechnology Research Directions**: vision for nanotechnology in the next decade. Interagency Working Group on Nanoscience, Engineering, and Technology Workshop Report. 2003.

SANT'ANNA, L. da S.; ALENCAR, M. S. de M.; FERREIRA, A. P. Patenteamento em nanotecnologia no brasil: desenvolvimento, potencialidades e reflexões para o meio ambiente e a saúde humana. **Química Nova**, v. 36, n. 2, p. 348-353, 2013.

SARGENT JÚNIOR, J. F. **The National Nanotechnology Initiative**: Overview, Reauthorization, and Appropriations Issues. In: Congressional Research Service. (CRS) Report for Congress - Prepared for Members and Committees of Congress, Aug. 9, 2013.

SEMPRE SEMENTES. **Produtos**, 2019. Disponível em: <<https://www.sempre.agr.br/produto/milho>>. Acesso em: 16 abr. 2021.

SERRA, R. **Microflora das uvas portuguesas e seu potencial para a contaminação das uvas com micotoxinas, com destaque para ocratoxina A.** 2005. Tese de doutorado em engenharia química e biologia, Universidade do Minho, Portugal. 2005.

SILVA, F. C. *et al.* Taxonomia polifásica para identificação de *Aspergillus seção flavi*: uma revisão. **Revista IFES Ciência**, v.1, n. 1, p. 18-40, 2015.

STEFANELLO, J. *et al.* Incidência de fungos em grãos de milho em função de diferentes épocas de aplicação foliar de fungicida. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, p. 476-481, 2012.

SZCESNY, L. S. Densidade populacional de híbridos de milho em diferentes épocas de semeadura na região de Guarapuava – PR. 2015. 71f. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Centro Oeste, Guarapuava, 2015.

TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. Artmed, 6. ed. Porto Alegre - RS, 2017.

WHITEHOUSE P, RANNARD S. The application of nanodispersions to agriculture. **Outlook Pest Manag**, v. 21, n. 4, p. 190-192, 2010.

WILD, C. P., GONG, Y. Y. Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. **Carcinogenesis**, v. 31, n. 1, p. 71-82, 2010.

ZAIN, M. E. Impact of mycotoxins on humans and animals. **Journal of Saudi Chemical Society**, Oxford, v. 15, p. 129-144, 2011.

ZANCANARO, P. O. **Melhoramento Genético do Milho**, 2013. Disponível em: http://www.genetica.esalq.usp.br/Ign0313/iog/Palestra_Melhoramento%20de%20Milho.pdf. Acesso em: 26 mar. 2019.

CAPÍTULO III

International Journal of Advanced Engineering Research and Science (IJAERS) [Vol-7, Issue-5, May- 2020]
<https://dx.doi.org/10.22161/ijaers.75.52> ISSN: 2349-6495(P) | 2456-1908(O)

3 QUALIDADE FISIOLÓGICA DAS SEMENTES DE HÍBRIDOS DE MILHO TRATADAS COM NANOPARTÍCULAS DE COBRE

PHYSIOLOGICAL QUALITY OF MAIZE HYBRID SEEDS TREATED WITH COPPER NANOPARTICLES

ABSTRACT

In corn, several factors determine productivity, especially those inherent in planting and the quality of seeds. Nanoparticles that contain some essential element in plants are classified as nanofertilizers, which are allegedly more efficient than traditional fertilizers. The experimental design used was the Randomized Block Design (DBC), in a factorial scheme (5 x 5) with 3 repetitions. The seeds of corn hybrids treated with copper nanoparticles were subjected to germination and seed vigor tests. The data were submitted to Analysis of Variance (ANOVA) by the F test ($P \leq 0.05$), for the nanocopper doses, regression analysis ($P \leq 0.05$) was performed with the choice of mathematical models through the coefficient of determination (R^2). Differences between means were compared using the Tukey test ($P \leq 0.05$). Seed vigor was assessed by testing the first count and germination speed. Corn hybrids showed an average of 95.6% in relation to normal plants, not expressing a significant difference between them. The results indicate an optimum value for the seed treatment time and for the concentration of copper nanoparticles in the reaction medium. The longer the seed treatment time and the higher the concentrations in the reaction medium, it is possible to incorporate higher amounts of nanoparticles to the seeds without the treatment. The presence of nanoparticles in the seeds did not affect the germination speed per hybrid. This indicator shows that nanoparticles do not interfere with metabolic mechanisms in the germination phase.

Keywords: Corn hybrids, copper nanoparticles, physiological quality

1 INTRODUCTION

Corn is characterized by being a crop with a low plant population, so production can be significantly compromised by being attacked by pests and diseases during the period of seed germination and seedling emergence. For this reason, it is extremely important that all the seeds sown germinate and ensure, the desired number of plants at the time of harvest and the good yield of the crop [1]. In the quest to raise current income levels and reduce corn production costs in Brazil, new technologies have been incorporated into production systems. Among these, we highlight the use of nanoparticles of nutrients applied via seed treatment (TS), which is considered a promising agronomic strategy, as it guarantees success in establishing the respective crop, enabling plants to have a greater capacity to resist biotic stresses (caused by pests and diseases) or abiotics (depending on environmental conditions and nutrition) during the definition of the yield components.

In corn, several factors determine productivity, especially those inherent in planting and the quality of seeds. For example, if the physiological potential, represented by germination and vigor, determines the capacity of the seed to produce a normal seedling, that potential can be compromised in the production

process because of factors such as genotype, in which cultivars of the same species can have vigor and different longevity. As well as adversities in the development of seeds (availability of water and nutrients, temperature, occurrence of diseases and insects, etc.) can affect their performance, the procedures adopted in harvesting, processing and storage significantly influence their physiological potential [2].

The growing need for food production and the risk of depleting the mineral reserves of fertilizers, are driving the search for new products to optimize plant nutrition and reduce losses by leaching and volatilization, which make the production system more expensive, in addition to contaminating natural resources. The micromineral copper (Cu) nanoparticles have potential for use as fertilizers, as they present less solubilization than the conventional source, reducing losses due to fixation [3].

Nanoparticles that contain some essential element in plants are classified as nanofertilizers, which are allegedly more efficient than traditional fertilizers [4]. However, for use in agriculture it is essential to understand not only its efficiency as a fertilizer, but also the effects of these products on plants and their behavior. For Zhao et al. [5], the physiological responses of plants exposed to nanoparticles are often used to elucidate their effects on growth, development and toxicity [6].

The physiological process of germination and root growth are indicators of toxicity widely used in studies of the interaction between nanoparticles and plants [7]. For Pokhrel et al. [8], in addition to inhibiting the germination process, structural changes in primary cells and reduced root growth may occur after exposure to nanoparticles, an effect attributed to plant growth.

Thus, the present research is justified, with the objective of evaluating the physiological aspects in corn hybrids submitted to TS with Cu nanoparticles.

2 MATERIAL AND METHODS

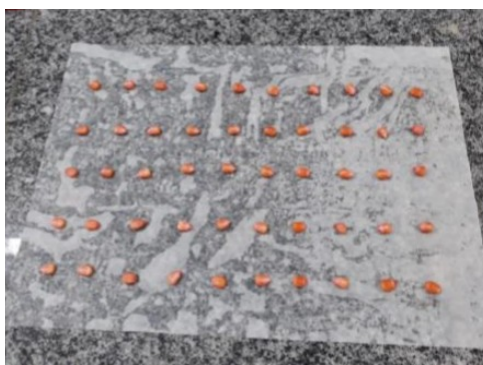
The study was conducted in the Technology and Seed Production laboratory of the Agronomy Course at the University of the West of Santa Catarina in the municipality of São José do Cedro / SC.

The experimental design used was the Randomized Block Design (DBC), in a factorial scheme (5 x 5), and in factor A the corn hybrids were allocated (H1: 22S18

TOP2[®]; H2: 20A30 VIPTERA[®]; H3: 20A80 TOP2[®]; H4: 22S18 TOP3[®] and H5: 20A20 TOP2[®]) and in factor B, Cu nanoparticles doses were allocated via TS (D1: control; D2: 100.00 mg.L⁻¹; D3: 300.00 mg.L⁻¹; D4: 900.00 mg.L⁻¹ and D5: 2700.00 mg.L⁻¹), with 3 repetitions. The seeds of corn hybrids treated with copper nanoparticles, were obtained through a master's research in Technology and Innovation Management at the Community University of the Region of Chapecó - UNOCHAPECÓ, entitled "Agronomic aspects in corn hybrids submitted to seed treatment with Copper Nanoparticles" [9].

The seeds of corn hybrids treated with copper nanoparticles were subjected to germination and seed vigor tests on hydrated paper towel substrates (Germitest) with a volume of solution equivalent to three times its mass. For each made roll, three sheets of paper towels were used. Seed vigor was assessed by testing the first count and germination speed. The germination test was conducted with four sub-samples of 50 seeds for each treatment, according to the criteria established in the Rules for Seed Analysis (Figures 1 and 2). The prepared rolls, with three sheets of paper towels, were placed in a B.O.D. (model MA 415), regulated to maintain a constant temperature of 25 ± 2 °C [10].

Figure 1 – Sub-sample of 50 seeds for each treatment of the experiment (São José do Cedro, SC - Harvest 2018/2019)



Source: prepared by the author.

Figure 2 – Packaging of the sub-sample of 50 seeds for each treatment of the experiment (São José do Cedro, SC - Harvest 2018/2019)



Source: prepared by the author.

According to the same author, the evaluation of the first germination count was performed on the fourth day after the test was installed. The final germination count (second count), obtained by adding the first germination count, was performed on the seventh day after the test was installed (Figure 3). The data were converted to percentage of normal seedlings.

From the first count and germination speed an indicator of the seed vigor was obtained and with the final count the viability. The germination speed was calculated using the Edmond and Drapala equation [11].

Figure 3 – Evaluation of the germination test for each treatment of the experiment (São José do Cedro, SC - Harvest 2018/2019)



Source: prepared by the author.

The data collected were submitted to Analysis of Variance (ANOVA) by the F test ($P \leq 0.05$), for the nanocopper doses, regression analysis ($P \leq 0.05$) was performed with the choice of mathematical models through the coefficient of determination (R^2).

Differences between means were compared using the Tukey test ($P \leq 0.05$). The computational application used was SISVAR - System of analysis of variance for balanced data [12].

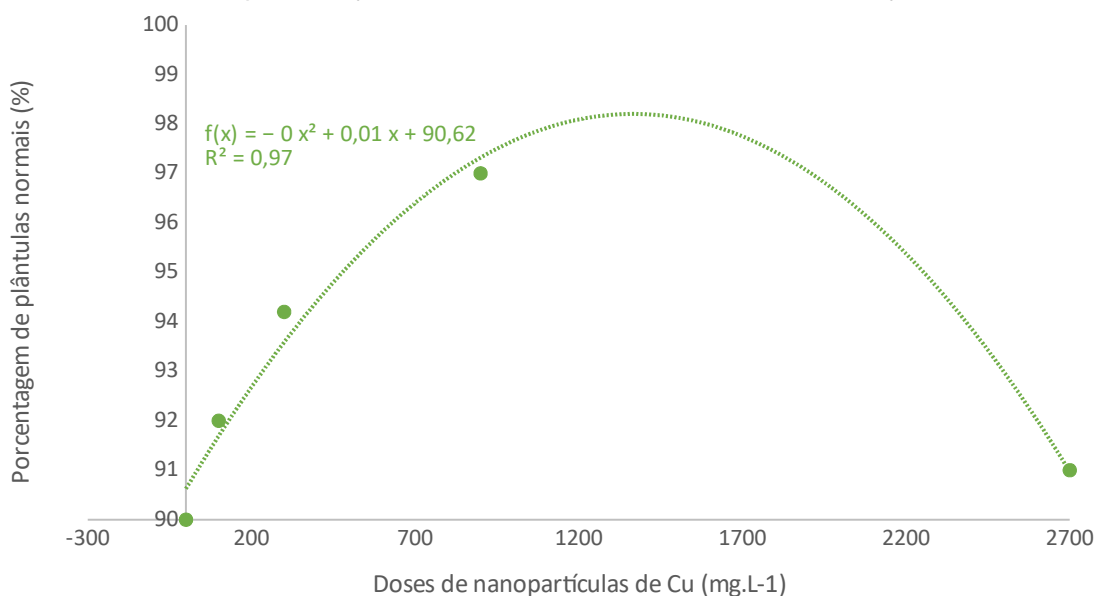
3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Percentage of normal seedlings

The analysis of variance revealed a significant effect ($P \leq 0.05$) of the factor of doses of Cu nanoparticles in relation to the variable response percentage of normal seedlings, that is, there is a mathematical model that explains the influence of variable X (doses of nanoparticles of Cu) in relation to variable Y (percentage of normal seedlings) (Figure 4).

As shown in Figure 04, it can be seen that there was a cause and effect relationship between the variable nanoparticle doses and the percentage percentage of normal seedlings, that is, the doses of Cu nanoparticles influenced 96.93% in the percentage of normal seedlings, respectively, presenting a quadratic behavior.

Figure 4 – Percentage of normal seedlings in the experiment in relation to the factor of doses of Cu nanoparticles (São José do Cedro, SC - Harvest 2018/2019)



Source: prepared by the author.

In the present study, it can be noted that in relation to the growth of normal seedlings, the dose that showed the best results was 900 mg.L^{-1} of nanocopper, influencing 96% in the seed germination of the corn hybrids. The increase in the number of normal seedlings can be considered an added benefit due to the treatment process and the presence of copper nanoparticles in the seed.

These results are strong indications that the presence of copper nanoparticles in corn seeds does not induce a great effect of toxicity to the seeds. Although there may be a negative effect of the nanoparticles due to their toxicity to plant cells, this effect should be small, to the point of impairing the physiology of the cells and generating abnormal seedlings, but not to the point of leading the seedlings to death.

In the study by Stampoulis, Sinha and White [13], it was found that seeds exposed to 100mg.L^{-1} of Cu, germinated normally, although root growth was compromised.

In the research by Wu *et al.* [6], Cu nanoparticles did not inhibit the germination of tomato seeds (*Solanum lycopersicum*) in the tested doses ($100\text{-}500\text{mg.L}^{-1}$), data that are equivalent to this study. Less tolerant crops such as lettuce, radish and cucumber, treated with Cu suspension in water, had a 50% reduction in germination when the concentration in the suspension reached 13, 398 and 175mg.L^{-1} of Cu respectively.

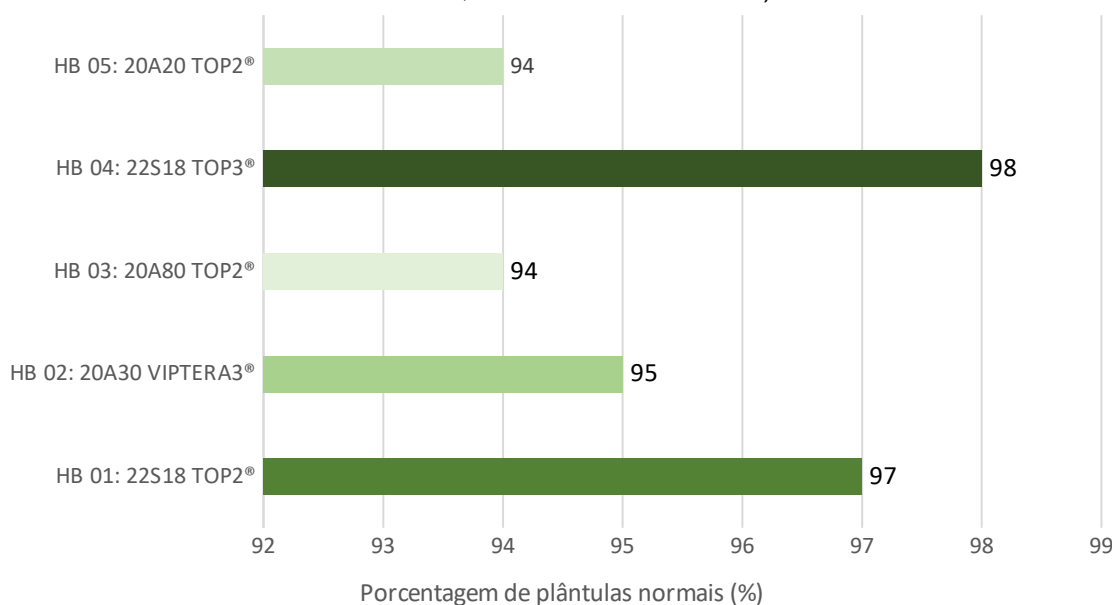
In corn seeds treated with 100mg.L^{-1} of Cu, despite the lack of effect on germination, there was inhibition of seedling growth, compared to the source of Cu [5].

Using doses of $0\text{-}1000\text{mg.L}^{-1}$ of copper nanoparticles in cucumber plants (*Cucurbita pepo*), after centrifugation, to remove supernatant particles during the germination period, they observed a significant increase in biomass compared to plants grown in non-centrifuged solution, suggesting a phytotoxic effect of nanoparticles [12].

In the germination of mung beans and wheat in a concentration of 1000mg.L^{-1} , but they reduced root growth [17]. With soybean seeds (*Glycine max*) and chickpeas (*Cicer arietinum* L.) exposed to the suspension of Cu nanoparticles ($0\text{-}2000\text{mg.L}^{-1}$) in a Petri dish germination test, they also did not have an inhibitory effect on germination, although root growth has been completely inhibited [14].

The analysis of variance did not reveal a significant effect ($P>0.05$) of the hybrids in relation to the variable response percentage of normal seedlings (Figure 5).

Figure 5 – Percentage of normal seedlings of the experiment in relation to the hybrid factor (São José do Cedro, SC - Harvest 2018/2019)



Means followed by the same letter do not differ significantly by Tukey's test ($P \leq 0.05$)

Source: prepared by the author.

The analysis of variance revealed a significant effect ($P \leq 0.05$) of the factor of doses of nanoparticles of Cu in relation to the variable response speed of germination, that is, there is a mathematical model that explains the influence of variable X (doses of nanoparticles of Cu) in relation to variable Y (germination speed) (Figure 05).

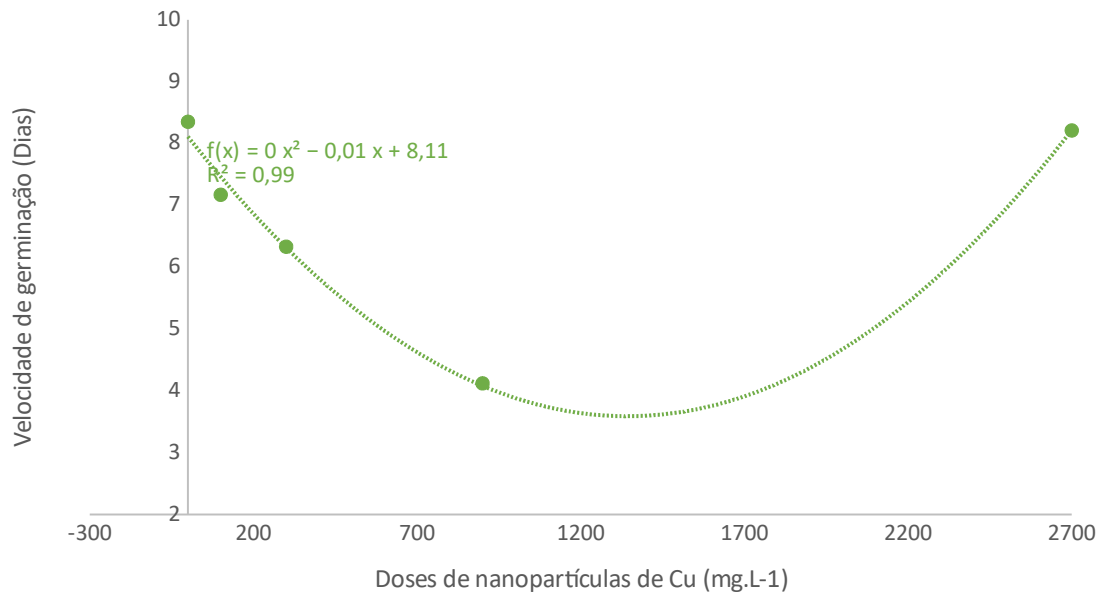
Corn hybrids showed an average of 95.6% in relation to normal seedlings, not expressing a significant difference between them.

It can be seen that all tested hybrids have germination values above the commercialization standard, which is 80% established by the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply in Normative Instruction 45 [15], thus guaranteeing the necessary quality for the establishment of culture in the countryside.

3.2 Germination speed

The analysis of variance revealed a significant effect ($P \leq 0.05$) of the factor of doses of nanoparticles of Cu in relation to the variable response speed of germination, that is, there is a mathematical model that explains the influence of variable X (doses of nanoparticles of Cu) in relation to variable Y (germination speed) (Figure 6).

Figure 6 – Germination speed of the experiment in relation to the factor of doses of Cu nanoparticles (São José do Cedro, SC - Harvest 2018/2019)



Source: prepared by the author.

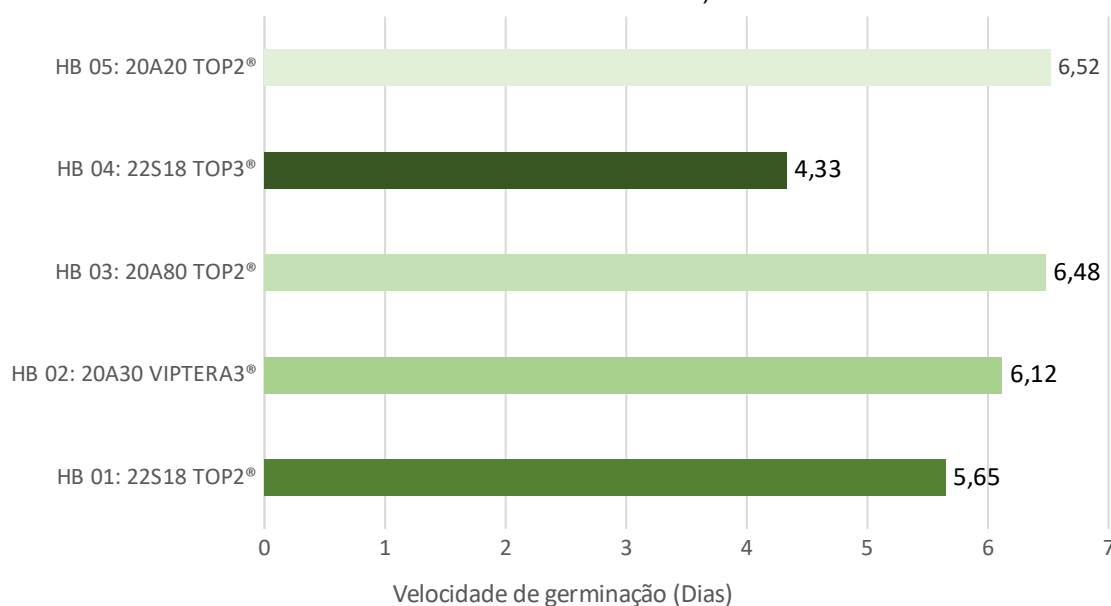
As shown in Figure 06, it is noticed that there was a cause and effect relationship between the variable nanoparticles doses and the variable germination speed, that is, the doses of Cu nanoparticles influenced 98.79% in the germination speed, respectively, presenting a quadratic behavior.

From the 4th day of the germination process, it can be observed that all seeds germinated, that is, the nanocopper did not harm the process, with emphasis on the dose of 900mg.L⁻¹ that demonstrated greater effectiveness in the vigor of the seedlings.

The results indicate an optimum value for the seed treatment time and for the concentration of copper nanoparticles in the reaction medium. The longer the seed treatment time and the higher the concentrations in the reaction medium, it is possible to incorporate higher amounts of nanoparticles to the seeds without the treatment. Thus, the increase in normal seedlings is due to the presence of nanoparticles available for the seed inside.

The analysis of variance did not reveal a significant effect ($P > 0.05$) of the hybrids in relation to the germination speed response variable (Figure 7).

Figure 7 – Germination speed of the experiment in relation to the hybrid factor (São José do Cedro, SC - Harvest 2018/2019)



Means followed by the same letter do not differ significantly by Tukey's test ($P \leq 0.05$)

Source: prepared by the author.

The presence of copper nanoparticles in the seeds did not affect the germination speed by hybrid. This indicator shows that nanoparticles do not interfere with the metabolic mechanisms of seeds in the germination phase.

4 CONCLUSION

The copper nanoparticles did not have a negative influence on germination or on the speed of this process, on corn seeds, since if there is a toxic effect it is small and will not compromise the metabolism of the seed likewise, the availability of copper for corn plants should occur at future stages of development, that is, vegetative and reproductive.

Declarations

Funding: Not applicable

Conflicts of interest: The authors declare that there are no conflicts of interest.

REFERÊNCIAS

1. Peske ST, Baudet L (2012) Seed Processing. In: Peske, S. T.; Villela, F. A.; Meneghello, G. E.; Seeds: Scientific and Technological Foundations. 3. ed., Pelotas: Ed. Universitária / UFPel, p. 457.
2. Souza AAB, De (2018) ZnO and CuO nanoparticles: Physiological effects on cowpea plants (*Vigna unguiculata*). 91 f., 2018. Thesis (PhD in Soil Science) - Federal University of Pernambuco, Recife, PE.
3. Morales-Diaz AB (2017) Application of nanoelements in plant nutrition and its impact on ecosystems. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, Bristol, vol. 8, p. 13.
4. Zhao L. *et al.* (2013) Influence of CeO₂ and ZnO nanoparticles on cucumber physiological markers and bioaccumulation of Ce and Zn: A life cycle study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 61, p. 11945-11951.
5. Wang X. *et al.* (2016) Zinc oxide nanoparticles affect biomass accumulation and photosynthesis in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, Lausanne, v. 6, No. 1243.
6. Wu SG. *et al.* (2012) Phytotoxicity of metal oxide nanoparticles is related to both dissolved metals ions and adsorption of particles on see surfaces. *Journal of Petroleum and Environmental Biotechnology*, Beijing, v. 3, n. 126.
7. Pokhrel LR, Dubey B (2013) Evaluation of developmental respondents of two crop plants exposed to silver and zinc oxide nanoparticles. *Science of the Total Environment*, Amsterdam, p. 321-332.
8. Verdi NL (2019) Agronomic aspects in corn hybrids submitted to seed treatment with copper nanoparticles. Chapecó, 2019. 82f. Dissertation (Master in Technology and Innovation Management). Community University of Chapecó Region.
9. Brazil. Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (2011) Normative Instruction No. 60, of December 22, 2011. *Diário Oficial da União*, DF, December 23. P. 3, Section 1.
10. Edmond JB, Drapala WJ (1958) The effects of temperature, sand, soil, and acetone on germination of okra seeds. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, v. 71, n. 5.
11. Ferreira, DF (2011) Sisvar: a computer system for statistical analysis. *Science and Agrotechnology*. v. 35, n. 6, p.1039-1042.
12. Stampoulis D, Sinha SK, White JC. Assay-dependent phytotoxicity of nanoparticles to plants. *Environmental Science and Technology*, Washington, v.43, p.9473-9479, 2009. Available at: <https://doi.org/10.1021/es901695c>.

13. Lee K, Kim BH, Lee C. Occurrence of Fusarium mycotoxin beauvericin in animal feeds in Korea. *Animal Feed Science and Technology*, v.157, n.3-4, p.190-194, 2010.
14. Adhikari T, Kundu, S Biswas, AK Tarafdar, JC Rao, AS. Effect of copper oxide nanoparticles on seed germination of selected crops. *Journal of Agricultural Science and Technology A, Tehran*, v.2, p.815-823, 2012.
15. Mapa. Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (2013) Rules for Seed Analysis, p. 31.

CAPÍTULO IV

4 QUALIDADE SANITÁRIA DAS SEMENTES DE HÍBRIDOS DE MILHO TRATADAS COM NANOPARTÍCULAS DE COBRE

SANITARY QUALITY OF MAIZE HYBRID SEEDS TREATED WITH COPPER NANOPARCULES

Artigo aceito: Brazilian Journal of Development (BJD) ISSN: 2525-8721

RESUMO

O milho é uma cultura suscetível ao ataque e desenvolvimento de fungos, entre eles aqueles que acometem o grão tanto antes quanto após a colheita. A utilização de cobre como fungicida na agricultura tem sido documentada há mais de um século. O objetivo deste trabalho foi avaliar os aspectos sanitários e microbiológicos em híbridos de milho submetidos ao tratamento de sementes (TS) com nanopartículas de Cu. Analisou-se 5 tipos de híbridos de semente milho tratados com nanopartículas de Cu na dose de 900 mg.L⁻¹ em relação à inspeção visual (grãos avariados) para separação de categorias e detecção dos fungos. Os híbridos HB 05: 20A20 TOP2[®] e HB 02: 20A30 VIPTERA3[®] destacam-se por apresentar menor porcentagem 4,06% e 5,55%, respectivamente, quanto grãos avariados, quebrados, com matérias estranhas e impurezas. O híbrido HB 03: 20A80 TOP2[®] apresentou maior quantidade (10,08%) de grãos sintomáticos. Os menores valores de FBtotal foram de 1,18 e 1,55 µg/kg nos HB 05 (20A20 TOP2[®]) e HB 02 (20A30 VIPTERA3[®]), respectivamente e o híbrido HB 01 (HB 01: 22S18 TOP2[®]) foi o que apresentou maior valor (4,09 µg/kg), estando de acordo com a legislação.

Palavras-chave: Híbridos de milho, nanopartículas de cobre, qualidade sanitária.

ABSTRACT

Corn is a crop susceptible to attack and development of fungi, including those that affect the grain both before and after harvest. The use of copper as a fungicide in agriculture has been documented for more than a century. The objective of this work was to evaluate the sanitary and microbiological aspects in corn hybrids submitted to seed treatment (TS) with Cu nanoparticles. We analyzed 5 types of corn seed hybrids (mention which ones) treated with Cu nanoparticles at a dose of 900 mg.L⁻¹ in relation to visual inspection (damaged grains) to separate categories and detect fungi. The hybrids HB 05: 20A20 TOP2[®] and HB 02: 20A30 VIPTERA3[®] stand out for presenting a lower percentage of 4.06% and 5.55%, respectively, in terms of damaged, broken grains, with foreign matter and impurities. The hybrid HB 03: 20A80 TOP2[®] showed the highest amount (10.08%) of symptomatic grains. The lowest FBtotal values were 1.18 and 1.55 µg / kg in HB 05 (20A20 TOP2[®]) and HB 02 (20A30 VIPTERA3[®]), respectively and the hybrid HB 01 (HB 01: 22S18 TOP2[®]) was the which presented the highest value (4.09 µg / kg), being in accordance with the legislation.

Keywords: Corn hybrids, copper nanoparticles, sanitary quality.

1 INTRODUÇÃO

A contaminação de alimentos por fungos produtores de micotoxinas pode ocorrer no campo, nas diversas fases de produção, durante o processamento dos produtos e no armazenamento (KUIPER-GOODMAN, 2004). A toxicidade das micotoxinas está relacionada principalmente às propriedades genotóxicas, carcinogênicas, imunotóxicas e nefrotóxicas (BRERA *et al.*, 2008).

A realização de estudos mais completos com relação à contaminação de cereais é de extrema importância, pois além de ser uma ferramenta de vigilância sanitária (verificação da adequação dos níveis de contaminação à legislação vigente), informações já solicitadas por comitês internacionais (FAO, 2011).

Para Jandrey (2014), as sementes de milho híbrido carregam um dos mais modernos pacotes tecnológicos da agricultura moderna. Isso tem provocado investimentos cada vez maiores em qualidade e proteção, pois com a introdução de eventos que incorporam características como resistência a doenças, insetos e herbicidas, ocorreu um aumento do custo inicial de implantação da lavoura, aumentando o valor agregado da semente. Além das tecnologias, o melhoramento genético tem propiciado materiais adaptados aos mais diferentes ambientes.

Na busca pela elevação dos níveis atuais de rendimento e redução nos custos de produção do milho no Brasil, novas tecnologias vêm sendo incorporadas aos sistemas de produção. Dentre essas, destaca-se a utilização de nanopartículas de nutrientes aplicadas via tratamento de sementes (TS), a qual é considerada uma estratégia agrônômica promissora, pois garante o sucesso no estabelecimento da respectiva cultura, possibilitando às plantas maior capacidade em resistir aos estresses bióticos (ocasionados por pragas e doenças) ou abióticos (em função das condições ambientais e nutrição) durante as fases de definição dos componentes de rendimento. A nanotecnologia envolve muitas pesquisas, está em expansão e envolve muitas linhas de aperfeiçoamento tanto da indústria como de outros setores e aplicações. No campo científico estão sendo reconhecidas como forte potencial de várias aplicações e produtos. Especificamente as nanopartículas de óxido de cobre possuem maior capacidade de promover alterações metabólicas nas células, indicando a dependência do tamanho da nanopartícula no seu desempenho como material que destrói micróbios ou mesmo impedem seu desenvolvimento, o óxido de cobre possui maiores níveis de citotoxicidade quando comparadas com

nanopartículas de outros óxidos metálicos, como o óxido de ferro, dióxido de titânio e óxido de zinco (MARTINS *et al.*, 2012).

Indiscutivelmente, a nanotecnologia apresenta um largo espectro de oportunidades e possibilidades, embora seja amplamente empregada em diversas áreas do conhecimento, ainda é pouca utilizada em estudos agrônômicos, nutricionais e de tecnologia de alimentos. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os aspectos sanitários e microbiológicos em híbridos de milho submetidos ao TS com nanopartículas de Cu.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os híbridos de milho utilizados neste estudo foram: H1: 22S18 TOP2®; H2: 20A30 VIPTERA®; H3: 20A80 TOP2®; H4: 22S18 TOP3® e H5: 20A20 TOP2®. Estas sementes foram tratadas com 900 mg.L⁻¹ nanopartículas de Cu, com base em estudo prévio obtido por Carlesso *et al.* (2020), onde com esta dose o milho apresentou melhor qualidade fisiológica.

Os grãos foram avaliados em armazenamento sob condições de umidade e temperatura controlada.

Para avaliar a qualidade sanitária, as amostras de grãos de milho foram quarteadas em 250 g, sendo os grãos submetidos à inspeção visual para separação de categorias. A incidência dos grãos avariados foi determinada conforme critério estabelecido na Instrução Normativa Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento n° 60/2011 (MAPA, 2011), como demonstra a Tabela 1.

Tabela 1 – Limites máximos de tolerância de incidência dos grãos avariados de acordo com a Instrução Normativa n° 60/2011 (MAPA, 2011)

Enquadramento	Grãos avariados		Grãos quebrados	Matérias estranhas e impurezas ------(%)-----	Carunchados
	Ardidos ------(%)-----	Total			
Tipo 1	1,00	6,00	3,00	1,00	2,00
Tipo 2	2,00	10,00	4,00	1,50	3,00
Tipo 3	3,00	15,00	5,00	2,00	4,00
Fora do tipo	5,00	20,00	> 5,00	> 2,00	8,00

Fonte: MAPA (2011).

Em cada amostra foi realizada a separação manual dos grãos sintomáticos (ardidos, fermentados e mofados) dos grãos sadios. Os grãos sintomáticos foram pesados e o peso obtido transformado em incidência de grãos avariados. Os grãos ardidos têm definição de grãos ou pedaços de grãos que apresentam escurecimento total, causado por calor, umidade ou fermentação avançada. Para os fermentados, consiste em grãos ou pedaços de grãos que apresentam escurecimento parcial do germe ou endosperma causado por calor ou processo fermentativo. Para os mofados, são grãos ou pedaços de grãos que apresentam contaminação fúngica visível a olho nu ou coloração esverdeada/azulada no germe (MAPA, 2011).

A detecção dos fungos foi realizada de acordo com Ribeiro *et al.* (2013).

As micotoxinas (Aflatoxinas totais e fumonisina) foram determinadas nos grãos dos híbridos tratados com 900 mg.L⁻¹ nanopartículas de Cu.

Os dados coletados foram submetidos à análise estatística descritiva, conforme Piana, Machado e Selau (2009); tais dados foram interpretados por intermédio da elaboração de gráficos e de tabelas com base nas Normas de Apresentação Tabular do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (1993).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Grãos avariados, quebrados, com matérias estranhas e impurezas

Conforme a separação manual dos grãos sintomáticos (ardidos, fermentados e mofados) dos grãos sadios (MAPA, 2011) foi possível categorizar os híbridos de milho submetidos ao TS na dose de 900 mg.L⁻¹ de nanopartículas de Cu (Tabela 2).

Tabela 2 – Enquadramento dos híbridos submetidos ao TS com 900 mg.L⁻¹ de nanopartículas de Cu

Híbridos	Grãos avariados	Grãos quebrados	Matérias estranhas/impurezas	Carunchados	Tipo
HB 05: 20A20 TOP2®	4,06	0,36	0,19	0,00	1
HB 02: 20A30 VIPTERA3®	5,55	0,24	0,13	0,00	1
HB 04: 22S18 TOP3®	6,07	0,28	0,18	0,00	2
HB 01: 22S18 TOP2®	8,74	0,28	0,17	0,00	2
HB 03: 20A80 TOP2®	10,08	0,49	0,30	0,00	3

Fonte: elaborada pela autora.

A partir dos dados obtidos dos diferentes híbridos observou-se que a qualidade sanitária (danos de grãos/impurezas/carunchados) apresentou variações. Os híbridos HB 05: 20A20 TOP2[®] e HB 02: 20A30 VIPTERA3[®] destacam-se positivamente, pois apresentam menores porcentagens (4,06% e 5,55%) quanto aos grãos avariados. No entanto, o híbrido HB 02: 20A30 VIPTERA3[®] se destacou por apresentar menor percentual de grãos quebrados, com matérias estranhas e impurezas. Relaciona-se tal resultado pelas espigas dos híbridos serem completamente empalhadas, com palhas mais alongadas e unidas na ponta, protegendo completamente o terço superior da espiga.

Em contrapartida, o híbrido HB 03: 20A80 TOP2[®] apresentou o pior empalhamento (VERDI, 2020), correlacionando-se assim a elevada percentagem (10,08%) de grãos sintomáticos. Deve-se ressaltar que, ambos híbridos HB 05: 20A20 TOP2[®] e HB 02: 20A30 VIPTERA3[®] apresentam nas suas características morfológicas o quesito empalhamento bom e excelente. Logo este fator, representa um caráter importante para reduzir as perdas no milho. Fonseca (2005) afirma que, o bom empalhamento da espiga, que ocorre quando as brácteas que a revestem cobrem completamente a extremidade da inflorescência feminina, impede que os grãos da ponta da espiga fiquem expostos a condições ambientais desfavoráveis, principalmente acúmulo de umidade. Segundo Costa *et al.* (2012), em trabalho realizado avaliando 13 linhagens elite na Embrapa Milho e Sorgo, estas diferenças foram relacionadas à algumas características de espiga, como o nível de empalhamento e a decumbência.

Os híbridos que possuem espigas mal empalhadas, com palhas frouxas e não totalmente cobertas, são mais predispostos a infecção por fungos, devido ao maior acesso desses organismos aos grãos. Espigas mal empalhadas podem favorecer a maior incidência de grãos ardidos, conforme reportado por Costa *et al.* (2012). Desta forma, a presença de espigas bem empalhadas e decumbentes após a maturação fisiológica pode ser uma ferramenta importante para diminuir a ocorrência de fungos que infectam as espigas.

Quanto aos tipos de grãos contra as alterações nos híbridos, a maioria dos grãos foram classificados como tipo 1 e 2 (Tabela 2). O Tipo 2 é classificado de acordo com a quantidade de grãos e danos fermentados. O foco principal da análise de grãos danificados foi correlacioná-las com os resultados do estudo em curso

sobre fungos (isolados). Além disso, para correlacionar a sua qualidade através da observação da presença de organismos vivos (insetos/fungos) e de grãos alterados (fungos e bactérias de fermentação). De acordo com a norma vigente que estabelece o Regulamento Técnico do milho, da Instrução Normativa nº 60/2011(MAPA, 2011), em relação à percentagem de grãos ardidos toleráveis, os grãos oriundos do experimento apresentaram > 2% de ardidos, o que acarretaria em uma desclassificação do produto, sendo designado como grãos Fora de Tipo, sendo que os mesmos poderão ser comercializados como se apresenta, desde que identificado como Fora de Tipo, ou poderá ser beneficiado novamente, desdobrado ou recomposto para efeito de enquadramento em tipo.

Assim, a interferência das nanopartículas de Cu na categorização dos grãos ardidos e sadios conforme a Tabela 2, também deve ser levada em consideração. Na planta, o cobre está presente em várias proteínas e participa de inúmeras enzimas, atuando, devido à esta participação, em praticamente todas as vias metabólicas do vegetal, especialmente no metabolismo de carboidratos, do nitrogênio e na síntese de lignina (BROADLEY *et al.*, 2012). A dose 900 mg.L⁻¹ de nanopartículas de Cu aplicada neste estudo, pode ter contribuído como um fator nutricional e protetivo quanto a metabolização e recuperação de nutrientes escassos. A mobilidade do Cu depende do seu teor no tecido. Em plantas bem nutridas, transloca-se com facilidade até os grãos, enquanto nas deficientes tal movimento é mais difícil. De um modo geral, os órgãos mais novos são os primeiros a apresentar sintomas de deficiência de Cu (MARSCHNER, 2012). Segundo Tisdale *et al.* (1993), tanto a aplicação de Cu via solo ou via foliar são efetivas, porém, é mais comum a aplicação via solo, com quantidades que variam de 0,67 a 22 kg de Cu/ha. No estudo de plantas submetidas ao tratamento com nanopartículas de prata sugere que as nanopartículas foram capazes de penetrar as sementes e de se translocar até as folhas das plantas de soja.

No estudo com plantas de abóbora, cultivadas em um meio aquoso contendo nanopartículas de óxido de ferro, Zhu *et al.* (2008) provaram que as plantas foram capazes de absorver, translocar e acumular as nanopartículas nos tecidos vegetais. Cerca de 0,6 % das nanopartículas fornecidas foram acumuladas nas folhas e 45,4 % destas foram detectadas nas raízes.

3.2 Unidade formadora de colônias (UFC), isolamento de fungos gêneros e identificação das espécies

Na Tabela 3 são apresentadas as contagens de fungos *Aspergillus fumigatus* e outros gêneros, e detecção de micotoxinas (*aflatoxinas totais* e *fumonisina*) nos híbridos de milho submetidos ao TS na dose de 900 mg.L⁻¹ de nanopartículas de Cu.

No que diz respeito à carga fúngica, os 5 híbridos apresentaram crescimento, nas condições ótimas (25 °C), permitindo quantificar a extensão da carga de fungos do milho, o mínimo detectado foi de 1,0 x 10¹ e o máximo de 8,4 x 10⁴ UFC.g⁻¹. Percebe-se que o HB 05 (20A20 TOP2[®]) apresentou o menor crescimento fúngico (contagem de outros fungos) em relação aos demais híbridos. Estes resultados podem estar relacionados aos indicadores de rendimentos, doenças sintomáticas foliares e radiculares, demonstrando os HB 05 (20A20 TOP2[®]) e HB 02 (20A30 VIPTERA3[®]) serem os mais resistentes e produtivos (VERDI,2020).

No Brasil, a legislação não prevê limites máximos toleráveis (LMT) para fungos para grão de milho seco, apenas para a farinha de milho, <1x 10³ UFC/g.

Tabela 3 – Contagem de *Aspergillus fumigatus* e detecção de micotoxinas (*aflatoxinas totais* e *fumonisina*) dos híbridos tratados com 900 mg.L⁻¹ de nanopartículas de Cu

Híbridos selecionados com 900 mg de nanopartículas de Cu.L ⁻¹	Contagem de <i>Aspergillus fumigatus</i>	Contagem de outros fungos	Detecção de micotoxinas	
			<i>Aflatoxinas totais</i>	<i>Fumonisina</i>
	(UFC/g)		µg/Kg (ppb)	mg/Kg (ppm)
HB 05: 20A20 TOP2 [®]	1,0 x 10 ¹	2,1 x 10 ⁴	6,5	1,18
HB 02: 20A30 VIPTERA3 [®]	1,0 x 10 ¹	5,2 x 10 ³	6,4	1,55
HB 04: 22S18 TOP3 [®]	1,0 x 10 ¹	6,8 x 10 ⁴	5,0	1,35
HB 01: 22S18 TOP2 [®]	1,0 x 10 ¹	5,0 x 10 ³	<4	4,09
HB 03: 20A80 TOP2 [®]	1,0 x 10 ¹	8,4 x 10 ⁴	7,2	1,94

Fonte: Mercolab (2019).

Esse cereal pode estar sujeito à contaminação por uma microbiota fúngica diversa durante a formação dos grãos, na colheita, no transporte e no armazenamento, com redução da qualidade sanitária, física e nutricional dos grãos e seus derivados e perdas do produto. Várias espécies desses fungos, em condições favoráveis, podem produzir metabólitos tóxicos, as micotoxinas, ocasionando problemas de saúde pública e animal (CRUZ, 2010).

Em relação aos níveis de Fumonisina (FB₁, FB₂ e FB₃) o total de FBs (FBtotal) detectados nos híbridos pesquisados, todas as amostras apresentaram contaminação por ambas as toxinas. No entanto, nenhuma das amostras estavam acima do limite de quantificação. Os níveis detectados variaram entre 1,18 e 4,09 µg/kg.

Os valores de FBtotal menos expressivas foram de 1,18 e 1,55 µg.kg⁻¹ nos HB 05 (20A20 TOP2[®]) e HB 02 (20A30 VIPTERA3[®]), respectivamente, e HB 01 (HB 01: 22S18 TOP2[®]), com maior valor (4,09 µg/kg) mesmo assim, estando abaixo do LMT brasileiro (FBtotal: 5.000 µg/kg), inclusive abaixo do valor preconizado pelo *Food and Drug Administration* - FDA (US - 4000 µg/kg) (BRASIL, 2011, 2013; FDA, 2001). Cruz (2010) avaliou FBs em milho para a produção de alimentos destinados à animais em Pirassununga (SP), e detectou 431 a 6.495 µg/kg. Estes valores foram superiores aos encontrados no presente estudo.

A contaminação de produtos agrícolas por fungos de campo e FBs depende de diferentes fatores, além da região geográfica (onde são cultivadas) e as estações de plantio / colheita, também as condições climáticas (temperatura, precipitação de chuva e umidade relativa - UR). Como grãos no Brasil são cultivadas principalmente em regiões subtropicais, foram relatados como propensos à contaminação de FBs (LAZZARI, 1993). Asevedo *et al.* (1994), pesquisaram a microbiota fúngica e espécies produtoras de aflatoxinas em 90 amostras de milho estocados em diferentes regiões do Brasil, também isolaram os seguintes gêneros de fungos filamentosos apresentados em ordem decrescente de ocorrência: *Aspergillus* (72,2%), *Penicillium* (67,7%), *Fusarium* (62,2%). Adebajo *et al.* (1994) investigando a microbiota fúngica de milho e produtos à base de milho, também verificaram que os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* eram predominantes. Já Castro *et al.* (1995), estudando a microbiota em milho coletado em diferentes localidades do Estado de São Paulo, verificaram que os gêneros predominantes eram *Fusarium* e *Penicillium*, e o gênero *Aspergillus* foi o de menor frequência.

Os fungos do gênero *Aspergillus* são os indicadores de deterioração em sementes e grãos causando danos no germe, descoloração, alterações nutricionais, perda da matéria seca e os primeiros estágios da deterioração microbiológica (ALVES *et al.*, 2012). No âmbito internacional, o Codex Alimentarius estabelece limites para AFs em amendoim, amêndoa, avelã, castanha do Brasil, figos secos e pistache (10-15 µg/kg) e para OTA em trigo cru, cevada e centeio (5 µg/kg) (BROADLEY *et al.*, 2012). Em 2014, o

Comitê de Contaminantes do Codex aprovou limites para fumonisinas (FB1+FB2) em grãos de cereais crus (4000 µg/kg) e em fubá e farinha de milho (2000 µg/kg). O estabelecimento de limites para DON (cereais crus, produtos processados e cereais para alimentação infantil) e AFs em arroz, milho, sorgo e trigo ainda está em discussão (CODEX,2014).

A dificuldade de controlar o crescimento de fungos não provém somente das condições ambientais desfavoráveis no campo, mas também do desenvolvimento da resistência dos fungos frente a fungicidas convencionalmente utilizados. Para suprir a necessidade de reduzir e/ou inibir o desenvolvimento de fungos, é essencial os estudos de novos agentes anti-fúngicos que possam auxiliar nas estratégias atuais de controle. Estes agentes devem causar danos para as membranas fúngicas, entretanto, precisam manter a integridade dos grãos. Os agrotóxicos tradicionalmente utilizados como fungicidas tem várias desvantagens, incluindo toxicidade em altas concentrações e permanência de resíduos nos alimentos (FAO, 2014).

Alguns estudos têm demonstrado atividade antimicrobiana preventiva de várias nanopartículas, incluindo a prata (CHOI *et al.*, 2008) cobre (CIOFFI *et al.*, 2005) e óxido de zinco (LIU *et al.*, 2009). A atividade anti-fúngica de NPs de óxido de zinco já foi evidenciada, inibindo o crescimento de *Botrytis cinerea* e *Penicillium expansum* (HE *et al.*, 2011). Abreu *et al.* (2007) afirmam que o cobre (Cu) é cofator de muitas reações bioquímicas e fisiológicas nas plantas, participando dos processos de fotossíntese e respiração, e diretamente sobre os complexos reprodutivos. Além disso, o íon Cobre participa nos processos de indução de resistência e nos efeitos de proteção, proporcionando efeitos danosos do íon no interior dos microrganismos nocivos. O Cu também desempenha papel no metabolismo de defesa das plantas. As enzimas polifenoloxidase, ascorbato oxidase e diamino oxidase contêm Cu e ocorrem nas paredes celulares desempenhando papel nas vias biossintéticas, desde fenol via quinona, até substâncias melanóticas e lignina explicam Kirkby e Römheld (2007).

4 CONCLUSÃO

Constata-se que a atividade antimicrobiana do cobre, sobretudo na forma de nanopartículas, ocorre neste estudo como em outros relatados de forma preventiva. Ocorre ainda que a lignina, e compostos ativos como a fitoalexina, presentes em quantidades significativas e diferenciadas em cada híbrido, agem como barreiras mecânicas contra a entrada de microrganismos. A deficiência de Cu reduz a atividade destes compostos ativos, diminuindo a presença de lignina, conseqüentemente, reduzindo a capacidade defensiva da planta. Os Híbridos HB 05: 20A20 TOP2® e HB 02: 20A30 VIPTERA3® destacaram-se positivamente quanto aos parâmetros de enquadramento, tal resultado pode ser explicado com relação ao seu empalhamento excelente. Quanto ao crescimento fúngico, o HB 05: 20A20 TOP2® obteve os melhores resultados quanto a menor carga fúngica.

REFERÊNCIAS

- ABREU, C. A.; LOPES, A. S.; SANTOS, G. C. G. Micronutrientes. *In*: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H. A.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (eds). **Fertilidade do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, UFV, p. 645-736, 2007.
- ALVES, E. N. T. D. *et al.* **Alternativas de controle para redução de grãos ardidos na cultura do milho**. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, p. 2012.
- ANDRADE, R. V.; BORBA, C. S. **Fatores que afetam a qualidade das sementes**. *In*: EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo; Tecnologia para produção de sementes de milho. Sete Lagoas, 1993, p. 7-10. (Circular Técnica, 19).
- ANDRADE, R. V.; BORBA, C. S. **Fatores que afetam a qualidade das sementes**. *In*: EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo; Tecnologia para produção de sementes de milho. Sete Lagoas, 1993, p. 7-10. (Circular Técnica, 19).
- ASEVEDO, I.G. *et al.* Mycoflora and aflatoxigenic species of *Aspergillus spp.* isolated from stored maize. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 25, n.1, p. 46-50, 1994.
- BARLOW, E. Chemistry and formulation. *In*: **“Pesticide Application: Principles and Practice”**, p. 1 - 34. UK: Clarendon Press, 1985.
- BORDIN, K. *et al.* Assessment of dietary intake of fumonisin B1 in São Paulo, Brazil. **Food Chemistry**, v. 155, p. 174–178, 15 jul. 2014.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa N° 60, de 22 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da União**, DF, 23 dez. 2011. p. 3, Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 60, de 22 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da União**, DF, 23 dez. 2011. p. 3, Seção 1.

BRERA, C. *et al.* *Ochratoxin A* contamination in Italian wine samples and evaluation of the exposure in the Italian population. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 10611-10618, 2008.

BROADLEY, M. *et al.* **Function of nutrients: micronutrients.** *In*: MARSCHNER, P. Marschner's mineral nutrition of higher plants. 3. ed. Londres: Academic Press, p. 191-248, 2012

CALDAS, E. D.; SILVA, A. C. S. Mycotoxins in corn-based food products consumed in Brazil: An exposure assessment for fumonisins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 19, p. 7974–7980, 2007.

CASTRO, M. F. P.; SOARES, L. M. V.; FURLANI, R. P. Z. Mycoflora, aflatoxigenic species and mycotoxins in freshly harvested corn (*Zea mays* L.): a preliminary study. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 26, n. 4, p. 289-295, 1995.

CHOI, O. *et al.* The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth. **Water Research**, v. 42, n.12, p. 3066-3074, 2008.

CIOFFI, N. *et al.* Synthesis, analytical characterization and bioactivity of Ag and Cu nanoparticles embedded in poly-vinyl-methyl-ketone films. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, v. 382, n. 8, p. 1912-1918, 2005.

CODEX ALIMENTARIUS. **Codex general standard for contaminants and toxins in food and feed.** CODEX STAN, p. 193-195, 2014.

COSTA, G. M. C. *et al.* **Resistência Genética e Características de Espigas na Incidência de Grãos Ardidos em Milho.** *In*: XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, Águas de Lindóia, p. 733-741, 2012.

CRUZ, J. V. Ocorrência de aflatoxinas e fumonisinas em produtos à base de milho e milho utilizado como ingrediente de ração para animais de companhia comercializados na região de Pirassununga, Estado de São Paulo. 73 f., 2010. **Tese (Doutorado em Zootecnia)** - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 2010.

DESPHANDE, S. S. The Science of Toxicology. **Handbook of Food Toxicology**, p. 8-16, 2002.

FAO. FAOSTAT - **Statistics division of the Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2014.

FERREIRA, D. F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p.1039-1042, 2011.

FONSECA, M. J. O. **Sistemas de Produção Embrapa Milho e Sorgo**. Sete Lagoas: Colheita e Pós Colheita, 2005. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho/colsecagem.htm>> Acesso em: 20 abril. 2020.

FRISVAD, J. *et al.* *Fumonisin B-2 production by Aspergillus niger*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 23, p. 9727–9732, 2007.

HE, L. *et al.* Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. **Microbiological Research**, v. 166, n.3, p. 207-215, 2011.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Normas de apresentação tabular**. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Centro de documentação e disseminação de informações. 3ª ed. Rio de Janeiro: IBGE, 62p., 1993.

JANDREY, D. B. **Manejo de milho para altos rendimentos**. Informativo PIONEER, 38. ed., p. 14, 2014.

KIRKBY, E. A.; RÖMHELD, V. **Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade**. Encarte técnico Informações Agronômicas. Piracicaba, n. 118, p. 1-24, jun. 2007.

KUIPER-GOODMAN, T. **Risk assessment and risk management of mycotoxins in food**. In: MAGAN, N. E OLSEN, M. (Ed.). *Mycotoxins in food – Detection and control*. Cambridge - England: Woodhead Publishing Limited, p. 3-31, 2004.

LÁZZARI, A. F. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações**. Curitiba: Pallotti, 1993.

LIU, Z.; GAO, J.; YU, J. Aflatoxins in stored maize and rice grains in Liaoning Province, China. **Journal of Stored Products Research**, v. 42, n.4, p. 468–479, 2006.

MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Regras para Análise de Sementes**, p. 31, 2009.

MARSCHNER, P. **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**. 3th ed. London: Academic Press, 2012.

MARTINS, F. A. *et al.* Daily intake estimates of fumonisins in corn-based food products in the population of Parana, Brazil. **Food Control**, v. 26, n. 2, p. 614–618, 2012.

MERCOLAB. **Análises laboratoriais - Unidade formadora de colônias (UFC), isolamento de fungos gêneros e identificação das espécies**. Chapecó, 2019.

PIANA, C.F.B.; MACHADO, A. A.; SELAU, L. P. R. **Estatística Básica**. Pelotas: UFPel, Instituto de Física e Matemática, 1v., 2009.

RIBEIRO, P. E. A. *et al.* **Validação de métodos para determinação de zearalenona e fumonisinas totais por fluorimetria em amostras reduzidas de milho**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Embrapa Milho e Sorgo, 86.

TISDALE, S.M.; NELSON, W.L.; BEATON, J.D. & HAVLIN, J.L. Soil fertility and fertilizers. 5.ed. New York, **Macmillan Publishing Company**, 1993. 634p.

ZHU, H.; HAN, J.; XIAO, J. Q.; JIN, Y. Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 10, n. 6, p. 713-717, 2008.

CAPÍTULO V

5 AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MORFOLÓGICA DE HÍBRIDOS DE MILHO OBTIDOS DE SEMENTES TRATADAS COM NANOPARTÍCULAS DE COBRE

RESUMO

O milho pode ser considerado uma das culturas de maior importância no país, tanto economicamente quanto nutricionalmente. O objetivo do presente estudo foi avaliar as características físico-químicas e morfológicas de grãos de 5 híbridos de milho (HB 01: 22S18 TOP2[®]; HB 02: 20A30 VIPTERA[®]; HB 03: 20A80 TOP2[®]; HB 04: 22S18 TOP3[®] e HB 05: 20A20 TOP2[®]) produzidos a partir de sementes com e sem tratamento utilizando nanopartículas de cobre (900 mg de nanopartículas de Cu.L⁻¹). Por meio das características morfológicas e de distribuição dos aglomerados de nanopartículas de Cu verificou-se a adsorção do Cu na superfície e no interior das sementes de milho. O HB 04: 22S18 TOP3[®] tratado com nanopartículas de Cu apresentou maior conteúdo de proteína, fibra e fósforo em relação aos demais híbridos, resultado expressivo em decorrência da morfofisiologia do tipo de grão que tem particularidades em relação ao genótipo. Sendo um grão semiduro, com maior espessura da parede celular, diminuindo a quantidade de lúmen celular, em consequência diminuição do amido. O mesmo híbrido relacionando com testes anteriormente analisados, expressa indicadores de qualidade fisiológica em relação a utilização de nanopartículas de cobre, que influenciaram diretamente na germinação e vigor (velocidade de germinação). Ressalta-se também os resultados expressos pela análise de espectrofotometria de absorção atômica (AAS) para o HB 02: 20A30 VIPTERA[®] que apresentou melhores percentuais de concentração.

Palavras-chave: Híbridos de milho, nanopartículas de cobre, análises físico-química, espectrometria de absorção atômica, micrografia Eletrônica de Varredura.

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays*) é um dos cereais mais cultivados no mundo. No Brasil a produção de milho no ano de 2019/2020 foi de 250,9 milhões de toneladas, 3,6% ou 8,8 milhões de toneladas, superior ao colhido em 2018/19 (CONAB, 2021), sendo considerada uma das culturas mais importantes do agronegócio. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e da China.

Incrementos significativos de produtividade nesta cultura vem sendo verificados no Brasil, principalmente pelo desenvolvimento e adoção de novas tecnologias (CALDARELLI; BACCHI, 2012). Dentre estas, destaca-se o tratamento de sementes, que possui grande importância em relação ao manejo de pragas e doenças que afetam a fase inicial do ciclo da cultura.

O tratamento de sementes consiste em uma tecnologia amplamente utilizada para a cultura do milho, possuindo como objetivos principais os manejos de pragas e doenças que afetam a fase inicial de desenvolvimento das plantas. Todavia, antes da utilização em larga escala, são necessários estudos que verifiquem a eficácia dos mesmos, além de possíveis efeitos prejudiciais a qualidade fisiológica das sementes (TAIZ *et al.*, 2017).

A nutrição das plantas influencia na qualidade e rendimento dos grãos. A qualidade está associada ao valor nutritivo dos alimentos levando em consideração aspectos físico-químicos e as propriedades organolépticas, bem como a resistência dos grãos aos danos no armazenamento e transporte (FLOSS, 2011).

Levando em consideração os aspectos nutricionais, a carência de cobre é um fator limitante para a produtividade de grãos em grande parte dos solos no Brasil e no mundo. Deste modo, o fornecimento destes elementos via sementes pode ser uma técnica viável e de custo relativamente baixo para o suprimento inicial das plantas de milho, visando principalmente um melhor estabelecimento da cultura no campo (BROADLEY *et al.*, 2012).

O Cu é um elemento que faz parte de macro minerais, estando presente em proteínas e enzimas vitais ao metabolismo vegetal. Contudo, o excesso de Cu pode provocar um aumento na síntese de proteínas e enzimas envolvidas na defesa aos danos oxidativos, alteração no transporte de elétrons da fotossíntese e fotoinibição (CAMBROLLÉ *et al.*, 2015).

O estresse por Cu pode danificar a estrutura das raízes, reduzindo a absorção de água e nutrientes minerais do solo e, assim, diminuir o crescimento das plantas (BOCHICCHIO *et al.*, 2015; TAIZ *et al.* 2017).

A incorporação de nanopartículas de Cu em sementes pode proporcionar diversos benefícios para o desenvolvimento da planta. Por serem estáveis e inertes não sofrem efeitos das variações de pH dos solos e não são complexadas por demais moléculas presentes no solo, nas células e nos tecidos vegetais da planta (SEGATTO, 2015).

No entanto, são escassos os estudos sobre o efeito da aplicação de nanopartículas de Cu em sementes e seus efeitos físico-químicos e morfológicos dos grãos de híbridos de milho. Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi avaliar as características físico-químicas e morfológicas dos grãos de milho de

diferentes híbridos produzidos a partir de sementes com e sem tratamento usando nanopartículas de Cu.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Delineamento experimental

O planejamento experimental utilizado foi o delineamento de blocos casualizados (DBC) em esquema fatorial (5 x 2), com três repetições, totalizando 30 parcelas. No Fator A, foram alocados os híbridos de milho (HB 01: 22S18 TOP2[®]; HB 02: 20A30 VIPTERA[®]; HB 03: 20A80 TOP2[®]; HB 04: 22S18 TOP3[®] e HB 05: 20A20 TOP2[®]) e no Fator B, foram alocadas as aplicações de nanopartícula (sem: 0 mg de nanopartículas de Cu.L⁻¹ e com aplicação de nanopartículas de Cu: 900 mg de nanopartículas de Cu.L⁻¹). As amostras dos híbridos foram cedidas conforme estudo de Verdi (2019).

A dosagem de 900 mg de nanopartículas de Cu.L⁻¹ foi escolhida por apresentar melhor qualidade fisiológicas das sementes conforme descrito por Carlesso *et al.* (2020).

Os grãos de milho dos diferentes híbridos com e sem tratamento usando nanopartículas de Cu foram analisadas físico-quimicamente e morfológicamente. Para tanto as amostras de milho foram triturados em moinho (Cuisinart, modelo DCG-20BKN) e submetidos ao peneiramento manual em peneira de 42 mesh (Bertel) correspondendo a 355 µm, e armazenadas em embalagens de polietileno até o momento da análise.

2.2 Análises físico-químicas

As análises realizadas foram: pH; proteína; lipídios; fibra bruta; umidade; e minerais (Ca, P e Cu). As mesmas foram realizadas de acordo com a metodologia proposta por IAL (2008). Todas as análises físico-químicas foram realizadas em triplicata.

As leituras de pH foram realizadas por potenciometria utilizando um pHmetro digital de bancada (Hanna Instruments, modelo HI 2221).

A umidade foi determinada por secagem direta em estufa com recirculação de ar (Fanem, modelo 320-SE), a 105 °C por aproximadamente 4 h e/ou peso constante.

O teor proteico foi determinado pelo método de Kjeldahl, utilizando o sistema digestor-destilador (VELP – UDK 126A) (IAL, 2008), com o fator de conversão para o teor de proteína de 6,25.

A determinação do teor de lipídios foi realizada de acordo o método Ac 3-44 (AOCS, 2000), em aparelho de Soxhlet (Nova Ética, modelo NT340), durante 6 h, com éter de petróleo como líquido extrator.

A determinação de fibra bruta foi submetida à digestão com uma solução ácida e depois com uma solução básica fraca, seguida de filtragem em cadinho de Gooch, cujo resíduo orgânico resultante e queimado em mufla à temperatura de 550 °C (CAMPOS *et al.*, 2004).

Os minerais (Ca, P e Cu) foram determinados em espectrômetro de Absorção Atômica (Marca Savantaa® Modelo 6BC 3.11). Inicialmente, 3g de cada híbrido foram pré-incineradas, em seguida levados a ao forno Mufla a 550°C por 8 h. Posteriormente, as amostras foram diluídas em ácido nítrico (HNO₃, Merck® Pureza 65%) e analisadas em espectrofotômetro de Absorção Atômica (ASS equipado com corretor de background (modelo contrAA 700, Analytikjena). A técnica utilizada foi de chama, e análise de espectros por absorção. O gás acetileno (gás combustível/Ar Sintético – gás oxidante) foi utilizado com fluxo de 40-120 L/h.

2.3 Análise morfológica

As características morfológicas e de distribuição dos aglomerados de nanopartículas de Cu adsorvidos nas superfícies das sementes de milho e das nanopartículas incorporados no interior das sementes dos híbridos foram avaliados por meio da Microscopia de Varredura Eletrônica (MEV). Para tal foi empregado um microscópio (Zeiss, modelo EVO LS25). Para o recobrimento da superfície das amostras com ouro foi utilizado um metalizador Quorum, SC 7620. As micrografias foram obtidas na tensão de 30 KV. As amostras avaliadas foram os híbridos com aplicação de 900 mg.L⁻¹ de Cu.

2.4 Análise estatística

Os resultados coletados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) pelo teste F ($P \leq 0,05$). As diferenças entre médias foram comparadas pelo Teste de Tukey ($P \leq 0,05$) (Tabela 1).

Tabela 1 – Resumo da ANOVA do experimento para às variáveis respostas pH, proteína, lipídio, fibra bruta, umidade e minerais (Ca, P e Cu)

CAUSAS DE VARIAÇÃO	GL
Blocos	2
Híbridos (H)	4
Doses (D)	1
H x D	4
Erro	25
Total	29

Fonte: elaborado pelo autor.

O aplicativo computacional utilizado foi o SISVAR – Sistema de análise de variância para dados balanceados (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 pH

A análise de variância revelou efeito significativo ($P \leq 0,05$) da interação híbridos e as nanopartículas de Cu em relação à variável resposta pH (Tabela 2).

Tabela 2 – pH dos grãos de milho dos híbridos com e sem aplicação de nanopartículas de Cu

Híbridos	pH	
	Nanopartículas de Cu	
	Sem (0 mg.L ⁻¹)	Com (900 mg.L ⁻¹)
HB 01: 22S18 TOP2 [®]	6,68 aA	6,41 abB
HB 02: 20A30 VIPTERA3 [®]	6,60 abA	6,45 abB
HB 03: 20A80 TOP2 [®]	6,32 cB	6,50 aA
HB 04: 22S18 TOP3 [®]	6,46 bcA	6,33 bB
HB 05: 20A20 TOP2 [®]	6,55 abA	6,47 abA

Média	6,47
S (Desvio Padrão)	0,06
CV (Coeficiente de Variação) %	0,93

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna (híbridos) e maiúscula na linha (com e sem aplicação de não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)).

O pH dos híbridos sem aplicação de nanopartículas de Cu foi maior do que com aplicação, com exceção do HB 03. Assis *et al.*, (2014), obtiveram resultados de pH para 10 tipos de híbridos, com valores de pH entre 6,25 à 6,49, os quais descrevem que esta variável está associada principalmente com a concentração de proteína e minerais na planta, o que pode indiretamente contribuir para o entendimento de como a planta aloca N e minerais presentes no solo.

Segundo Jackson e Lombard (1993), o valor de pH é dependente, além da acidez total, das concentrações relativas de ácidos málico e tartárico e do grau de formação de sais ácidos, que, por sua vez, depende do conteúdo de potássio. Não foram encontradas referências que evidenciam a relação do pH com o micronutriente cobre.

3.2 Proteína

Verificou-se pela análise de variância um efeito significativo ($P \leq 0,05$) da interação híbridos com as nanopartículas de Cu em relação à proteína (Tabela 3).

Tabela 3 – Teor de proteína dos grãos de milho dos híbridos com e sem aplicação de nanopartículas de Cu

Híbridos	Proteína (%)	
	Nanopartículas de Cu	
	Sem (0 mg.L ⁻¹)	Com (900 mg.L ⁻¹)
HB 01: 22S18 TOP2 [®]	10,11 bB	9,67 bA
HB 02: 20A30 VIPTERA3 [®]	9,80 cA	8,92 dB
HB 03: 20A80 TOP2 [®]	10,93 aA	9,25 cB
HB 04: 22S18 TOP3 [®]	9,86 cB	11,30 aA
HB 05: 20A20 TOP2 [®]	10,17 bA	9,91 bB
Média	9,99	
S (Desvio Padrão)	0,09	
CV (Coeficiente de Variação) %	0,90	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna (híbridos) e maiúscula na linha (com e sem aplicação de nanopartículas de Cu) não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Sem aplicação de nanopartículas de Cu, o maior teor de proteínas foi observado para o HB 03: 20A80 TOP2®, já com a aplicação foi para o HB 04: 22S18 TOP3®. O milho é importante para as formulações de rações por ser de alto valor energético, onde o conteúdo proteico contribui para a conversão alimentar e reduz os custos de produção (é mais barato produzir milho do que outros grãos, como a soja).

Alterar a composição média do grão de milho, sem perder a produtividade, estabilidade e tolerância a doenças é um desafio que as empresas de sementes vêm enfrentando há anos e obtendo bons resultados. Os teores de proteína do milho estão entre 8,0% e 11,5% com média de 10,0%. De acordo com Mutlu *et al.* (2018), o teor de proteína dos milhos depende da variedade, as condições de crescimento e dos fatores ambientais de cultivo. Para Agama Acevedo (2016), o uso de fertilizantes e a concentração de nitrogênio (N) no solo também são fatores chave que afetam o teor de proteína dos grãos. Assis *et al.*, (2014) encontraram resultados de proteína para diferentes híbridos entre 8,06 a 9,10. As diferenças observadas quanto ao teor de proteína podem estar relacionadas a diferenças na eficiência de absorção do N disponível no solo para a planta, em que os diversos híbridos e variedades requerem quantidades diferentes de N, de acordo com seu potencial de produtividade. As condições de cultivo do presente estudo para ambos os híbridos e com e sem aplicação de nanopartículas de Cu foram idênticas. Desta forma, os diferentes teores de proteína encontrados podem ser devido aos diferentes híbridos. A aplicação de nanopartículas, em geral, não contribuiu para o aumento de proteína nos grãos de milho.

3.3 Lipídios

A análise de variância revelou efeito significativo ($P \leq 0,05$) da interação híbridos e nanopartículas de Cu em relação ao lipídio (Tabela 4).

Tabela 4 – Teor de lipídios dos grãos de milho dos híbridos com e sem aplicação de nanopartículas de Cu

Híbridos	Lipídios (%)	
	Nanopartículas de Cu	
	Sem (0 mg.L ⁻¹)	Com (900 mg.L ⁻¹)
HB 01: 22S18 TOP2®	4,49 bA	4,58 bA
HB 02: 20A30 VIPTERA3®	3,46 cA	3,19 dB

HB 03: 20A80 TOP2 [®]	5,32 aA	5,16 aB
HB 04: 22S18 TOP3 [®]	3,45 cB	3,62 cA
HB 05: 20A20 TOP2 [®]	4,48 bB	4,77 bA
Média	4,25	
S (Desvio Padrão)	0,24	
CV (Coeficiente de Variação) %	5,65	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna (híbridos) e maiúscula na linha (com e sem aplicação de nanopartículas de Cu) não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Sem e com aplicação de nanopartículas de Cu, o maior teor de lipídios foi encontrado no HB 03: 20A80 TOP2[®]. A diferença no teor de lipídios entre os híbridos pode ser devido a diferença genética entre eles (FLOSS, 2011). Dessa forma, verifica-se que o tratamento das sementes com nanopartículas de Cu não influenciou no teor de lipídios dos híbridos.

3.4 Fibra bruta

A análise de variância não revelou efeito significativo ($P > 0,05$) do fator aplicação de nanopartículas de Cu em relação à fibra bruta. A análise de variância revelou efeito significativo ($P \leq 0,05$) do fator híbridos de milho de Cu em relação à fibra bruta (Tabela 5).

Tabela 5 – Fibra bruta dos grãos de milho dos híbridos com e sem aplicação de nanopartículas de Cu

Aplicação de nanopartículas de Cu.L ⁻¹	Fibra Bruta (%)
Sem (0mg nanopartículas de Cu.L ⁻¹)	2,47 a
Com (900 mg nanopartículas de Cu.L ⁻¹)	2,50 a
Média	2,49
S (Desvio Padrão)	0,02
CV (Coeficiente de Variação) %	0,80
Híbridos de milho	Fibra Bruta (%)
HB 01: 22S18 TOP2 [®]	2,86 a
HB 02: 20A30 VIPTERA3 [®]	2,52 b
HB 03: 20A80 TOP2 [®]	2,11 c
HB 04: 22S18 TOP3 [®]	2,81 b
HB 05: 20A20 TOP2 [®]	2,13 c
Média	2,49
S (Desvio Padrão)	0,03
CV (Coeficiente de Variação) %	1,20

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Quanto aos híbridos e a quantidade de fibra bruta o que obteve resultados mais significativos foi o HB 01: 22S18 TOP2[®]

3.5 Umidade

Os resultados de umidade obtidos pela análise de variância apresentaram efeito significativo ($P \leq 0,05$) da interação híbridos e nanopartículas de Cu (Tabela 6).

Tabela 6 – Teor de umidade dos grãos de milho dos híbridos com e sem aplicação de nanopartículas de Cu

Híbridos	Umidade (%)	
	Nanopartículas de Cu	
	Sem (0 mg.L ⁻¹)	Com (900 mg.L ⁻¹)
HB 01: 22S18 TOP2®	10,15 dB	10,89 cA
HB 02: 20A30 VIPTERA3®	11,13 abB	11,30 aA
HB 03: 20A80 TOP2®	10,52 cA	10,55 dA
HB 04: 22S18 TOP3®	11,19 aB	11,28 aA
HB 05: 20A20 TOP2®	11,04 bA	11,07 bA
Média	10,91	
S	0,04	
CV (%)	0,36	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna (híbridos) e maiúscula na linha (com e sem aplicação de nanopartículas de Cu) não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Os maiores teores de umidade, com e sem aplicação das nanopartículas de Cu, foram observados nos híbridos HB 02: 20A30 VIPTERA3® e HB 04: 22S18 TOP3®. Os híbridos avaliados atenderam as especificações de umidade preconizados pela legislação vigente Instrução Normativa (IN) Nº 29, de 8 de junho de 2011 que é de 13%, em relação a umidade de armazenamento de grãos de milho (BRASIL, 2011).

3.6 Minerais

A análise de variância não revelou efeito significativo ($P > 0,05$) do fator aplicação de nanopartículas de Cu nas sementes em relação às variáveis Fósforo e

Cálcio. No entanto, a análise de variância mostrou efeito significativo ($P \leq 0,05$) do fator híbridos de milho em relação à variável Fósforo e não significativo ($P > 0,05$) em relação à variável Cálcio (Tabela 7).

Tabela 7 – Resultados de minerais (Fósforo e Cálcio) dos grãos de milho dos híbridos com e sem aplicação de nanopartículas de Cu

Aplicação de nanopartículas de Cu.L ⁻¹	Fósforo (%)	Cálcio (%)
Sem (0mg nanopartículas de Cu.L ⁻¹)	0,225 a	0,090 a
Com (900 mg nanopartículas de Cu.L ⁻¹)	0,227 a	0,090 a
Média	0,226	0,090
S (Desvio Padrão)	0,001	0,00
CV (Coeficiente de Variação) %	0,442	0,00
Híbridos de milho	Fósforo (%)	Cálcio (%)
HB 01: 22S18 TOP2 [®]	0,22 b	0,09 a
HB 02: 20A30 VIPTERA3 [®]	0,17 c	0,09 a
HB 03: 20A80 TOP2 [®]	0,24 ab	0,09 a
HB 04: 22S18 TOP3 [®]	0,27 a	0,09 a
HB 05: 20A20 TOP2 [®]	0,22 b	0,09 a
Média	2,49	0,09 a
S (Desvio Padrão)	0,03	0,00
CV (Coeficiente de Variação) %	1,20	0,00

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

3.7 Análise de Espectrometria de Absorção Atômica (AAS)

A Tabela 8 demonstra os valores de cobre nos grãos de milho com e sem tratamentos de nanopartículas de Cu.

Tabela 8 – Resultados de Cobre do experimento dos grãos de milho dos híbridos com e sem aplicação de nanopartículas de Cu por

Híbridos	Cobre (mg.100 ⁻¹)	
	Nanopartículas de Cu	
	Sem (0 mg.L ⁻¹)	Com (900 mg.L ⁻¹)
HB 01: 22S18 TOP2 [®]	0,1195 ab	0,1113 ab
HB 02: 20A30 VIPTERA3 [®]	0,0747 b	0,1285 ab
HB 03: 20A80 TOP2 [®]	0,1348 ab	0,1240 ab
HB 04: 22S18 TOP3 [®]	0,1095 ab	0,0995 ab
HB 05: 20A20 TOP2 [®]	0,0920 ab	0,1443 a

Média	0,1091
S	0,004
CV (%)	0,036

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os grãos dos híbridos HB 02: 20A30 VIPTERA3® e HB 05: 20A20 TOP2® com aplicação de nanopartículas apresentaram quantidade maior de cobre em relação as sem aplicação. Os resultados mostram que o processo de tratamento das sementes de milho com nanopartículas de cobre é eficiente. Com o aumento da concentração de nanopartículas no meio reacional há a tendência de aumentar a quantidade de cobre na estrutura do grão.

Os resultados comprovam a presença de nanoestruturas de cobre na superfície das sementes de milho após o tratamento de nanopartículas.

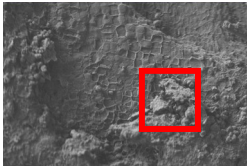
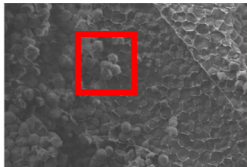
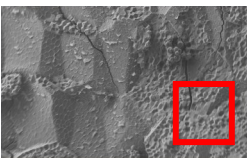
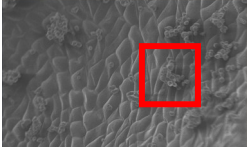
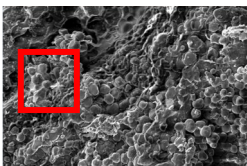
Conhecer a marcha de absorção de nutrientes de uma cultura permite inferir diretamente no processo de parcelamento de nutrientes no decorrer do ciclo da vida (CARMO *et al.*, 2012). De acordo ainda com os autores supracitados, compreendem-se por acúmulo de nutrientes as quantidades destes na matéria seca de cada parte da planta e por absorção de nutrientes ocorridos nas diferentes partes da planta. Os nutrientes são absorvidos via radicular ou foliar, e a escolha pelo fornecimento dos nutrientes está relacionada com a real necessidade de cada planta.

Existem alguns fatores que afetam a nutrição da planta, como a má aeração do solo, deficiência hídrica e disponibilidade de alguns nutrientes (BRITO *et al.*, 2013). A má aeração ocasional do solo pode provocar aumento de ferro e manganês no solo, já a deficiência hídrica pode prejudicar a absorção de potássio (MOLINA *et al.*, 2013). Cada espécie retira do solo a quantidade requerida dos nutrientes necessários para o desenvolvimento sadio da cultura. Esses teores podem variar conforme o cultivar e também com o grau de competição existente (BATH *et al.*, 2012). Variações nos fatores ambientais como temperatura e umidade do solo podem afetar consideravelmente o conteúdo de nutrientes disponíveis nas folhas ou qualquer outro órgão da planta.

3.8 Análise morfológica

A Tabela 9 apresenta as imagens topográficas da superfície dos híbridos com aplicação de nanopartículas de Cu na dose de 900 mg.L⁻¹.

Tabela 9 – Micrografia Eletrônica de Varredura de amostras de híbridos de milho com aplicação de 900 mg.L⁻¹ com diferentes ampliação

Híbridos	MEV	Ampliação
HB 01: 22S18 TOP2 [®]		3 ηm
HB 02: 20A30 VIPTERA3 [®]		3 ηm
HB 03: 20A80 TOP2 [®]		2 ηm
HB 04: 22S18 TOP3 [®]		4 ηm
HB 05: 20A20 TOP2 [®]		1 ηm

Fonte: elaborado pelo autor.

A Tabela 9 mostra que os aglomerados de nanopartículas de cobre estão presentes nas superfícies e nas bordas das células constituintes no pericarpo. Os maiores clusters são formados nas bordas das células e os menores nas superfícies das células.

Os resultados evidenciam que as nanopartículas de óxido de cobre são adsorvidas pelas células fibrosas do pericarpo e formam aglomerados nano estruturados na superfície, preferencialmente ancoradas nas interfaces das células. Por terem dimensões nanométricas formam aglomerados que poderão servir de reservas do nanonutriente para a semente nos estágios de germinação e seguintes.

As nanopartículas de cobre são adsorvidas nas células fibrosas no pericarpo da semente e ancoradas na forma de aglomerado preferencialmente nas bordas das células. É notória a formação de aglomerados nas cavidades das interfaces das células e constituídos por nanoestruturas de Cu com dimensões inferiores às das cavidades. Estas características favorecem a migração das nanoestruturas de cobre para o interior do pericarpo do grão de milho e transformam os aglomerados em reservas viáveis de cobre para a semente, com a disponibilização de cobre ao longo das suas fases de desenvolvimento.

Assim, é possível prever que ao longo da germinação da semente e das fases de crescimento e produção da planta, ocorrerá a migração de nanopartículas de cobre dos aglomerados para o interior da semente, considerando que os aglomerados são constituídos por partículas de cobre no endosperma das sementes com dimensões da ordem de 1 a 4 nm.

Os aglomerados de nanoestruturas de cobre na superfície das sementes de milho, além de servirem de reservas do nanonutrientes, podem contribuir com a proteção antimicrobiana da semente, em especial com a proteção antifúngica.

Os resultados de MEV e de minerais comprovam a presença de nanoestruturas de cobre na superfície das sementes de milho após o tratamento em soluções com concentração de 900 mg.L⁻¹.

Correlacionando com as imagens de MEV para as sementes tratadas em meio reacional com 900 mg.L⁻¹ concentrações de nanopartículas de cobre mostram que células internas das sementes de milho mantêm a sua integridade estrutural.

Esta característica é um forte indicativo de que a presença das nanopartículas de cobre.

4 CONCLUSÃO

Os HB 02: 20A30 VIPTERA3[®] e HB 04: 22S18 TOP3[®] demonstram melhores desempenhos da qualidade físico-química com relação aos demais híbridos, resultado expressivo em decorrência da morfofisiologia do tipo de grão que tem particularidades em relação ao genótipo. Sendo um grão semiduro, com maior espessura da parede celular, diminuindo a quantidade lúmen celular, em consequência diminuição do amido. Os mesmos híbridos relacionando-os com testes anteriormente analisados, expressa indicadores de qualidade fisiológica em relação a utilização de nanopartículas de cobre, que influenciaram diretamente na germinação e vigor (velocidade de germinação). HB 02: 20A30 VIPTERA3[®], expressou através das análises de espectrofotometria de absorção atômica (AAS), teores de cobre em maior percentual concentrados, resultados que podem ser percebidos também através das imagens da Micrografia Eletrônica de Varredura (MEV).

REFERÊNCIAS

ASSIS, F. B. de *et al.* Caracterização agrônômica e bromatológica de híbridos de milho para ensilagem. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 6, p. 2869-2882, nov./dez. 2014.

BHATT, P, S.; YAKADRI, M.; SIVALAKSHMI, Y. Influence of varying plant densities and nitrogen levels on yield attributes and yield of sweet corn. **International Journal of Bio-Resource and Stress Management**, v. 3, p.169-172, 2012.

BOCHICCHIO, R. *et al.* Root architecture and morphometric analysis of *Arabidopsis thaliana* grown in Cd/Cu/Zn-gradient agar dishes: A new screening technique for studying plant response to metals. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 91, p. 20-27, jun. 2015.

BRITO M. E. B.; FILHO G. D. A.; WANDERLEY J. A. C.; MELO A. S.; COSTA F. B. DA; FERREIRA M. G. P. Crescimento, fisiologia e produção do milho doce sob estresse hídrico. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 29, n. 5, p. 1244-1254, 2013.

BROADLEY, M. *et al.* **Function of nutrients**: micronutrients. In: MARSCHNER, P. Marschner's mineral nutrition of higher plants. 3. ed. Londres: Academic Press, p. 191-248, 2012.

CALDARELLI, C. E.; BACCHI, M. R. P. Fatores de influência no preço do milho no Brasil. **Nova Economia**, v. 22, n. 1, jul. 2012.

CAMBROLLÉ, J. *et al.* Evaluating wild grapevine tolerance to copper toxicity. **Chemosphere**, v. 120, p. 171-178, feb. 2015.

CARDOSO, A. A. S. de. *et al.* Influência da acidez e do teor de fósforo do solo no crescimento inicial do mogno, **Pesquisa florestal brasileira**, Colombo, v. 35, n. 81, p. 1-10, jan./mar. 2015.

CARMO, M. S.; CRUZ, S. C. S., SOUZA, E. J.; CAMPOS, L. F. C.; MACHADO, C.G. Doses e fontes de nitrogênio no desenvolvimento e produtividade da cultura de milho doce (*Zea mays convar. Saccharata var. Rugosa*). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28: 223-231, 2012.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes**: ciência, tecnologia e produção. 4 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000.

DIONELLO R. G. *et al.* Temperatura do Ar na Secagem Estacionária e Tempo de Armazenamento na Qualidade de Grãos de Milho. **Revista Brasileira de Agronomia**, v. 6, n. 2, p. 137-143, 2000.

FERNANDES, F. C. S. *et al.* Doses, eficiência e uso de nitrogênio por seis cultivares de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 2, p. 195-204, 2005.

FERRARINI, H. Determinação de teores nutricionais do milho por espectroscopia no infravermelho e calibração multivariada. **Dissertação**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2004.

FERREIRA, D. F. **Sisvar**: um sistema computacional de análise estatística. Ciência e Agrotecnologia. v. 35, n. 6, p.1039-1042, 2011.

FLOSS, E. L. **Fisiologia das plantas cultivadas**: o estudo do que está por trás do que se vê. Passo Fundo: Editora Universitária, 2011.

IAL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Intituto Adolfo Lutz, 2008.

JACKSON, D. I.; LOMBARD, P. B. Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality – a review. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 44, p. 409-430, 1993.

LYNCH, J.P.; O'KIELY, P.; WATERS, S.M., DOYLE, E.M. Conservation 742 characteristics of corn ears and stover ensiled with the addition of MTD-1, 30114, 743 or 11A44. **Journal of Dairy Science, Savoy**, v. 95, n. 9, p. 2070-2080, 2012.

- MINOLTA. **Precise color communication**: color control from perception to Instrumentation. Japan: Minolta Co. Ltd., 2007.
- MOLINA, M. *et al.* Trace element uptake dynamics for maize (*Zea mays* L.) grown under field conditions. **Plant and Soil**, v. 370, n. 1-2, p. 471-483. 2013.
- MUTLU, C. *et al.* Physicochemical, Thermal, and Sensory Properties of Blue Corn (*Zea mays* L.). **Food Chemistry**, v. 83, p. 1, p. 53-59, 2018.
- NATALE, W. *et al.* Adubação nitrogenada e potássica no estado nutricional de mudas de maracujazeiro-amarelo **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 28, n. 2, p. 187-192, Apr./June. 2006.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of Poultry**. 9.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1994. 155p.
- PINTO, A. P.; *et al.* Avaliação de doze cultivares de milho (*Zea mays* L.) para silagem. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 1071-1078, 2010.
- PUZZI, D. **Armazenamento e abastecimento de grãos**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1986.
- QUEIROZ, O. C. M. *et al.* 783 Effect of adding a mycotoxin-sequestering agent on milk aflatoxin M1 784 concentration and the performance and immune response of dairy cattle fed and 785 aflatoxin B1-contaminated diet. **Journal of Dairy Science**, v.95, n.10, p.5901–5908, 786 2012.
- ROSTAGNO, H. S. *et al.* **Tabelas brasileiras para aves e suínos**. Composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2000.
- SANDHU, K. S.; SINGH, N.; MALHI, N. S. Some properties of corn grains and their flours I: physicochemical, functional and chapati-making properties of flours. **Food Chemistry**, v. 101, n. 3, p. 938-946, 2007.
- SEGATTO, C. Nanopartículas de óxido de zinco aplicadas no tratamento de sementes da cultura do milho (*Zea mays* L.). Chapecó, 2015. 111f. **Dissertação** (Mestrado em Tecnologia e Gestão da Inovação). Universidade Comunitária da Região de Chapecó. 2015.
- SOMAVAT, P. *et al.* Coproduct yield comparisons of purple, blue and yellow dent corn for various milling processes. **Industrial Crops and Products**, v. 87, n. 1, p. 266-272, 2006.
- TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. Artmed, 6. ed. Porto Alegre - RS, 2017.
- VALADARES FILHO, S.C.; MAGALHÃES, K.A.; ROCHA, J.V.R.R. **Tabelas Brasileiras de Composição de Alimentos para Bovinos**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2010.

VELHO, J. P. *et al.* Composição bromatológica de silagens de milho produzidas com diferentes densidades de compactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.5, p.1532-1538, 2007.

VERDI, N. L. Aspectos agronômicos em híbridos de milho submetidos ao tratamento de sementes com nanopartículas de cobre. Chapecó, 2019. 82f. **Dissertação** (Mestrado em Tecnologia e Gestão da Inovação). Universidade Comunitária da Região de Chapecó. 2019.

ZOPOLLATO, M.; SARTURI, J. O. Optimization of the animal production system based on the selection of corn cultivars for silage. *In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION*, 1., São Pedro, 2009. **Proceedings...** Piracicaba: FEALQ, p.73-90, 2009.

6 CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Visto as projeções mundiais de consumo do milho, torna-se de extrema importância o estudo de novas oportunidades que possibilitem incrementos tanto qualitativos quanto quantitativos para a cultura, neste contexto, considera-se um desafio a definição de novas tecnologias voltadas para aumento de produtividade, qualidade sanitária e melhoramento nutricional de alimentos. O uso da nanotecnologia agrícola apesar de ter se desenvolvido nos últimos tempos, na literatura a escassez de estudos é notória, principalmente com relação a nutrientes específicos como o cobre (Cu). Assim, percebe-se a necessidade e oportunidade de estudos avançados no tema visando aprimorar e aumentar a eficiência constatada cientificamente.

Os resultados obtidos neste estudo, demonstram a importância do estudo da nanotecnologia aplicada a agricultura para o melhoramento de condições qualitativas.

A partir dos resultados apresentados ao longo do trabalho, pode-se concluir que os objetivos propostos foram plenamente atingidos.

O melhor desempenho germinativo de sementes tratadas com as nanopartículas de cobre pode ser considerado, um benefício pelo tratamento de

sementes, em função da concentração e tempo. Quanto as doses de nanopartículas de cobre, a dose que apresentou melhor desempenho foi a de 900 mg.L⁻¹. Pode-se notar que não houve comprometimento nem toxicidade, quanto aos parâmetros fisiológicos.

Os híbridos que possuem melhor empalhamento e tolerância a pragas e doenças, sendo HB 02: 20A30 VIPTERA3[®] e HB 05: 20A20 TOP2[®] com adição de nanopartículas de cobre, destacaram-se positivamente quanto a qualidade fisiológica e microbiológica. Pode-se ressaltar que tais achados relacionam-se com a participação do cobre nos processos de indução de resistência e nos efeitos de proteção, proporcionando efeitos danosos do íon no interior dos microrganismos nocivos, tendo papel no metabolismo de defesa das plantas.

O teor dos nutrientes foi influenciado de forma positiva pelas nanopartículas de cobre. Quanto as características físico-químicas, os híbridos supracitados demonstraram os melhores resultados quanto a quantidade de nutrientes específicos, e ainda com relação as análises morfológicas demonstram a presença em maior relevância nestes híbridos com aplicação de nanopartículas de cobre.

Sugere-se para trabalhos futuros:

- Analisar diferentes doses e o potencial fitotóxico através de testes específicos;
- Avaliar as sementes pós produção, e seu desempenho em produtos alimentícios.

