



IVAN DAVID BRICEÑO PINZÓN

**SEMENTES DE ARROZ INFESTADAS COM
GORGULHOS DO GÊNERO *SITOPHILUS*: ANÁLISES
FISIOLÓGICAS, DE IMAGENS E COMPOSIÇÃO CENTESIMAL**

**LAVRAS-MG
2023**

IVAN DAVID BRICEÑO PINZÓN

**SEMENTES DE ARROZ INFESTADAS COM GORGULHOS DO GÊNERO
SITOPHILUS: ANÁLISES FISIOLÓGICAS, DE IMAGENS E COMPOSIÇÃO
CENTESIMAL.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da UFLA, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Raquel Maria de Oliveira Pires
Orientadora
Prof. Dr. Geraldo Andrade Carvalho
Coorientador

**LAVRAS - MG
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Pinzon, Ivan David Briceño.

Sementes de arroz infestadas com gorgulhos do gênero
Sitophilus: análises fisiológicas, de imagens e composição
centesimal. / Ivan David Briceño Pinzon. - 2023.
97 p. : il.

Orientador(a): Raquel Maria de Oliveira Pires.

Coorientador(a): Geraldo Andrade Carvalho.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. Análise de Imagem. 2. Raios X. 3. Sementes arroz. I. Pires,
Raquel Maria de Oliveira. II. Carvalho, Geraldo Andrade. III.
Título.

IVAN DAVID BRICEÑO PINZÓN

**SEMENTES DE ARROZ INFESTADAS COM GORGULHOS DO GÊNERO
SITOPHILUS: ANÁLISES FISIOLÓGICAS, DE IMAGENS E COMPOSIÇÃO
CENTESIMAL.**

**RICE SEEDS INFESTED WITH WEEKLES OF THE GENUS *SITOPHILUS*:
PHYSIOLOGICAL ANALYSIS, IMAGING AND PROXIMATE COMPOSITION.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da UFLA, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 19 de abril de 2023

Dra. Raquel Maria de Oliveira Pires	UFLA
Dra. Flavia Barbosa Silva Botelho	UFLA
Dra. Marcela Carlota Nery	UFVJM

Profa. Dra. Raquel Maria de Oliveira Pires
Orientadora

Prof. Dr. Geraldo Andrade Carvalho
Coorientador

**LAVRAS - MG
2023**

Ao meus pais Denis e Epimaco, minhas irmãs Adriana e Yeraldin e à minha namorada Mayra pelo amor, carinho e apoio em todas as etapas da minha vida, por sempre estar aí na hora, no momento e no local preciso.

À minha sobrinha Isabella, pelas tardes de brincadeiras e jogos, muita saudade.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Denis e Epimaco por ser sempre ensinar-me tudo o que eu sei, por sempre brindar-me como que precisei na minha formação e na minha vida sou o que sou por vocês.

À minha namorada Mayra, pelo seu amor, apoio e companhia para comigo, por todos os momentos que a gente tem compartilhado juntos, e por muitos mais a teu lado.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), e ao Departamento de Agricultura (DAG/ESAL/UFLA) pela oportunidade para realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), pelo financiamento da bolsa de estudos - Código de Financiamento 001.

Ao Programa de Alianzas para la Educación y la Capacitación (PAEC) e a Organização dos Estados Americanos (OEA) - Grupo Coimbra de Universidade Brasileira (GCUB), pela oportunidade oferecida para a realização de meus estudos de mestrado.

À minha orientadora professora Dra. Raquel Maria de Oliveira Pires por toda a orientação, disponibilidade, oportunidade e amizade oferecidas que me tornaram um profissional idôneo com capacidades técnicas e humanas na área de sementes.

Ao meu coorientador, professor Dr. Geraldo Andrade Carvalho, pela disponibilidade, oportunidade, amizade e aprendizagem oferecidas durante o desenvolvimento da pesquisa e o fortalecimento de minhas capacidades pessoais. Uma grande parceria com o setor da Entomologia da UFLA.

A todos os professores e funcionários do Laboratório de Central de Pesquisa em Sementes (LAS) da UFLA, meus mais sinceros agradecimentos pela acolhida e colaboração recebida durante meu tempo no mestrado.

À Leia no Laboratório de Ecotoxicologia e Manejo Integrado de Pragas (LEMIP), ao Geraldo e Jackeline no LAS apelo grande apoio e amizade, vocês arrasaram demais.

Ao Grupo de Pesquisa em Melhoramento Genético de Arroz de Terras Altas – MelhorArroz pelo fornecimento das cultivares de arroz, ao Laboratório Central de Pesquisa Animal do Departamento de Zootecnia (DZO), ao Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análises Ultraestrutural no Centro Multiusuário do Departamento de Fitopatologia, pelo apoio e aprendizagem no desenvolvimento da dissertação.

A todos aqueles que me apoiaram durante minha chegada, estabelecimento e tempo aqui no Brasil, sempre ficarei com saudades e boas lembranças. Muito obrigado!

EPÍGRAFE

“... Aquí se cierra el poema de la reproducción de las plantas.”

Desde la alegre aparición de las hermosas flores; pasando por las volubles y mágicas bodas con el viento, con los insectos y con el agua, con la ayuda de los jugos más preciosos y más dulces, queda creada la semilla, portadora de una nueva vida, primer estado de un nuevo ser.

En su concepción hay misterio; en su nacimiento, prodigio; en su historia hay fábula y mito. Una larga y extraordinaria fábula aparece, en efecto, lo que hemos referido, y un símbolo de metamorfosis de la belleza de la flor en la opulencia del fruto. De nuestros nuevos conocimientos emana un encanto sutil, agudo, como ciertos perfumes de flores extrañas.

La experiencia ha venido a atracar en los ultraterrenos de lo mágico.

Orfeo arranca nuevos acordes a su lira.

(Elio Baldacci)

RESUMO

O exame de sementes infestadas com insetos pragas pode ser demorado, cansativo e destrutivo, além de inviabilizar a semente para possíveis testes posteriores. Metodologias baseadas no uso de raios X, têm se mostrado precisas, eficientes e rápidas, permitindo a inspeção da integridade dos tecidos internos sem a necessidade de seccionar a semente. O objetivo no presente trabalho foi avaliar a infestação de sementes de arroz com *Sitophilus* sp. (Coleoptera: Curculionidae) por meio de imagens radiográficas, assim como a qualidade fisiológica e composição centesimal das sementes. Para isso, um experimento foi realizado para detectar os estágios de desenvolvimento de *Sitophilus* spp. e identificar os danos causados pelo inseto por meio de imagens radiográficas em sementes de arroz. Sementes da cultivar CMG-1590 foram infestadas e as avaliações foram baseadas nos diferentes dias após a infestação. Diferenças estatísticas foram observadas nas porcentagens de infestação detectada pelos raios X nos tratamentos avaliados, além disso, o teste permitiu identificar os estágios de desenvolvimento de ovo, larva e adulto. No segundo experimento, o objetivo foi analisar a qualidade fisiológica e a composição centesimal de sementes de arroz submetidas a diferentes níveis de infestação com *Sitophilus* spp., detectado pelas imagens radiográficas. Diferenças estatísticas ($p < 0,05$) nas análises de qualidade fisiológica foram detectadas entre os níveis de infestação avaliados. A porcentagem de germinação, primeira contagem e emergência de plântulas diminuíram conforme se aumentou o nível de infestação; no entanto, constatou-se maior condutividade elétrica. Na composição centesimal das sementes não foram observadas diferenças estatísticas ($p > 0,05$) entre os níveis de infestação para as porcentagens de amido, proteína bruta, estrato etéreo e fibra bruta. No terceiro experimento foram realizadas análises de imagens radiográficas de sementes infestadas com *Sitophilus* spp. das cultivares de arroz C1 (P85-15-CNA), C2 (CMG-1590) e C3 (OBS 1819). Por meio do software ImageJ® foram extraídas informações de área, perímetro, densidade relativa e integrada, assim, como dos perfis de distribuição de cinza, onde diferenças estatísticas foram observadas entre as sementes com presença dos estágios de desenvolvimento do gorgulho e as sementes sadias, as quais apresentaram os valores mais altos; enquanto, sementes com presença de adulto e vazias obtiveram os valores mais baixos desses parâmetros.

Palavras-chaves: Gorgulho-do-arroz. *Oryza sativa*. Raios X. Armazenamento. Danos em sementes.

ABSTRACT

The examination of seeds infested with insect pests can be time consuming, tiring and destructive, in addition to making the seed unfeasible for possible later testicles. Controlled methodologies in the use of X-rays have proven to be accurate, efficient and fast, allowing the verification of the integrity of the internal tissues without the need to section the seed. The objective of this work was to evaluate the infestation of rice seeds with *Sitophilus* sp. (Coleoptera: Curculionidae) through radiographic images, as well as the physiological quality and proximate composition of the seeds. For this, an experiment was carried out to detect the stages of development of *Sitophilus* spp. and identify the damage caused by the insect through radiographic images in rice seeds. Seeds of the CMG-1590 cultivar were infested and the assessments were based on the different days after infestation. Statistical differences were observed in the percentages of infestation detected by X-rays in the evaluated treatments, in addition, the test allowed identifying the stages of development of egg, larva and adult. In the second experiment, the objective was to analyze the physiological quality and proximate composition of rice seeds subjected to different levels of infestation with *Sitophilus* spp., detected by radiographic images. Statistical differences ($p < 0.05$) in the analyzes of physiological quality were detected between the evaluated infestation levels. The percentage of germination, first count and seedling emergence decreased as the level of infestation increased; however, a higher electrical conductivity was found. In the proximate composition of the seeds, no statistical differences ($p > 0.05$) were observed between the infestation levels for the percentages of starch, crude protein, ether stratum and crude fiber. In the third experiment, analyzes of radiographic images of seeds infested with *Sitophilus* spp. of rice cultivars C1 (P85-15-CNA), C2 (CMG-1590) and C3 (OBS 1819) were carried out. Through the ImageJ® software, information on the area, perimeter, relative and integrated density was extracted, as well as on the gray distribution profiles, where statistical differences were observed between the seeds with the presence of the weevil development stages and the healthy seeds, seeds with adult and empty seeds obtained the lowest values of these parameters.

Keywords: Rice weevil. *Oryza sativa*. X-rays. Storage. Seed damage.

LISTA DE FIGURAS

Artigo 1

Figura 1 – Detecção dos estágios de desenvolvimento e caracterização dos danos de *Sitophilus oryzae* em sementes de arroz por meio do teste tradicional de exame de sementes infestadas e de raios X: **A)** Semente sadia; **B) Ovo** (Ov); **C) Larva** (La), túnel (Tú); **D) Adulto** (Ad); **E) Dano** gerado pelo inseto (Da); **F) Vazia** (Vz). Estrutura da semente: endosperma (En), ráquila (Ra), lema (Le), pálea (Pá). Partes do adulto dentro da semente: abdômen (Ab), rostro (Rl), fêmur (Fe), tíbia (Tí). 40

Figura 2 – Gráfico *Box plot* para a porcentagem de infestação de *Sitophilus oryzae* detectado pelos raios X em sementes de arroz nos tempos de avaliação. Os gráficos de caixa mostram a mediana mais os quartis superiores e inferiores da porcentagem de infestação para cada tratamento. Os valores mínimos e máximos são indicados pelos limites inferior e superior. Tratamentos avaliados aos 5 (T1), 10 (T2), 20 (T3), 30 (T4) e 40 (T5) dias após a infestação. 41

Figura 3 – Porcentagem de infestação de *Sitophilus oryzae* em sementes de arroz detectada pelas imagens radiográficas nos tratamentos avaliados. Letras diferentes acima das colunas, para cada avaliação, indicam diferenças significativas pelo teste do Tukey ($p < 0,05$). As barras representam o erro padrão. Tratamentos avaliados aos 5 (T1), 10 (T2), 20 (T3), 30 (T4) e 40 (T5) dias após a infestação. 42

Artigo 2

Figure 1 – Stages of development and characterization of damage of *Sitophilus* sp. in rice seeds, by traditional test and radiographic images: Healthy seed (A); Egg (B); (C) Larvae (La); (D) Pupae (Pp); (E) Adult (Ad); (F) Insect damage (Da); (G) Empty seed (Es), Exit location (El). seed structure: Embryon (Em); Endosperm (En), Rachilla (Ra), Lemma (Le), and Palea (Pa). Parts of the adult inside the seed: Snout (Sn), abdomen (ab) and thorax (Th).....69

Figure 2 – Average percentage of infestation and seeds with egg, larvae, pupae e adult of *Sitophilus* sp., detected by radiographic images for rice seeds. Also presented are the average percentages of seeds with physical damage generated by the insect (only damage and empty seeds).....70

Figure 3 – Box plot diagram for the percentage of seeds detected with the developmental stages of *Sitophilus* sp., by radiographic images in rice seeds. Box plots show the median plus lower and upper quartiles of detection percentage for different stages. The

minimum and maximum values are indicated by the lower and upper limits. The black dots are the outliers.....70

Figura 4 – Germination (A), First count (B), Electrical conductivity (C), Emergence (D), Emergence speed index (E) of infestation treatments with *Sitophilus* sp. for the rice cultivar BRS Esmeralda. Different letters above the columns, for each assessment, indicate significant differences by Tukey's test ($p < 0.05$). The bars represent the standard error. Treatments: T0 control, healthy seeds with 0% infestation; T1– 2% weevil infested seeds; T2– 3% weevil infested seeds and T3– 5% weevil infested seeds.....71

Figura 5 – Mean percentages of variables for rice seeds by chemical analysis: Protein (A), Starch (B), Crude fiber (C) and Ethereal extract (D), for treatments with different levels of infestation with *Sitophilus* sp. Different letters above the columns, for each assessment, indicate significant differences by Tukey's test ($p < 0.05$). Bars represent standard error. Treatments: T0 – control, healthy seeds with 0% infestation; T1– 2% weevil infested seeds: T2, 3% weevil infested seeds and T3 – 5% weevil infested seeds.....71

Artigo 3

Figura 1 – Imagens radiográficas e a representação 3D de sementes de arroz infestadas ou não com *Sitophilus oryzae*. **A)** semente sadia; **B)** semente com ovo; **C)** semente com larva; **D)** semente com adulto; **E)** semente com dano e **F)** semente vazia. 80

Figura 2 – **(A)** Infestação de *Sitophilus oryzae* nos cultivares avaliados, detectada pelo teste de raios X. Letras diferentes acima das colunas, para cada cultivar, indicam diferenças significativas pelo teste do Tukey ($p < 0,05$). As barras representam o erro padrão. Cultivares: C1 (P85-15-CNA); C2 (CMG-1590); C3 (OBS 1819)..... 81

Figura 3 – *Plot* de perfis de cinza (cinza.pixel⁻¹) para imagens radiográficas das cultivares de arroz infestadas com *Sitophilus oryzae* analisadas pelo software ImageJ®, em imagens radiográficas de 8 bits. **A)** Cultivar 1, P85-15-CNA; **B)** Cultivar 2, CMG-1590; **C)** Cultivar 3, OBS 1819..... 85

Figura 4 – Multi plot de comparação de imagens radiográficas de sementes com dano leve e sementes com ovo de *Sitophilus oryzae* confrontadas por áreas sadias da semente. Cultivar 1, P85-15-CNA: **A)** semente com dano, **B)** sementes com ovo. Cultivar 2, CMG-1590: **C)** semente com dano, **D)** semente com ovo. Cultivar 3, OBS 1819: **E)** semente com dano, **F)** semente com ovo. Os quadros vermelhos nas imagens radiográficas, correspondem às áreas de interesse analisadas (0,5 mm x 0,5mm). 89

Figura 5 – Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de sementes de arroz infestadas com *Sitophilus oryzae*. **A)** Ovo; **B)** Larva menor; **C)** Galeria da larva; **D)** Adulto; **E)** Dano menor; **F)** Semente vazia. 89

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

Tabela 1 – Diferenças da porcentagem média \pm EP na detecção de estágios de desenvolvimento de *Sitophilus oryzae* em sementes de arroz e a identificação de sementes com danos ou vazias após infestação do gorgulho..... 43

Tabela 2 – Médias \pm EP para as características físicas das sementes de arroz, obtidas para as cultivares: 1 (P85-15-CNA), 2 (CMG-1590) e 3(OBS 1819) infestadas pelo *Sitophilus oryzae* analisadas por meio de imagens radiográficas obtidas pelo software ImageJ®. 86

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	16
1 INTRODUÇÃO	17
2 REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1 Importância econômica e a qualidade de sementes de arroz.....	19
2.2 Principais insetos pragas do arroz armazenado e os efeitos na qualidade das sementes.....	20
2.3 Uso de imagens radiográficas e ferramentas de análises digitais na detecção de insetos pragas em sementes de arroz.....	23
2.4 Análises de composição química na avaliação de qualidade de sementes de arroz infestadas.....	24
REFERÊNCIAS	27
SEGUNDA PARTE – ARTIGOS	33
ARTIGO 1 – Estágios de desenvolvimento de <i>Sitophilus oryzae</i> (L.) (Coleoptera: Curculionidae) em sementes de arroz avaliados por meio de imagens radiográficas.	34
1 INTRODUÇÃO	36
2 MATERIAL E MÉTODOS	37
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4 CONCLUSÕES	46
REFERÊNCIAS	47
ARTIGO 2 – Qualidade fisiológica e análises químicas de sementes de arroz infestadas por <i>Sitophilus</i> sp. (Coleoptera: Curculionidae)	51
Introduction	54
Material and methods	56
Resultado e discussão	58
Conclusions	64
References	65
ARTIGO 3 – Análises de imagens radiográficas em sementes de arroz infestas pelo gorgulho-do-arroz	75
1 INTRODUÇÃO	77
2 MATERIAL E MÉTODOS	78
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	80

4 CONCLUSÕES	93
REFERÊNCIAS	94

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado um dos grandes produtores de alimentos no mundo e exporta produtos agropecuários para mais de 150 países. Além disso, com o aumento da população mundial e o incremento na demanda por produtos primários, o Brasil tem se tornado um dos principais fornecedores de alimentos, sendo cada vez maiores os investimentos em tecnologia e pesquisa para manter os patamares de produtividade (SAATH; FACHINELLO, 2018).

Para o Brasil, as estimativas feitas em relação à produção de grãos para o ano de 2032, apresentam acréscimo de 36,6%, em relação aos 271,2 milhões de toneladas de grãos na safra 2021/2022 (MAPA, 2022). Deste montante, mais de 10 milhões de toneladas são de arroz sendo os principais estados produtores o Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Tocantins, Mato Grosso e Maranhão que somados contribuem com 92% da produção total da cultura (CONAB, 2023a, 2023b). Tais números, posicionam o Brasil como o 1º produtor e consumidor de arroz fora da Ásia, o que faz deste cereal parte importante na dieta alimentar do 95% da população brasileira (COÊLHO, 2021).

O uso de sementes certificadas, é a garantia de sementes com elevado padrão de qualidade que atendem aos atributos físicos, sanitários, fisiológicos e genéticos, além de proporcionar uma lavoura uniforme, vigorosa e sem falhas no estande, permitindo o acesso a avanços genéticos com garantia de desempenho e adaptabilidade em diversas regiões que consequentemente, resultam em altas produtividades (TAVARES et al., 2016).

Durante o processo de produção de sementes, seja na fase de campo, colheita, e processamento pós-colheita, existem fatores que influenciam a qualidade dessas sementes produzidas. (FRANCO; MAGALÃES JUNIOR, 2011). Para tal, um rigoroso controle de qualidade que assegure altos padrões de germinação, isenção de patógenos e sementes de plantas daninhas, pureza física e varietal do lote de sementes, se faz necessário (ZONTA et al., 2022).

Na etapa do armazenamento de sementes de arroz, são vários os fatores que podem afetar a sua qualidade, como umidade e temperatura do local, teor de água das sementes, manuseio errado de estoques e embalagens inadequadas (ZUCHI; PERIPOLLI, 2012; MARQUES et al., 2014; SCARIOT et al., 2021). O devido controle de tais fatores, impedirão a contaminação com insetos-praga, a exemplo de besouros da espécie *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Bostrychidae) e os gorgulhos *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763) e *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae), considerados

como as pragas primárias de mais difícil controle e que geram prejuízos à qualidade dos lotes de semente (LORINI et al., 2015).

Os danos ocasionados por *S. oryzae* em sementes de arroz, são resultado de seu hábito alimentar, onde por meio de suas mandíbulas perfuram a pálea e a lema para consumir o endosperma e embrião da semente, e os relacionados à fase reprodutiva, em que a fêmea faz um orifício de oviposição e a larva formará galerias conforme se alimenta e se desenvolve, até a atingir o estágio de pupa e a emergência do inseto adulto (RITA DEVI et al., 2017). Com a infestação do gorgulho, a semente perde massa, ocorre aumento na umidade da semente, seguido pela formação de diferentes pontos no local de armazenamento com temperatura elevada, o que promove a contaminação do lote e proliferação de fungos (USDA, 2006). Em sementes de arroz, isso aumenta o risco de presença de micotoxinas, principalmente aflatoxina e citrina (NEME; MOHAMMED, 2017). Além disso, grãos de arroz infestados por pragas de armazenamento afetam as características físicas de integridade, cor, peso e a composição nutricional, as quais estão associadas à qualidade culinária e à obtenção de produtos industrializados como farinas, farelos e óleos (WALTER; MARCHEZAN; AVILA, 2008).

Para garantir a qualidade dos lotes de sementes comercializados, no Brasil, existem normas que orientam e padronizam parâmetros dos campos de produção e de sementes. Para tal, a legislação brasileira dispõe do Decreto nº 10.586 de 18 de dezembro de 2020, no qual regulamenta a Lei nº 10.711, de 5 de agosto de 2003, e dispõe do Sistema Nacional de Sementes e Mudanças que garante a qualidade dos materiais de multiplicação e reprodução vegetal, produzidos ou comercializados no país. Complementar a esta lei, existe ainda a Instrução Normativa de número 45 de setembro de 2013, em que são estabelecidos os padrões de qualidade para a produção e a comercialização de sementes de grandes culturas. Diferente do que ocorre para culturas, como milho e feijão, para a comercialização de sementes de arroz, o exame de sementes infestadas, não é considerado obrigatório para comercialização da espécie, mesmo sendo utilizado para verificação da infestação por insetos pragas (BRASIL, 2013).

O exame tradicional de sementes danificadas por inseto, foi descrito nas Regras para Análise de Sementes (RAS) no capítulo 10, e tem como objetivo determinar a porcentagem de sementes de um lote, danificadas por insetos, sendo um procedimento que leva muito tempo e expõe os executores a riscos, pelo manuseio de objetos cortantes, além disso, pode causar estresse e fadiga visual, uma vez que as sementes são manuseadas individualmente (BRASIL, 2009).

Ainda na RAS, no capítulo 16, está a descrição do teste de raios X, o qual tem como princípio a determinação da proporção de sementes cheias, vazias, danificadas por insetos e

danificadas mecanicamente (BRASIL, 2009). É uma ferramenta não destrutiva, livre de subjetividade e que pode melhorar a eficiência na velocidade das análises e precisão na verificação da qualidade de sementes (DU et al., 2019).

Visando a otimização do teste descrito no capítulo 16 da RAS, foi pensado o uso do equipamento raios X para a verificação da infestação de sementes de arroz com diferentes insetos pragas, principalmente pela vantagem de poder permitir o uso posterior de sementes para futuras análises. Inúmeros trabalhos comprovaram a eficiência do uso dos raios X na verificação da composição dos tecidos internos da semente e sua relação com a germinação e vigor de plântulas, porém, trabalhos que avaliam concomitantemente a infestação de insetos pragas em seus diferentes estágios de desenvolvimento com o uso do equipamento de raios X, ainda são poucos e limitados a um pequeno número de culturas.

Considerando as vantagens da técnica de raios X nas operações de controle e qualidade no setor sementeiro, o objetivo na presente pesquisa foi avaliar a infestação de sementes de arroz, com gorgulhos do gênero *Sitophilus* sp. por meio de imagens radiográficas, e a influência da infestação com qualidade fisiológica e na composição centesimal das sementes de arroz.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância econômica e a qualidade de sementes de arroz

O arroz, *Oryza sativa* pertence à família Poaceae é o terceiro cereal mais importante no mundo, atrás do trigo e do milho, sendo considerado componente fundamental da dieta alimentar de grande parte da população mundial (ZANIN; BACCHI; ALMEIDA, 2019). É uma cultura considerada como excelente fonte de carboidratos, proteínas, lipídios, minerais, vitaminas B e E, ácidos fenólicos e fítics, fornecendo mais de 15% de proteínas e 20% da energia diária às pessoas (ZHOU; XIA; HE, 2020; CASSIANO et al., 2021).

O Brasil é considerado um dos grandes produtores e fornecedores de alimentos para o mundo, com uma produção de grãos superior a 271 milhões de toneladas na safra 2021/22 (MAPA, 2022). Somente a cultura do arroz contribui com aproximadamente 10 milhões de toneladas do total da produção de grãos, sendo os principais estados produtores o Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Tocantins, Mato Grosso e Maranhão, os quais representam 87% da área semeada (CONAB, 2023a). Mais que segurança alimentar a cultura do arroz promove ofertas de emprego, e bem-estar social (ANG; MADSEN; WANG, 2021).

Mundialmente, o Brasil é o 10^o produtor e consumidor de arroz, com um consumo médio de 32 kg por ano/pessoa, sendo que cerca de 95% da população brasileira consome esse cereal (COELHO, 2021).

As altas produções do arroz fazem parte de uma cultura extensiva, associada ao uso de técnicas de semeadura, cultivares adaptadas para melhor sobrevivência em condições adversas, manejo integrado da cultura, mecanização e automatização da produção industrial, melhoras na etapa de pós-colheita e uso de sementes de qualidade (GARCÍA et al., 2021). Além disso, o arroz por ser uma rica fonte de nutrientes é considerado uma alternativa para redução da fome das populações mais carentes (SILVA; WANDER, 2018).

Uma boa safra é o resultado de ações conjuntas dentro da lavoura, sendo que o uso de sementes de qualidade é uma característica que causa impactos positivos no sucesso da cultura. Para que a semente seja considerada de qualidade é necessário que apresente boas características físicas, fisiológicas, genéticas e sanitárias, as quais, interagem para determinar o valor da semente para a semeadura (ZUCHI; PERIPOLLI, 2012; URBINA, 2018; MARCOS-FILHO, 2020). Desses, o atributo sanitário está relacionado à presença ou não de microrganismos e de insetos, que podem gerar doenças e danos à semente na etapa de produção e armazenamento, tais como o consumo do conteúdo celular, morte celular, distúrbio do metabolismo e bloqueio de transporte de assimilados (TALAMINI; CARVALHO; OLIVEIRA, 2012; MELO; ALMEIDA; QUEIROGA, 2014). Alguns patógenos podem ser disseminados e sobreviverem durante o armazenamento, afetando a capacidade germinativa, de emergência e vigor das novas plantas, com conseqüente redução do rendimento das culturas (URBINA, 2018).

Portanto, aspectos de seleção de cultivares, práticas culturais, inspeções no campo, teor de umidade da semente, tratamento com defensivos e limpeza dos locais de armazenamento, são alicerces de qualidade sanitária assegurada da semente (PEREIRA et al., 2019).

2.2 Principais insetos pragas do arroz armazenado e os efeitos na qualidade das sementes

Na etapa de pós-colheita, as sementes de arroz têm perdas da qualidade física, devido a danos mecânicos que ocorrem nos processos industriais (CARDOSO et al., 2021). Além destes, há redução da qualidade fisiológica em função das condições ambientais do local de armazenamento e das embalagens utilizadas (ZUCHI; PERIPOLLI, 2012). Nesta etapa, quando não são controlados, os insetos-praga geram efeitos negativos na qualidade física e fisiológica

das sementes, que somados àqueles fatores industriais na etapa pós-colheita, colaboram para o desenvolvimento de pragas secundárias, crescimento de fungos e micotoxinas (RITA DEVI et al., 2017; SÁNCHEZ; GÓMEZ-GUERRERO; BILLIRIS, 2019).

Segundo Lorini et al. (2015), as pragas primárias das sementes de arroz no armazenamento, são descritas como aquelas que atacam as sementes sadias, perfuram a parte externa e adentram à semente para completar seu ciclo de vida, consumido grande parte do endosperma e embrião. Destas, destacam-se os besouros da espécie *R. dominica* e os gorgulhos *S. oryzae* e *S. zeamais*, consideradas as pragas que representam maiores impactos econômicos para seu controle e os maiores prejuízos nos lotes de sementes (ASTUTI, 2019; MAJDMARANI et al., 2023).

O gorgulho do arroz *S. oryzae* é considerado uma praga que apresenta infestação cruzada (LORINI et al., 2015), uma vez que infesta as sementes em campo e também nos locais de armazenamento e alimenta-se da parte interna da semente no estágio larval (JALAEIAN et al., 2021). Esses insetos têm comprimentos de 2,0 mm a 3,5 mm, coloração castanho-escuro com manchas mais claras nos élitros (asas anteriores). O macho apresenta cabeça mais curta e larga e a fêmea tem a cabeça mais longa e afiada. Sua expectativa de vida varia de 80 a 180 dias, com uma relação de 1:1,4 entre machos e fêmeas. Sua sobrevivência é dependente das condições ambientais de temperatura e umidade (15° - 34° C e UR 40 - 80%) e da escotofase. Durante o tempo de vida, a fêmea pode colocar de 240 a 400 ovos, sendo que após 25 a 47 dias, emergirá o inseto adulto (BELL, 2014; LORINI et al., 2015; RITA DEVI et al., 2017; PÉREZ et al., 2018; JALAEIAN et al., 2021).

A redução da qualidade sanitária da semente no armazenamento envolve a respiração da semente, a proliferação de insetos pragas e microrganismos (DUARTE, 2017), resultando na perda de matéria seca e aumento da umidade na semente, seguido por altas temperaturas em diferentes pontos no local de armazenamento, que promoverão a contaminação de sementes pelo aparecimento de fungos, principalmente dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, o que aumenta o risco de contaminação por micotoxinas, em especial de aflatoxina e citrinina (NEME; MOHAMMED, 2017). Contudo, consequências negativas na pureza física, qualidade fisiológica e sanitária, podem acontecer, com reduções drásticas no valor comercial das sementes (URBINA, 2018).

Os prejuízos nas sementes de arroz por *S. oryzae*, ocorrem devido ao hábito alimentar do gorgulho, onde por meio de suas mandíbulas perfura a pálea a lema que são as estruturas de proteção que envolvem a cariopse, após, vai consumir o endosperma e embrião da semente, e aqueles relacionados à fase reprodutiva do inseto, onde a fêmea faz um orifício para realizar

a oviposição, seguido da eclosão e formação de galerias pela larva a medida que se alimenta e se desenvolve, até a atingir o estágio de pupa e a emergência do inseto adulto (RITA DEVI et al., 2017; ZHOU et al., 2020).

Os insetos-praga dos cereais, reduzem a porcentagem de germinação e viabilidade de plântulas (COSTA et al., 2021), diminuem o valor comercial do grão, além de gerar alterações físico-químicas, em função do consumo durante a fase larval de grande parte do endosperma e do embrião, fonte importante de nutrientes, principalmente, carboidratos, lipídeos e proteínas (JALAEIAN et al., 2021; MAJD-MARANI et al., 2023).

Especificamente, sementes de arroz infestadas por insetos *Sithophilus* sp., os prejuízos se intensificam com o aumento do tempo de armazenamento da semente, chegando até 20% de sementes mortas, com redução da emergência de plântulas em até 45% (SMIDERLE et al., 1998).

Diferentes análises têm sido desenvolvidas para determinar a qualidade da semente, onde àquelas relacionadas aos atributos fisiológicos merecem atenção especial por estarem com o estabelecimento do estante em campo (MARCOS-FILHO, 2020).

O teste de emergência, permite estabelecer a formação de plântulas normais em determinado tempo, (KRZYZANOWSKI et al., 2020) e o teste de condutividade elétrica avalia a intensidade da liberação de solutos nas membranas celulares (VIEIRA; MARCOS-FILHO, 2020). Os dois testes têm sido utilizados como indicadores de deterioração em sementes de arroz infestadas com insetos-praga em armazéns (COSTA et al., 2021; SCARIOT et al., 2021).

O teste tradicional de identificação de sementes infestadas por insetos pragas, considera a análise de 100 sementes em duas repetições de forma individual, para a identificação de orifícios de saída no inseto. Após, as sementes sem danos aparentes, são embebidas durante 24 horas e com o auxílio de objetos cortantes, são feitos cortes para a observação de ovo, larva, pupa ou o inseto adulto e, posteriormente o registro do número de sementes infestadas deve ser realizado (BRASIL, 2009).

Esse método é caracterizado por ser mais lento e subjetivo, além de gerar estresse e fadiga visual (CARVALHO et al., 2019). Desta forma, estudos de novas técnicas não destrutivas, como os testes de imagens radiográficas, a fim de otimizar o processo de avaliação e detecção de insetos praga em sementes, são importantes para a otimização do controle de qualidade realizado pelas empresas produtoras de sementes, na comercialização de lotes de sementes.

2.3 Uso de imagens radiográficas e ferramentas de análises digitais na detecção de insetos pragas em sementes de arroz.

Os testes radiográficos consistem em uma técnica não destrutiva usada para a avaliação de características internas de sementes (KOTWALIWALE et al., 2011). A técnica tem a característica de ser objetiva, prática, precisa e rápida, o que possibilita seu uso em programas de controle de qualidade de empresas produtoras de sementes (KOTWALIWALE et al., 2011; DU et al., 2019; MARTÍNEZ et al., 2020).

Os feixes de raios X apresentam comprimento de onda de 0,01 a 10 nm, com frequências variáveis, sendo ondas curtas mais energéticas e usadas em objetos maiores e as ondas longas de menor energia, usadas em objetos menores, como as sementes. Isso permite a geração de imagens de forma rápida e a identificação das características internas das sementes (KOTWALIWALE et al., 2011; KARUNAKARAN; JAYAS, 2014).

A técnica, utiliza uma fonte emissora de raios X de baixa energia, que junto com o revelador proporcionam imagens da semente exposta (BRASIL, 2009). A qualidade da imagem obtida vai depender da espessura, densidade e composição dos tecidos da semente, tempo de exposição, quantidade de voltagem quilovolts (kV), do número de raios X produzidos (miliamperagem (mA)) e da distância focal entre a fonte de radiação e o objeto (BRASIL, 2009; BRUGGINK; DUIJN, 2017; NOGUEIRA FILHO et al., 2017; DU et al., 2019).

Os primeiros indícios de uso de raios X em sementes foram realizados no ano de 1903 em sementes de espécies florestais, o que permitiu a observação de imagens claras e pretas. No ano de 1932, sementes de algodoeiro foram sobrepostas e radiografadas para detecção de larvas vivas e mortas de *Pectinophora gossypiella* (Saunders, 1844) (Lepidoptera: Gelechiidae) (FENTON, 1932). Em 1953, foram feitas as primeiras correlações das imagens de raios X com a presença ou não de embrião e endosperma em sementes das espécies *Pinus silvestres* e *Alnus glutinosa* (SIMAK; GUSTAFSSON, 1953). Os resultados desses trabalhos permitiram em anos posteriores, a utilização de imagens radiográficas para visualização com melhor contraste dos componentes internos da sementes e sua correlação com qualidade da futura planta para diversas culturas (KOTWALIWALE et al., 2011; MENEZES et al., 2012; DU et al., 2019).

Nos anos 50, a técnica de raios X foi usada na detecção de insetos pragas em grãos de arroz, milho, trigo e feijão (MILNER et al., 1952). Os grãos de trigo foram os primeiros avaliados para a detecção de *S. oryzae* e *Sitophilus granarius* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Curculionidae) (MILNER; LEE; KATZ, 1950).

Estudos posteriores correlacionaram o uso da técnica de raios X com a qualidade fisiológica de sementes infestadas com insetos-praga, nas culturas de trigo (FORNAL et al., 2007), feijão-caupi e soja (MELO et al., 2010; CHELLADURAI et al., 2014), e milho (CARVALHO et al., 2019).

Para o gorgulho *S. oryzae*, o uso do teste de raios X foi eficiente na detecção da infestação em sementes de trigo (MILNER et al., 1952; DOBIE, 1973; KARUNAKARAN; JAYAS; WHITE, 2003; XIAOLONG et al., 2020). Entretanto, para sementes de arroz, os estudos com uso da técnica radiográfica na identificação da infestação dos insetos praga são escassos.

Para fornecer maior quantidade de informações acerca das características internas das sementes infestadas, junto ao equipamento de raios X pode-se utilizar o software Image J® de domínio público, visando o processamento automatizado de imagens (IMAGEJ®, 2021). Esse software permite a complementação de informações extraídas das imagens radiográficas, como a quantificação de tamanho, forma e brilho de sementes (FERREIRA; RASBAND, 2012; ARKHIPOV et al., 2019).

Comandos gravados como macros no software, foram desenvolvidos para obtenção de informações da qualidade sanitária (HAFF; PEARSON, 2007; NAWROCKA et al., 2012). E fisiológica das sementes (MEDEIROS et al., 2020c, 2020a). Além disso, o uso de algoritmos mais avançados tem demonstrado eficiência no processamento digital de imagens, permitindo a identificação de defeitos internos (SHI et al., 2019), e a verificação da integridade estrutural de sementes (AHMED et al., 2018; ARKHIPOV et al., 2019).

Dessa forma, a obtenção de informação de interesse a partir de uma imagem, converte-se em uma etapa importante na obtenção de resultados precisos e livres de subjetividade, mais ainda em sementes infestadas com insetos-praga, onde a detecção dos estágios de ovo e os primeiros ínstaes larvais obtidos por meio do teste de raios X, pode ser confusa pela semelhança dos danos (FORNAL et al., 2007; CHELLADURAI et al., 2014).

2.4 Análises de composição química na avaliação de qualidade de sementes de arroz infestadas

Diferenças varietais, variações ambientais e manejo agrônômico da cultura do arroz, são determinantes na proporção dos componentes químicos da semente (MONAJJEM; SOLTANI, 2023). Os compostos ou substâncias de reserva, são muito importantes na determinação da qualidade da semente, sendo os responsáveis pelo fornecimento de moléculas nutritivas durante

a digestão das reservas no processo de germinação (KAUR; ASTHIR, 2021; KADAM et al., 2023).

A semente de arroz é constituída de duas partes, a primeira corresponde a casca, formada pela lema e a pálea, estruturas de proteção que envolvem a segunda parte da semente, a cariopse. Esta última é formada por diferentes camadas de células, sendo a mais externa correspondente ao pericarpo, o tegumento e a nucela, seguido da camada de aleurona e do endosperma amiláceo, preenchidos pelos corpos proteicos, lipídicos e os grânulos de amido. O embrião contém as folhas embrionárias, plúmula e a radícula (FONSECA et al., 2008; DEGIOVANNI; BERRIO; CHARRY, 2010; AN et al., 2020).

Na constituição química das sementes de arroz, o componente principal e em maior quantidade, são os carboidratos, seguidos da água, proteínas e lipídios (GUIMARÃES, 1999). O amido corresponde à principal fonte de carboidratos e representa mais de 70% da matéria seca presente no endosperma, sendo a maior reserva de nutrientes nas sementes do arroz (WALTER; MARCHEZAN; AVILA, 2008).

As proteínas representam entre 7% a 14 % dos componentes de reserva da semente, e estão presentes na forma de proteínas metabolicamente ativas, enzimas e nucleoproteínas, ou na forma de proteínas metabolicamente inativas, presentes principalmente nas camadas de aleuronas, as quais participam do processo de formação de novos tecidos durante a germinação, acumulando-se como corpos proteicos. Quatro classes de proteínas estão presentes nas estruturas de reserva das sementes de arroz, as glutelinas em maior quantidade (60% -80%), prolaminas (20% - 30%), globulinas (2% -8%) e albuminas (5%) (KIM et al., 2013; ROMERO, 2015).

No caso dos lipídios, estão presentes em maior concentração nos corpos lipídicos (esferossomos) do pericarpo, a nucela e na camada de aleurona, representando 2% a 4% das substâncias de reserva. A principal forma de armazenamento é triacilglicerol, o qual vai ser degradado por lipases para a formação de ácidos graxos e glicerol (JULIANO; TUAÑO, 2018; KAUR; ASTHIR, 2021).

As variações nas concentrações dos componentes nas sementes de arroz podem interferir na ontogênese de *S. oryzae* (JALAEIAN et al., 2021) e de *S. zeamais* (OJO; OMOLOYE, 2016). Portanto, não existe uma resposta clara sobre a interação dos insetos-praga com os componentes químicos das sementes de arroz (GOWDA et al., 2019). Alterações na composição química em sementes de milho após infestação com *S. oryzae* (SEKHAR; KUMAR, 2013) e trigo infestado com *S. granarius* (KESKIN; OZKAYA, 2015), já foram reportadas. Estes trabalhos, descreveram que lipídeos e carboidratos diminuiriam com a

infestação de insetos-praga. No entanto, a porcentagem de proteína pode aumentar, associada ao teor proteico dos estágios larvais nos insetos-praga presentes dentro da semente, ou diminuir, conforme aumenta o tempo de infestação. Sua concentração pode estar relacionada à susceptibilidade ou não do arroz, ao ataque de *Sitophilus* sp. (SOUJANYA et al., 2016; GOWDA et al., 2019)

Dessa forma, estudos que relacionem a infestação por insetos-praga em sementes de arroz, com a composição centesimal e a qualidade fisiológica, são necessários para a melhor compreensão dos efeitos gerados pelo gorgulho-do-arroz. Mais que isso, o aprimoramento do exame de sementes infestadas, por meio de tecnologias não destrutivas como o teste de raios X, requer de investigações, visando celeridade na tomada de decisão e eficiência na etapa de armazenamento de lotes de sementes. Assim, objetivou-se detectar a porcentagem de infestação em sementes de arroz infestadas com insetos do gênero *Sitophilus* por meio de imagens radiográficas, e determinar a influência de níveis de infestação na qualidade fisiológica e na composição centesimal das sementes de arroz.

REFERÊNCIAS

- AHMED, M. R.; YASMIN, J.; COLLINS, W.; CHO, B. K. X-ray CT image analysis for morphology of muskmelon seed in relation to germination. **Biosystems Engineering**, v. 175, p. 183–193, 2018. doi: 10.1016/j.biosystemseng.2018.09.015.
- AN, L.; TAO, Y.; CHEN, H.; HE, M.; XIAO, F.; LI, G.; DING, Y.; LIU, Z. Embryo-Endosperm interaction and its agronomic relevance to rice quality. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. November, 2020. doi: 10.3389/fpls.2020.587641.
- ANG, J. B.; MADSEN, J. B.; WANG, W. Rice farming, culture and democracy. **European Economic Review**, v. 136, p. 103778, 2021. doi: 10.1016/j.euroecorev.2021.103778.
- ARKHIPOV, M. V.; PRIYATKIN, N. S.; GUSAKOVA, L. P.; POTRAKHOV, N. N.; GRYAZNOV, A. Y.; BESSONOV, V. B.; OBODOVSKII, A. V.; STAROVEROV, N. E. X-ray computer methods for studying the structural integrity of seeds and their importance in modern seed science. **Technical Physics**, v. 64, n. 4, p. 582–592, 2019. doi: 10.1134/S1063784219040030.
- BELL, C. H. Food safety assurance systems: infestation management in food production premises. In: MOTARJEMI, Y. (Ed.). **Encyclopedia of Food Safety**. [s.l.] Academic Press, 2014. 4 p. 189–200. 2014.
- BRASIL. **Regras para análise de sementes**. MAPA/ACS, ed. Brasília: Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Secretaria de defesa agropecuária., 2009.
- BRASIL. **Instrução Normativa nº 45, de 17 de setembro de 2013**. Brasília, DF, Brasil: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2013.
- BRUGGINK, H.; DUIJN, B. van. X-ray based seed analysis. **Seed Testing International**, v. 153, n. April, p. 45–50, 2017.
- CARDOSO, E. M.; LEVIEN, V. N.; OLIVEIRA, M. de; POHNDORF, R. S.; ÁVILA, B. P. Armazenamento de arroz no Brasil – Avaliação, manejo operacional e tecnológico para redução de perdas. In: MACHADO JUNIOR, P.; REIS NETO, S. (Eds.). **Perdas em transporte e armazenagem de grãos: panorama atual e perspectivas**. Brasília, DF: CONAB-Companhia Nacional de Abastecimento. p. 127–142, 2021.
- CARVALHO, M. L. M. de; LEITE, E. R.; CARVALHO, G. A.; FRANÇA-SILVA, F.; ANDRADE, D. B. de; MARQUES, E. R. The compared efficiency of the traditional method, radiography without contrast and radiography with contrast in the determination of infestation by weevil (*Sitophilus zeamais*) in Maize Seeds. **Insects**, v. 10, n. 6, p. 1–9, 2019. doi: 10.3390/insects10060156.
- CASSIANO, C. V.; PEREIRA, P. da S.; MORAIS, A. A. d; NASCIMENTO, W. M. determinação de alterações morfológicas durante a maturação de sementes de melão com uso de raios X. **Revista Agraria Academica**, v. 4, n. 2, p. 21–28, 2021. doi: 10.32406/v4n2/2021/21-28/agrariacad.
- CHELLADURAI, V.; KARUPPIAH, K.; JAYAS, D. S.; FIELDS, P. G.; WHITE, N. D. G. Detection of *Callosobruchus maculatus* (F.) infestation in soybean using soft x-ray and NIR hyperspectral imaging techniques. **Journal of Stored Products Research**, v. 57, p. 43–48, 2014. doi: 10.1016/j.jspr.2013.12.005.
- COÊLHO, D. **Arroz: Produção E Mercado** Caderno Setorial ETENE. Passaré: Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste, 2021.

- CONAB. **A cultura do arroz**. Brasília: CONAB-Companhia Nacional de Abastecimento, 2015.
- CONAB. **Informações agropecuárias: Series históricas das safras, grãos**. Acesso em: 15 mar. 2023a.
- CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira: Graos Safra 2022/23 5° Levantamento. **Acompanhamento da Safra Brasileira**, v. 10, n. 5, p. 85, 2023b.
- COSTA, L. de O.; MARQUES, S. C.; PEREIRA, R. R. da C.; PEREIRA, C. E. Storage of corn seeds infested by weevil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 88, p. 1–8, 2021. doi: 10.1590/1808-1657000572020.
- DEGIOVANNI, V.; BERRIO, L.; CHARRY, R. Origen, taxonomía, anatomía y morfología de la planta de arroz (*Oryza sativa* L.). In: DEGIOVANNI, B. V.; MARTÍNEZ, C. P.; MOTTA, F. (Eds.). **Producción eco-eficiente del arroz en América Latina**. Calí, CO: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), p. 35–59, 2010.
- DOBIE, P. An investigation into the use of an x-ray technique in the study of pre-emergent stages of *Sitophilus oryzae* (L.) developing in manitoba wheat. **Journal of Stored Products Research**, v. 9, n. 1, p. 7–12, 1973. doi: 10.1016/0022-474X(73)90032-5.
- DU, Z.; HU, Y.; ALI BUTTAR, N.; MAHMOOD, A. X-Ray computed tomography for quality inspection of agricultural products: A review. **Food Science and Nutrition**, v. 7, n. 10, p. 3146–3160., 2019. doi: 10.1002/fsn3.1179.
- DUARTE, A. Novas tecnologias aplicadas à pós-colheita para mitigação de perdas qualitativas e quantitativas. In: MACHADO JUNIOR, P.; REIS NETO, S. (Eds.). **Perdas em transporte e armazenagem de grãos: panorama atual e perspectivas**. Brasília, DF: CONAB-Companhia Nacional de Abastecimento. p. 75–86, 2017.
- FENTON, F. detecting pink bollworms in cottonseeds by the x-ray. **Journal of Agricultural Research**, v. 45, n. 6, p. 347–349, 1932.
- FERREIRA, T.; RASBAND, W. **ImageJ User Guide**. [s.l.] Bethesda, MD, 2012. v. 1.46r
- FONSECA, J. R.; CUTRIM, dos A.; RODRIGUES, A.; FARIA, J. **Descritores botânicos, agrônômicos e fenológicos do arroz (*Oryza sativa* L.)**. In: Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2008. 2008.
- FORNAL, J.; JELIŃSKI, T.; SADOWSKA, J.; GRUNDAS, S.; NAWROT, J.; NIEWIADA, A.; WARCHALEWSKI, J. R.; BŁASZCZAK, W. Detection of granary weevil *Sitophilus granarius* (L.) eggs and internal stages in wheat grain using soft x-ray and image analysis. **Journal of Stored Products Research**, v. 43, n. 2, p. 142–148, 2007. doi: 10.1016/j.jspr.2006.02.003.
- FRANCO, D. F.; MAGALÃES JUNIOR, A. M. de. **Produção e avaliação da qualidade de sementes de arroz irrigado**: Embrapa Clima Temperado. Documento. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2011.
- GARCÍA, R. R.; GIANNETTI, B. F.; AGOSTINHO, F.; ALMEIDA, C. M. V. B.; SEVEGNANI, F.; PARRA PÉREZ, K. M.; VELÁSQUEZ, L. Assessing the sustainability of rice production in Brazil and Cuba. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 4, n. April, p. 100152, 2021. doi: 10.1016/j.jafr.2021.100152.
- GOWDA, G. B.; PATIL, N. B.; ADAK, T.; PANDI, G. P.; BASAK, N.; DHALI, K.; ANNAMALAI, M.; PRASANTHI, G.; MOHAPATRA, S. D.; JENA, M.; POKHARE, S.; RATH, P. C. Physico-chemical characteristics of rice (*Oryza sativa* L.) grain imparting

resistance and their association with development of rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). **Environmental Sustainability**, v. 2, n. 4, p. 369–379, 2019. doi: 10.1007/s42398-019-00087-9.

GUIMARÃES, R. M. **Produção e Tecnologia De Sementes: Fisiologia de sementes**. Lavras: Universidade Federal de Lavras / Fundação de Apoio ao Ensino Pesquisa e Extensão, 1999.

HAFF, R. P.; PEARSON, T. C. An automatic algorithm for detection of infestations in x-ray images of agricultural products. **Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety**, v. 1, n. 3, p. 143–150, 2007. doi: 10.1007/s11694-007-9018-9.

IMAGEJ®. **Basic Concepts: ImageJ is Free Software**.

JALAEIAN, M.; MOHAMMADZADEH, M.; MOHAMMADZADEH, M.; BORZOU, E. Rice cultivars affect fitness-related characteristics and digestive physiology of the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 93, n. May, 2021. doi: 10.1016/j.jspr.2021.101821.

JULIANO, B. O.; TUAÑO, A. P. P. Gross structure and composition of the rice grain. **Rice: Chemistry and Technology**, n. 1, p. 31–53, 2018. doi: 10.1016/B978-0-12-811508-4.00002-2.

KADAM, S.; PABREKAR, S.; SAWARDEKAR, S.; BARAGE, S. High-Throughput and molecular interventions for identification and characterization of rice germplasm. **Cereal Research Communications**, v. 51, n. 2, p. 325–335, 2023. doi: 10.1007/s42976-022-00320-y.

KAUR, M.; ASTHIR, B. Characterization of biochemical and proximate composition in rice grains as influenced by germination. **Cereal Research Communications**, v. 49, n. 2, p. 291–299, 2021. doi: 10.1007/s42976-020-00101-5.

KARUNAKARAN, C.; JAYAS, D. S. X-ray Imaging. In: MANICKAVASAGAN, A.; JAYASURIYA, H. (Eds.). **Imaging with Electromagnetic Spectrum**. [s.l.] Springer Berlin, Heidelberg, 2014. p. 33–55. 2014.

KARUNAKARAN, C.; JAYAS, D. S.; WHITE, N. D. G. Soft x-ray inspection of wheat kernels infested by *Sitophilus oryzae*. **Transactions of the ASAE**, v. 46, n. 3, p. 739–745, 2003.

KESKIN, S.; OZKAYA, H. Effect of storage and insect infestation on the technological properties of wheat. **CYTA - Journal of Food**, v. 13, n. 1, p. 134–139, 2015. doi: 10.1080/19476337.2014.919962.

KIM, H. J.; LEE, J. Y.; YOON, U. H.; LIM, S. H.; KIM, Y. M. Effects of reduced prolamin on seed storage protein composition and the nutritional quality of rice. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 8, p. 17073–17084, 2013. doi: 10.3390/ijms140817073.

KOTWALIWALE, N.; SINGH, K.; KALNE, A.; JHA, S. N.; SETH, N.; KAR, A. X-ray imaging methods for internal quality evaluation of agricultural produce. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 1, p. 1–15, 2011. doi: 10.1007/s13197-011-0485-y.

KRZYŻANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. de B.; GOMES-JUNIOR, F. G.; NAKAGAWA, J. Teste de Vigor baseados em desempenho de plântulas. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R.; FRANÇA-NETO, J. DE B.; MARCOS-FILHO, J. (Eds.). **Vigor de Sementes: Conceitos e Testes**. Londrina: Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, 2020. p. 79–140. 2020.

LORINI, I.; KRZYŻANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. de B.; HENNING, A. A.; HENNING, F. A. **Manejo Integrado de Pragas de Grãos e Sementes Armazenadas**. Brasília, DF: Embrapa, 2015.

MAPA. **Projeções do Agronegócio Brasil 2021/22 a 2031/32 Projeções de Longo Prazo.** 2021/2022 ed. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária-MAPA, 2022.

MONAJJEM, S.; SOLTANI, E. A quantitative analysis to find important determinant environmental factors on seed quality of upland rice (*Oryza sativa* L.). **Cereal Research Communications**, v. 51, n. 2, p. 483–493, 2023. doi: 10.1007/s42976-022-00303-z

MARCOS-FILHO, J. Teste de Vigor: Importância e Utilização. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. DE B.; MARCOS-FILHO, J. (Eds.). **Vigor de Sementes: Conceitos e Testes.** Londrina: Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, 2020. p. 17–77. 2020.

MARQUES, E. R.; ARAÚJO, E. F.; ARAÚJO, R. F.; MARTINS FILHO, S.; SOARES, P. C. Seed quality of rice cultivars stored in different environments. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 1, p. 32–39, 2014. doi: 10.1590/s2317-15372014000100004.

MARTÍNEZ, M.; JUNIOR, G.; PEREARNAU, A.; GALLO, M. El Análisis de Calidad de Semillas En Un Nuevo Escenario Tecnológico. **Para Mejorar la producción: INTA EEA Oliveiros**, v. 59, 2020.

MEDEIROS, A. D. de; DA SILVA, L. J.; PEREIRA, M. D.; OLIVEIRA, A. M. S.; DIAS, D. C. F. S. High-throughput phenotyping of brachiaria grass seeds using free access tool for analyzing x-ray images. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, p. 1–17, 2020a. doi: 10.1590/0001-3765202020190209.

MEDEIROS, A. de; SILVA, L. J. da; SILVA, J. M. da; DIAS, D. dos S.; PEREIRA, M. D. IJCropSeed: an open-access tool for high-throughput analysis of crop seed radiographs. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 175, n. May, p. 105555, 2020b. doi: 10.1016/j.compag.2020.105555.

MELO, B. A. de; ALMEIDA, F. de A. C.; QUEIROGA, V. de P. Patologia de Sementes. In: NETO, J. J. DA S. B.; ALMEIDA, F. DE A. C.; QUEIROGA, V. DE P.; GONÇALVES, C. C. (Eds.). **Sementes-Estudos Tecnológicos.** Aracaju, SE: Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Sergipe, 2014. p. 241–259. 2014.

MELO, R. de A.; FORTI, V. A.; CICERO, S. M.; NOVEMBRE, A. D.; MELO, P. C. T. de. Use of x-ray to evaluate damage caused by weevils in cowpea seeds. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 472–476, 2010. doi: 10.1590/s0102-05362010000400016.

MENEZES, N. L. de; CICERO, S. M.; VILLELA, F. A.; BORTOLOTTI, R. P. Using x-rays to evaluate fissures in rice seeds dried artificially. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 1, p. 70–77, 2012. doi: 10.1590/s0101-31222012000100009.

MILNER, M.; LEE, M. R.; KATZ, R. Application of x-ray technique to the detection of internal insect infestation of grain. **Journal of Economic Entomology**, v. 43, n. 6, p. 933–935, 1950. doi: 10.1093/jee/43.6.933.

MILNER, M.; LEE, M. R.; KATZ, R.; MILNER, M. A. X. Radiography applied to grain and seeds. **Food technology**, v. 6, n. 2, p. 44–45, 1952.

NAWROCKA, A.; STEOGONEKPIEŃ, E.; GRUNDAS, S.; NAWROT, J. Mass loss determination of wheat kernels infested by granary weevil from x-ray images. **Journal of Stored Products Research**, v. 48, p. 19–24, 2012. doi: 10.1016/j.jspr.2011.08.004.

- NEME, K.; MOHAMMED, A. Mycotoxin occurrence in grains and the role of postharvest management as a mitigation strategy. A Review. **Food Control**, v. 78, p. 412–425, 2017. doi: 10.1016/j.foodcont.2017.03.012.
- NOGUEIRA FILHO, F. P. N.; OLIVEIRA, A. B.; PEREIRA, M.; FÁTIMA DE QUEIROZ DE LOPES, M.; SILVA, R. T. da. Effectivity of x-ray test to evaluate the physiological quality of sesame seeds due to fruits position at the plant. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 12, n. 4, p. 435–440, 2017. doi: 10.5039/agraria.v12i4a5474.
- OJO, J. A.; OMOLOYE, A. A. development and life history of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) on cereal crops. **Advances in Agriculture**, v. 2016, p. 8, 2016. doi: 10.1155/2016/7836379.
- PEREIRA, A. E.; BENITES, W. L. da S.; CATELAN, L. de C.; SILVA, A. P.; KROHN, N. G. Combined effects of biological and chemical treatment on rice seed physiological and sanitary quality. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 15, p. 106, 2019. doi: 10.5539/jas.v11n15p106.
- PÉREZ, Y. R.; HERRERA, R.; CASTELLANOS, L. G.; JIMÉNEZ, R. *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) características, daños, reproducción y alternativas para su control. **Revista Científica Agroecosistemas**, v. 6, n. 3, p. 129–135, 2018.
- RITA DEVI, S.; THOMAS, A.; REBIJITH, K. B.; RAMAMURTHY, V. V. Biology, morphology and molecular characterization of *Sitophilus oryzae* and *S. zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 73, p. 135–141, 2017. doi: 10.1016/j.jspr.2017.08.004.
- ROMERO, M. V. Rice Protein. In: USTUNOL, Z. (Ed.). **Applied Food Protein Chemistry**. First ed. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd, 2015. p. 305–321. 2015.
- SAATH, K. C. de O.; FACHINELLO, A. L. Crescimento da demanda mundial de alimentos e restrições do fator terra no brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 56, n. 2, p. 195–212, 2018. doi: 10.1590/1234-56781806-94790560201.
- SÁNCHEZ, A.; GÓMEZ-GUERRERO, B.; BILLIRIS, A. almacenamiento de arroz: influencia en la inocuidad del grano. **Innotec**, v. 19, n. 19, p. 109–124, 2019. doi: 10.26461/19.08.
- SCARIOT, M. A.; SOARES, G. C.; RADÜNZ, L. L.; DIONELLO, R. G. Physical and physiological quality of rice seeds in function of drying temperature and storage. **Revista Ceres**, v. 68, n. 1, p. 31–38, 2021. doi: 10.1590/0034-737x202168010004.
- SEKHAR, J. C.; KUMAR, P. O. Physical and biochemical changes in stored maize due to infestation of *Sitophilus oryzae* L. **Madras Agricultural Journal**, v. 100, 2013.
- SHI, H.; SIEBENMORGEN, T. J.; LUO, H.; ODEK, Z. Fissure detection and measurement in rough rice using x-ray imaging. **American Society of Agricultural and Biological Engineers**, v. 62, n. 2012, p. 859–866, 2019.
- SILVA, O. d.; WANDER, A. Caracterização e avaliação econômica do cultivo do arroz de terras altas no planalto central do Brasil. In: TÔSTO, S. G.; BELARMINO, L. C.; CASTRO, G. S. A. .; MANGABEIRA, J. A. DE C.; SILVA, O. F. DA (Eds.). **Caracterização e avaliação econômica de sistemas de produção e cultivo de grãos em biomas brasileiros**. Brasília: Embrapa Territorial, 2018. p. 28–46. 2018.
- SIMAK, M.; GUSTAFSSON, Å. X-Ray photography and sensitivity in forest tree species. **Hereditas**, v. 39, p. 458–468, 1953. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1953.tb03430.x>.

- SMIDERLE, O.; SANTOS FILHO, B. dos; SANTOS, D. dos; LOECK, A. E.; SILVA, J. da. Qualidade fisiológica de sementes de arroz, submetidas ao ataque de insetos durante o armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, n. 8, 1998.
- SOUJANYA, P. L.; SEKHAR, J. C.; KARJAGI, C. G.; PAUL, D.; KUMAR, P. Evaluation of biophysical, anatomical and biochemical traits of resistance to *Sitophilus oryzae* L (Coleoptera: Curculionidae) in Stored Maize. *Maydica*, v. 61, n. 1, 2016.
- TALAMINI, V.; CARVALHO, H. de; OLIVEIRA, I. de. **Qualidade Sanitária de Sementes de Soja de Diferentes Cultivares Introduzidos para Cultivo em Sergipe**: Embrapa Tabuleiros Costeiros. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Aracaju: Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2012.
- TAVARES, L. C.; MENDONÇA, A. O. de; GADOTTI, G. I.; VILLELA, F. A. estratégias de marketing na área de sementes. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, n. 0, p. 1–9, 2016. doi: 10.1590/1808-1657000882014.
- URBINA, R. **Control de Calidad en la Producción “Tradicional” y “No convencional” de Semilla de Arroz (*Oryza sativa* L.)**. Palmira, Colombia: HarvestPlus, 2018.
- USDA. **Grain Fungal Diseases and Mycotoxin Reference**. Washington, D.C: United States Department of Agriculture, 2006. v. 148
- VIEIRA, R. D.; MARCOS-FILHO, J. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. DE B.; MARCOS-FILHO, J. (Ed.). **Vigor de Sementes: Conceitos e Testes**. Londrina: Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, 2020. p. 333–388. 2020.
- WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. de. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, v. 38, n. 4, p. 1184–1192, 2008. doi: 10.1590/s0103-84782008000400049.
- XIAOLONG, S.; XIAOJING, Y.; SHUIHONG, X.; HUI, L.; PALIWAL, J. Detection of the growth stage of rice weevil as a stored-grain pest based on soft x-ray imaging. **Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering**, v. 36, n. 18, p. 309–314, 2020. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2020.18.036.
- ZANIN, V.; BACCHI, M. R. P.; ALMEIDA, A. T. C. de. A demanda domiciliar por arroz no Brasil: abordagem por meio do sistema quads em 2008 / 2009. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 57, n. 2, p. 234–252, 2019.
- ZHOU, H.; XIA, D.; HE, Y. Rice grain quality—traditional traits for high quality rice and health-plus substances. **Molecular Breeding**, v. 40, n. 1, 2020. doi: 10.1007/s11032-019-1080-6.
- ZONTA, B.; ABREU, G.; SANTIAGO, C.; NOGUEIRA, L. C.; FONTES, M.; MELO, P. A.; RODRIGUES, A. A. **Qualidade de sementes de arroz de produção e uso próprios por agricultores familiares no Estado do Maranhão**: Embrapa Cocais. Documentos. São Luís: Embrapa Cocais, 2022.
- ZUCHI, J.; PERIPOLLI, G. **Qualidade Fisiológica de Sementes de Arroz Armazenadas em Diferentes Embalagens e Temperaturas**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 163, p. 20, 2012.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1 – Análises radiográficas em sementes de arroz infestadas por *Sitophilus oryzae* (Linnaeus) (Coleoptera: Curculionidae)

(Artigo redigido conforme a norma para publicação periódica científica NBR 6022 (ABNT, 2018))

RESUMO

As metodologias não destrutivas, têm demonstrado eficiência na análise da qualidade sanitária de lotes de sementes. Destas, a análise radiográfica aprimora a precisão, reduz a subjetividade dos resultados, o tempo na execução dos testes e tem sido considerada como alternativa na detecção de insetos pragas em sementes. O objetivo no trabalho foi detectar os estágios de desenvolvimento de *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) em sementes de arroz e identificar os danos causados pelo inseto por meio de imagens radiográficas. Cinco recipientes plásticos, cada um com 40 g de sementes de arroz sadias, da cultivar CMG1590 (safra 2020/21), foi inserido 50 adultos de *S. oryzae*. Os tratamentos foram definidos de acordo com o tempo estimado para o desenvolvimento dos estágios do gorgulho, sendo T1, T2, T3, T4 e T5, para 5, 10, 20, 30 e 40 dias após infestação, respectivamente, conforme os pré-testes realizados. Para cada tratamento, cinco repetições de 100 sementes foram retiradas e radiografadas no equipamento FAXITRON X-Ray. Para confirmação do observado no equipamento de raios X, foi realizado o teste tradicional de análise de sementes infestadas para confirmação da presença de ovo, larva, pupa e adulto de *S. oryzae* em sementes de arroz. Também, foram caracterizadas sementes com dano e sementes vazias em função do ataque do gorgulho do arroz. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 5 repetições de 100 sementes cada. Diferenças estatísticas ($p < 0,05$) foram observadas quanto aos níveis de infestação detectados entre os tratamentos. Não foi possível observar o estágio de pupa nos tratamentos, embora, foram detectados ovo, larva e adulto, com diferenças significativas para os estágios de larva e adulto entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). Além disso, foi possível a detecção de sementes com danos e sementes vazias como resultado do hábito alimentar e do ciclo de vida do inseto, respectivamente. As análises por meio de imagens radiográficas permitem a verificação da infestação com *S. oryzae* em sementes de arroz, além de permitir a caracterização do ciclo de desenvolvimento do gorgulho com a identificação dos estágios de desenvolvimento de ovo, larva e adulto.

Palavras-chave: *Oryza sativa*, raios X, Armazenamento, gorgulho-do-arroz, Qualidade sanitária.

1 INTRODUÇÃO

A cultura do arroz faz parte das commodities mais importantes, sendo a terceira mais produzida no mundo, além disso, é considerada como uma boa fonte de energia e proteína, que cobre as necessidades calóricas diárias para milhões de pessoas (SILVA; WANDER, 2018).

O sucesso nas lavouras de arroz, envolve o uso de tecnologias desde a seleção da semente, semeadura, manejo integrado da cultura, colheita e as etapas de beneficiamento. Embora, a seleção de semente de qualidade é um dos fatores mais importantes na transferência de avanços genéticos para a adaptabilidade regional, além de proporcionar um melhor estado de plantas, melhor desenvolvimento inicial e uniformidade no campo, e maximiza o aproveitamento dos insumos durante a safra (ZONTA et al., 2022).

A semente de qualidade é caracterizada pela interação dos atributos físicos, fisiológicos, genéticos e sanitários que determinam o desempenho potencial do lote na lavoura (FINCH-SAVAGE; BASSEL, 2016).

Em sementes de arroz, o exame de sementes infestadas tem grande relevância, uma vez que existem insetos-praga que comprometem a qualidade dos lotes. Os besouros *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Bostrichidae), e os gorgulhos *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763) e *Sitophilus zeamais* Montschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae) são considerados pragas primárias e de infestação cruzada, sendo capazes de atacar sementes saudáveis, perfurar a parte externa da semente e consumir o interior para completar seu ciclo de vida. Sua presença gera danos às sementes tanto no seu estágio larval como também na fase adulta, o que provoca a perda de qualidade dos lotes de sementes, com grandes prejuízos econômicos (LORINI et al., 2015).

A detecção e a localização dessas pragas nos estágios iniciais de desenvolvimento são tarefas difíceis, sendo que o uso de metodologias que permitam a identificação precisa e prévia, estão sendo cada vez mais estudadas (RAHMAN; CHO, 2016; GURU et al., 2022). Destas, àquelas consideradas não destrutivas, como a dos raios X, têm sido utilizada na avaliação da qualidade de sementes, determinação de defeitos embrionários, avaliações morfológicas e morfométricas, sementes quebradas, danificadas por insetos e danos por infecções fúngicas e bacterianas (CARVALHO et al., 2019; MUSAEV; POTRAKHOV; BELETSKIY, 2020; SILVA et al., 2023).

Na detecção de pragas de armazenamento em sementes, os raios X têm demonstrado alta repetibilidade e reprodutibilidade na avaliação de níveis de infestação de *R. dominica* em trigo (KARUNAKARAN; JAYAS; WHITE, 2004), alta precisão na detecção dos estágios de

desenvolvimento de *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Bruchidae) em soja (CHELLADURAI et al., 2014) e em sementes de milho (FRANÇA-SILVA et al., 2019).

A detecção de *S. oryzae*, com o uso da técnica de raios X, foi realizada em sementes de trigo (KARUNAKARAN; JAYAS; WHITE, 2003; XIAOLONG et al., 2020). No entanto, estudos acerca da identificação e verificação dos estágios de desenvolvimento deste inseto, em sementes armazenadas de arroz ainda são incipientes (MILNER et al., 1952; SRIVASTAVA; MISHRA; MISHRA, 2020). Dessa forma, o objetivo no presente trabalho foi detectar os estágios de desenvolvimento de *S. oryzae* e identificar seus danos em sementes de arroz com o uso de imagens radiográficas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório Central de Pesquisa em Sementes (LCPS) do Departamento de Agricultura e no Laboratório de Ecotoxicologia e Manejo Integrado de Pragas (LEMIP) do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Sementes de arroz sem resíduos de produtos químicos (linhagem CMG 1590 safra 2020/2021), desenvolvida pelo Programa de Melhoramento Genético de Arroz de Terras Altas – MelhorArroz da UFLA em parceria com a EMBRAPA Arroz e feijão e a EPAMIG. Já, os insetos adultos de *S. oryzae* foram provenientes da criação do laboratório LEMIP.

Para a condução do experimento os seguintes tratamentos foram estabelecidos de acordo com os dias após a instalação do experimento, sendo:

T1 - correspondente a 5 dias após a instalação do experimento e estágio de ovo;

T2 - correspondente a 10 dias após a instalação do experimento e instares 1 e 2 da fase larval;

T3 - correspondente a 20 dias após a instalação do experimento e instares 3 e 4 da fase larval;

T4 - correspondente a 30 dias após a instalação do experimento e estágio de pupa;

T5 - correspondente a 40 dias após a instalação do experimento e estágio adulto.

Foram utilizados cinco recipientes plásticos com capacidade de 100 mL sendo que em cada um 40 g de sementes de arroz e 50 insetos adultos de *S. oryzae*, foram distribuídos. Os recipientes foram devidamente fechados com tecido tipo *voile* para garantir a circulação do ar, sobrevivência dos insetos e evitar a fuga dos mesmos.

Os recipientes foram mantidos em câmaras climáticas a $25^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR 60% UR e escotofase de 24 horas. Durante o período de execução do experimento, para garantir a

quantidade inicial de insetos, aqueles insetos adultos que morreram, foram trocados por adultos vivos.

Em cada tratamento foram retiradas 100 sementes ao acaso de cada recipiente, totalizando 500 sementes avaliadas por tratamento. Para a análise de raios X, as sementes foram dispostas em placas acrílicas, coladas em fita adesiva transparente dupla face para a fixação e posterior identificação individual.

As imagens radiográficas foram obtidas pelo equipamento FAXITRON X-Ray, modelo MX-20 digital, ajustando a voltagem para 30 kV e 19 segundos de exposição, à distância de 22,0 cm da fonte de radiação. As imagens geradas, foram salvas e posteriormente analisadas.

Aquelas sementes que apresentavam possível presença do gorgulho em alguma de suas fases de desenvolvimento, foram separadas para uma nova análise radiográfica. Para isso, foi usado o método de raios X com ampliação de imagem (ARKHIPOV et al., 2019), alterando a distância focal para 15 cm da fonte emissora, mas mantendo a mesma intensidade de radiação, para assim, obter uma imagem mais detalhada.

Sendo o teste de raios X, não destrutivo, após serem radiografadas, as sementes foram submetidas ao exame de sementes infestadas (danificadas por inseto) de acordo com a metodologia descrita nas Regras para análise de sementes (RAS) (BRASIL, 2009). Para tal, foi realizada a análise individual das sementes marcadas como infestadas, onde estas foram dispostas em caixas plásticas, imersas em água destilada por um período de 24 horas. Após, as sementes foram seccionadas com bisturi para avaliação da presença de ovo, larva, pupa, inseto adulto ou o orifício de saída do inseto. Além disso, com as imagens radiográficas obtidas se determinou o local de oviposição em todas as sementes de arroz infestadas.

O delineamento experimental utilizado, foi inteiramente casualizado (DIC), com 5 tratamentos e cinco repetições de 100 sementes. Os dados da infestação do gorgulho foram submetidos à análise de normalidade Shapiro-Wilk ($p > 0,05$) e homogeneidade da variância Bartlett ($p > 0,05$). Realizou-se o teste F da análise de variância (ANOVA) e a comparação de médias foi feita pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Os dados de porcentagens de ovos, larvas, adultos e a detecção de sementes com danos e sementes vazias foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis, visto que não cumpriram com os supostos de análises paramétricos.

Todas as análises foram feitas com o pacote estatístico Agricolae mediante o uso do software estatístico R, versão 4.1.1 (R CORE TEAM, 2021).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises radiográficas em sementes de arroz permitiram a detecção de ovo, larva e adulto do gorgulho *S. oryzae* (Figura 1). Além disso, foi possível a identificação de sementes com danos gerados pelo gorgulho e sementes vazias, sendo esses danos correlacionados com o hábito alimentar do tipo mastigador do gorgulho e de seu ciclo de vida (PÉREZ et al., 2018; CAMPOS et al., 2019). O estágio de pupa não foi detectado nos raios X, sendo a ausência deste estágio, confirmada pelo teste tradicional de exame de sementes infestadas (BRASIL, 2009).

O local de oviposição detectado pelo teste de raios X, apresentou-se como uma cavidade de forma circular ou oval de cor escura com uma pequena mancha de cor branca, situada na superfície da semente (Figura 1B). Observações semelhantes dos locais de oviposição para insetos do gênero *Sitophilus* foram reportadas em sementes de trigo (KARUNAKARAN; JAYAS; WHITE, 2003) e milho (CARVALHO et al., 2019), onde características de forma e cor corresponderam ao processo de oviposição em que a fêmea faz os orifícios de postura com sua mandíbula, situada na extremidade distal de seu rostro, e depois, secreta uma substância gelatinosa de proteção e de revestimento no local da postura (OJO; OMOLOYE, 2016; CAMPOS et al., 2019).

Observações realizadas às imagens radiográficas com presença do estágio de ovo, mostraram que 94,5% da oviposição foi detectada no endosperma e 5,6% no perímetro do embrião da semente de arroz. SHARIFI e MILLS no ano de 1971 pelo uso de raios X em sementes de trigo infestadas com *S. oryzae* reportaram que os ovos são encontrados majoritariamente no endosperma (69%) e no perímetro do embrião (11%). Embora, as imagens radiográficas só representem imagens 2D, foi possível distinguir o local de oviposição do gorgulho-do-arroz. No entanto, alguns fatores como a densidade dos materiais, a distância focal (KOTWALIWALE et al., 2011) e o uso ou não do contraste, podem afetar a qualidade da imagem obtida (CARVALHO et al., 2019; FRANÇA-SILVA et al., 2019), o que dificulta a identificação do ovo.

Aproximadamente cinco dias após oviposição, emergem as larvas, as quais conforme consomem o endosperma, aumenta o tamanho conforme se desenvolve, sendo identificados quatro instares larvais durante esta fase (BHANDERI; RADADIA; PATEL, 2015; RITA DEVI et al., 2017). Os danos gerados pela larva são observados pela formação de galerias ou túneis, áreas com colorações mais escuras e uma menor densidade, resultante do hábito alimentar do gorgulho. As larvas podem ser detectadas pela forma e cor, visto que são ovaladas e brancas, as quais estão separadas entre as galerias e os tecidos da semente (Figura 1C). O ciclo larval

finaliza com a formação de uma cavidade ovalada, após o último instar larval, no local acontece a transformação para pupa e posteriormente ao inseto adulto pré-emergido (BHANDERI; RADADIA; PATEL, 2015).

As imagens radiográficas dos insetos adultos pré-emergidos, são observadas por apresentar colorações mais escuras, as quais contrastam com o endosperma não consumido pela larva, o que permite a diferenciação entre os tecidos das sementes sadias e consumidas pelo gorgulho (Figura 1D).

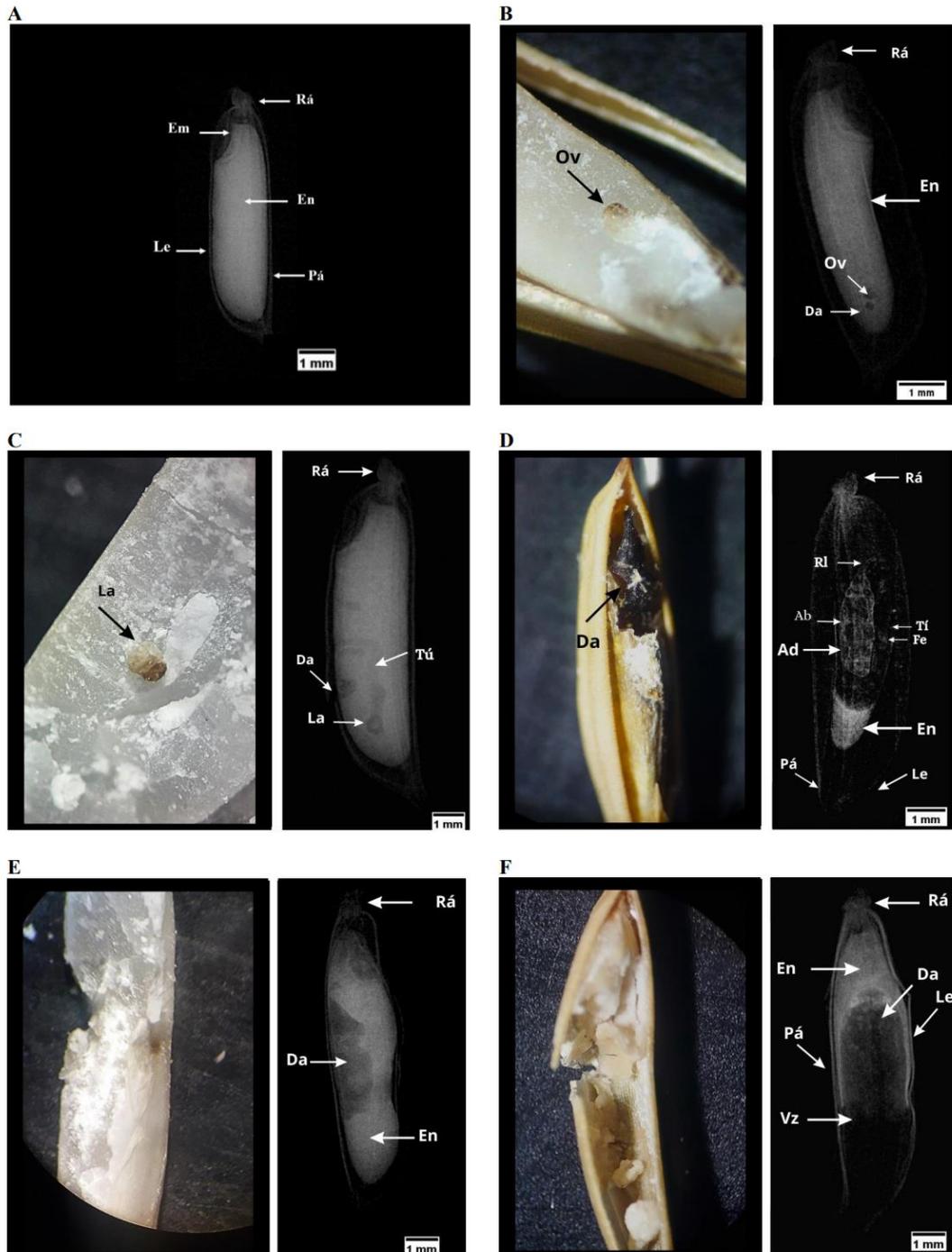
O corpo do adulto tem maior densidade, o que possibilitou a identificação do abdômen, além do rosto e das pernas do inseto (Figura 1D). Nesta etapa, a imagem pode ser afetada pela movimentação do adulto dentro da semente, o qual se movimenta para alcançar a região mais propícia para sua emergência (SHARIFI; MILLS, 1971; DOBIE, 1973).

Em sementes de milho, adultos de *S. zeamais*, foram observados na galeria formada pela larva, com tendência a situar-se próximo ao tegumento da semente (CARVALHO et al., 2019), além disso, o inseto é reconhecido por meio das manchas brancas ovaladas e a presença do rosto as quais são distinguíveis nas imagens radiográficas (Figura 1D).

A detecção dos danos iniciais na semente gerados pelo inseto é confusa e pode levar a interpretações e classificações equivocadas, podendo ser confundidas com o estágio de ovo ou os primeiros instares larvais (CHELLADURAI et al., 2014). A razão disso, é devido à característica própria do dano, onde se observa uma mancha arredondada escura que contrasta com os tons claros do endosperma e o embrião da semente (Figura 1), embora, em danos avançados verificaram-se manchas irregulares de maior tamanho e que afetam grande parte do endosperma (Figura 1 F).

A semente vazia diferencia-se da semente danificada por ser o resultado final do ciclo de desenvolvimento de *S. oryzae*, onde o inseto abandona a semente (LAZZARI; LAZZARI, 2012). Essas são identificadas por ter uma menor densidade, apresentando atenuações que contrastam com as sementes sadias, e também resíduos do endosperma ou embrião de forma definida, geralmente oval. Também a pálea e a lema podem estar ou não integradas à cariopse, além disso, é possível a identificação do local de emergência do inseto adulto, caracterizado pela ruptura do pericarpo e da pálea e lema (Figura 1F).

Figura 1 – Detecção dos estágios de desenvolvimento e caracterização dos danos de *Sitophilus oryzae* em sementes de arroz por meio do teste tradicional de exame de sementes infestadas e de raios X: **A)** Semente sadia; **B)** Ovo (Ov); **C)** Larva (La), túnel (Tú); **D)** Adulto (Ad); **E)** Dano gerado pelo inseto (Da); **F)** Vazia (Vz). Estrutura da semente: embrião (Em), endosperma (En), ráquila (Ra), lema (Le), pálea (Pá). Partes do adulto dentro da semente: abdômen (Ab), rostró (Rl), fêmur (Fe), tíbia (Tí).

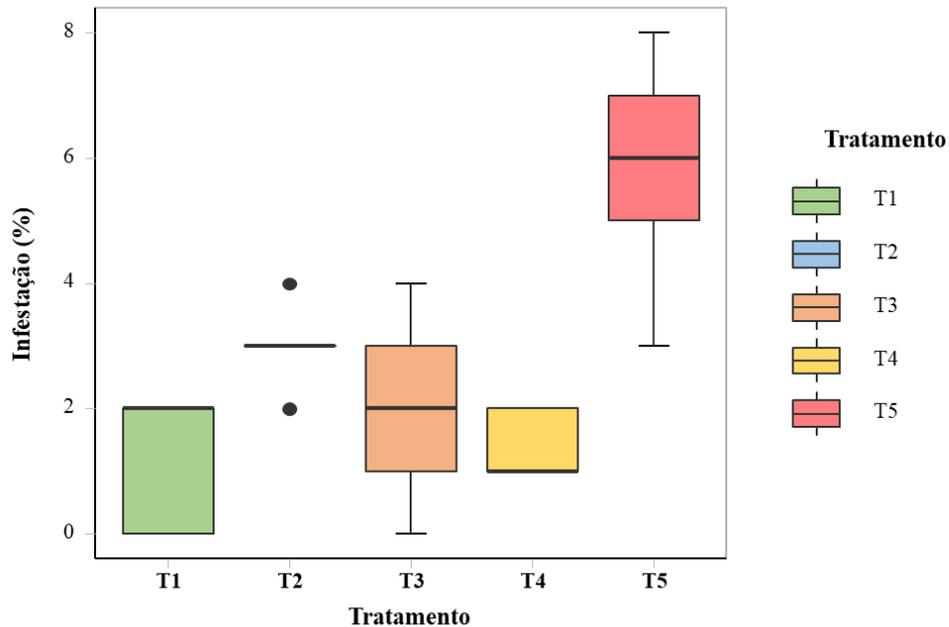


Fonte: Autor (2023).

A análise dos dados com uso do gráfico de *Box plot* (Figura 2), indicou que a infestação tem uma distribuição normal para os tratamentos T3 e T5, além de ausência de dados fora do padrão. A porcentagem de infestação detectada pelos raios X aos 5 dias após infestação (T1)

está na faixa de 0% até 2%. O T2, após 10 dias de instalação do experimento, não apresentou variação e a porcentagem de infestação foi de 3%. Referente ao T3, as porcentagens de infestação detectadas variaram entre 0% e 4% e em T4, com 30 dias após infestação, as porcentagens tiveram variações na faixa de 1 % a 2%, com uma mediana de 1%. No tratamento T5, a detecção da infestação pelos raios X foi a maior, com porcentagens de infestação entre 3% e 8% (Figura 2).

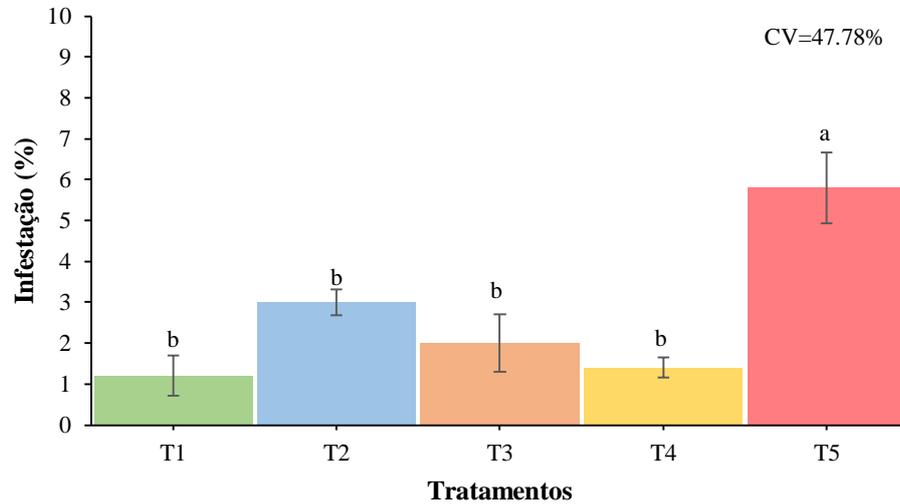
Figura 2 – Gráfico *Box plot* para a porcentagem de infestação de *Sitophilus oryzae* detectado pelos raios X em sementes de arroz nos tempos de avaliação. Tratamentos avaliados aos 5 (T1), 10 (T2), 20 (T3), 30 (T4) e 40 (T5) dias após a infestação.



Fonte: Autor (2023).

As porcentagens de infestação detectadas apresentaram diferenças estatísticas ($p < 0,05$) nos tratamentos avaliados, onde o tratamento T5, que apresentou o maior nível de infestação detectado (Figura 3). Isto possivelmente está relacionado com o maior tempo disponível para o acasalamento entre os adultos e para completar seu ciclo de vida, o qual pode compreender a faixa entre 25 e 49 dias (AKHTER et al., 2017; RITA DEVI et al., 2017; ASTUTI, 2019).

Figura 3 – Porcentagem de infestação de *Sitophilus oryzae* em sementes de arroz detectada pelas imagens radiográficas nos tratamentos avaliados. Letras diferentes acima das colunas, para cada avaliação, indicam diferenças significativas pelo teste do Tukey ($p < 0,05$). As barras representam o erro padrão. Tratamentos avaliados aos 5 (T1), 10 (T2), 20 (T3), 30 (T4) e 40 (T5) dias após a infestação.



Fonte: Autor (2023).

Em relação à porcentagem de ovos detectados nos tratamentos avaliados, não ocorreram diferenças significativas (Tabela 1), embora, em pesquisas semelhantes foi observada uma maior quantidade de ovos detectados ao longo do tempo (CARVALHO et al., 2019; FRANÇA-SILVA et al., 2020). Diferentes fatores interferem na oviposição dos gorgulhos como a temperatura, a umidade relativa, o teor de água da semente e a disponibilidade de oxigênio (HASAN et al., 2017; ARRAHMAN et al., 2022), assim como, a qualidade e quantidade do alimento, densidade populacional, relação entre macho:fêmea, idade dos insetos e quantidade de sementes infestadas (BHANDERI; RADADIA; PATEL, 2015; MAJD-MARANI et al., 2023).

Tabela 1 – Diferenças da porcentagem média \pm EP na detecção de estágios de desenvolvimento de *Sitophilus oryzae* em sementes de arroz e a identificação de sementes com danos ou vazias após infestação do gorgulho.

Tratamentos	Estágio de desenvolvimento (%)			Semente com dano (%)	
	Ovo	Larva	Adulto	Dano	Vazias
T1	0,8 \pm 0,37 a	0,0 \pm 0,00 b	0,0 \pm 0,00 b	0,4 \pm 0,25 a	0,0 \pm 0,00 b
T2	1,4 \pm 0,25 a	0,4 \pm 0,25 b	0,0 \pm 0,00 b	1,4 \pm 0,60 a	0,0 \pm 0,00 b
T3	0,6 \pm 0,25 a	0,0 \pm 0,00 b	0,0 \pm 0,00 b	1,4 \pm 0,60 a	0,0 \pm 0,00 b

T4	0,8 ± 0,37 a	0,4 ± 0,25 b	0,0 ± 0,00 b	0,4 ± 0,25 a	0,0 ± 0,00 b
T5	0,6 ± 0,25 a	2,0 ± 0,54 a	1,4 ± 0,60 a	0,8 ± 0,20 a	1,0 ± 0,32 a

Médias na coluna seguidos da mesma letra não são significativamente diferentes $p > 0.05$, determinadas pelo teste de Kruskal-Wallis (ANOVA não paramétrica). Tratamentos avaliados aos 5 (T1), 10 (T2), 20 (T3), 30 (T4) e 40 (T5) dias após a infestação. EP: erro padrão.

Fonte: Autor (2023).

A precisão da detecção aumenta com a idade e o tamanho atingido pela larva (CHELLADURAI et al., 2014). Neste trabalho, a quantidade de larvas detectadas foi maior no tratamento T5, em comparação com os demais tratamentos avaliados (Tabela 1). Isso pode ser devido ao maior tempo de infestação, o que proporciona a distinção e facilidade na identificação dos túneis gerados após a alimentação da larva (Tabela 1). Segundo Fornal et al., (2007) e Nawrocka et al., (2010), após 20 dias de infestação com *Sitophilus granarius* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Curculionidae) em sementes de trigo, as galerias e os espaços vazios foram características dominantes nas imagens de raios X, além de terem uma grande relação com o aumento do período de infestação e com o instar larval atingido.

No tratamento T1 não houve detecção de larvas cinco dias após infestação (Tabela 1), associada possivelmente às condições ambientais mantidas neste experimento durante o tempo de infestação. Temperaturas maiores a 25°C interferem no ciclo de desenvolvimento do gorgulho, reduzindo o tempo na eclosão das larvas (BHANDERI; RADADIA; PATEL, 2015), e o número de dias necessário para atingir cada instar larval (AKHTER et al., 2017). Além disso, variações na dieta de *S. oryzae* podem influenciar o seu ciclo de vida (OJO; OMOLOYE, 2016).

As características observadas nas imagens radiográficas associadas ao estágio de larva, orifícios redondos escuros com manchas brancas arredondadas, túneis alongados, largos e mais altos conforme o percurso da larva durante seu desenvolvimento dentro da semente, são semelhantes às descrições feitas para os gorgulhos na cultura de trigo (NAWROCKA; GRUNDAS; GRODEK, 2010), soja (CHELLADURAI et al., 2014), e milho (CARVALHO et al., 2019).

Ao final da fase larval, o gorgulho transforma-se em pupa dentro da semente e aproximadamente sete dias são necessários para a transformação em adulto pré-emergido (RITA DEVI et al., 2017). SHARIFI E MILLS no ano de 1971 observaram o comportamento do inseto adulto ao permanecer dentro da semente, mexendo-se por até aproximadamente 3

dias, até procurar o local mais fino para consumir e perfurar os tecidos para conseguir sair da semente e culminar seu ciclo de desenvolvimento.

O tratamento T5 foi o único onde se detectou adultos de *S. oryzae* (Tabela 1). Sua identificação pelos raios X foi possível em função da forma do adulto e do dano gerado na semente.

O adulto já emergido, com seu hábito alimentar do tipo mastigador, percorre a semente e utilizando sua mandíbula, situada na extremidade distal do rostro consome os tecidos da semente, perfurando a pálea e a lema, para no final consumindo os tecidos do pericarpo, tegumento, camada de aleurona até atingir o endosperma (PÉREZ et al., 2018). Os danos gerados pelos adultos foram detectados em todos os tratamentos avaliados, sem diferenças significativas pelo teste de Kruskal-Wallis ($p > 0,05$). No entanto, os tratamentos T2 e T3 apresentaram o maior número de sementes com danos (Tabela 1).

Sementes vazias foram observadas por meio das análises radiográficas só no tratamento T5 (Tabela 1), associado ao maior tempo disponível para seu ciclo de vida, o qual pode ter uma duração de até 49 dias, desde a oviposição até a emergência do adulto (SWAMY et al., 2014; OJO; OMOLOYE, 2016; ASTUTI, 2019). Túneis vazios localizados no centro de grãos de trigo foram observados em imagens radiográficas, após emergência do adulto, os quais apresentaram menor densidade nos tecidos quando comparados com aqueles grãos sadios ou com a presença de larva no seu interior (KARUNAKARAN; JAYAS; WHITE, 2003).

O uso do teste de raios X na detecção de insetos pragas, tem demonstrado o potencial desta ferramenta no auxílio na determinação da porcentagem de infestação, assim como, no aprimoramento na avaliação da qualidade sanitária em sementes de arroz. É de reconhecer que a detecção dos estágios de desenvolvimento variou conforme se aumentavam os tempos após infestação. Resultados semelhantes aos do presente estudo também foram obtidos por FRANÇA-SILVA et al. (2020) que ao analisarem sementes de trigo por meio de imagens radiográficas em diferentes períodos, foram capazes de identificar ovo, larva, pupa e sementes com dano por *Sitotroga cerealella* (Olivier 1789) (Lepidoptera: Gelechiidae).

Análises por meio de raios X têm a capacidade de reduzir o tempo de trabalho requerido para obter resultados, em comparação com o teste tradicional de infestação, onde é necessária a embebição das sementes durante 24 horas antes de realizar as análises (BRASIL, 2009). Além disso, os resultados apresentam repetibilidade, são confiáveis e de fácil execução, permitindo a detecção dos insetos em poucos segundos (MELO et al., 2010; RAHMAN; CHO, 2016), conseguindo assim, analisar uma amostra de um quilograma de sementes em 15 minutos (NEETHIRAJAN et al., 2007).

4 CONCLUSÕES

O uso de raios X permite a caracterização do ciclo de desenvolvimento do gorgulho-do-arroz com a identificação dos estágios de ovo, larva e adulto.

Os danos causados pela larva e inseto adulto de *Sitophilus oryzae* em sementes de arroz são caracterizados pela formação de túneis e consumo do endosperma e do embrião.

Sementes vazias de arroz e vestígios do endosperma, verificados em raios X são o resultado da finalização do ciclo de desenvolvimento do gorgulho, o que culmina com a saída do inseto adulto da semente.

REFERÊNCIAS

- AKHTER, M.; SULTANA, S.; AKTER, T.; BEGUM, S. Oviposition preference and development of rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Lin.) (Coleoptera: Curculionidae) in different stored grain. **Bangladesh Journal of Zoology**, v. 45, n. 2, p. 131–138, 2017.
- ARRAHMAN, A.; SEBAYANG, A.; JAMALUDDIN, F.; MIRZAM, H.; DJAENDDIN, N.; SURIANI; PAKKI, S.; SAENONG, S. Components of environment affecting the reproduction of powder beetle *Sitophilus zeamais* (Motsch.). **E3S Web of Conferences**, v. 361, 2022. doi: 10.1051/e3sconf/202236104025.
- ARKHIPOV, M. V.; PRIYATKIN, N. S.; GUSAKOVA, L. P.; POTRAKHOV, N. N.; GRYAZNOV, A. Y.; BESSONOV, V. B.; OBODOVSKII, A. V.; STAROVEROV, N. E. X-Ray computer methods for studying the structural integrity of seeds and their importance in modern seed science. **Technical Physics**, v. 64, n. 4, p. 582–592, 2019. doi: 10.1134/S1063784219040030.
- ASTUTI, L. P. Feeding Preference and development of *Sitophilus oryzae* L. on organic and inorganic rice cultivation. **Agrivita**, v. 41, n. 3, p. 561–568, 2019. doi: 10.17503/agrivita.v41i3.2362.
- BHANDERI, G. R.; RADADIA, G. G.; PATEL, D. R. Biology of rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Linnaeus) on stored sorghum. **Indian Journal of Entomology**, v. 77, n. 3, p. 307–310, 2015. doi: 10.5958/0974-8172.2015.00063.2.
- BRASIL. **Regras para análise de sementes**. MAPA/ACS, ed. Brasília: Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária., 2009.
- CAMPOS, A. C. T. de; PEREIRA, P. R. V. da S.; GALON, L.; MARSARO JÚNIOR, A.; LAU, D.; SCARPARO, A. P. **Danos causados em trigo armazenado por infestação de *Sitophilus oryzae* e de *Rhizopertha dominica***: Embrapa Trigo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Passo Fundo: Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2018, 2019.
- CARVALHO, M. L. M. de; LEITE, E. R.; CARVALHO, G. A.; FRANÇA-SILVA, F.; ANDRADE, D. B. de; MARQUES, E. R. The Compared efficiency of the traditional method, radiography without contrast and radiography with contrast in the determination of infestation by weevil (*Sitophilus zeamais*) in maize seeds. **Insects**, v. 10, n. 6, p. 1–9, 2019. doi: 10.3390/insects10060156.
- CHELLADURAI, V.; KARUPPIAH, K.; JAYAS, D. S.; FIELDS, P. G.; WHITE, N. D. G. Detection of *Callosobruchus maculatus* (F.) Infestation in soybean using soft x-ray and nir hyperspectral imaging techniques. **Journal of Stored Products Research**, v. 57, p. 43–48, 2014. doi: 10.1016/j.jspr.2013.12.005.
- DOBIE, P. An investigation into the use of an x-ray technique in the study of pre-emergent stages of *Sitophilus oryzae* (L.) Developing in manitoba wheat. **Journal of Stored Products Research**, v. 9, n. 1, p. 7–12, 1973. doi: 10.1016/0022-474X(73)90032-5.

- FINCH-SAVAGE, W. E.; BASSEL, G. W. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 3, p. 567–591, 2016. doi: 10.1093/jxb/erv490.
- FORNAL, J.; JELIŃSKI, T.; SADOWSKA, J.; GRUNDAS, S.; NAWROT, J.; NIEWIADA, A.; WARCHALEWSKI, J. R.; BŁASZCZAK, W. Detection of granary weevil *Sitophilus granarius* (L.) Eggs and internal stages in wheat grain using soft x-ray and image analysis. **Journal of Stored Products Research**, v. 43, n. 2, p. 142–148, 2007. doi: 10.1016/j.jspr.2006.02.003.
- FRANÇA-SILVA, F.; DE CARVALHO, M. L. M.; CARVALHO, G. A.; ANDRADE, D. de; SOUZA, V. F. de; MARQUES, E. R. Radiographic analysis to test maize seeds for the presence of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Seed Science and Technology**, v. 47, n. 3, p. 249–260, 2019. doi: 10.15258/sst.2019.47.3.02.
- FRANÇA-SILVA, F.; REGO, C. H. Q.; GOMES-JUNIOR, F. G.; BRANCAGLIONI, V. A.; HIRAI, W. Y.; RODRIGUES, D. B.; ALMEIDA, A. da S.; MARTINS, A. B. N.; TUNES, L. V. M. de. Determination of *Sitotroga Cerealella* infestation in wheat seeds by radiographic and multispectral images. **Agronomy Journal**, v. 112, n. 5, p. 3695–3703, 2020. doi: 10.1002/agj2.20327.
- GURU, P. N.; MRIDULA, D.; DUKARE, A. S.; GHODKI, B. M.; PASCHAPUR, A. U.; SAMAL, I.; NIKHIL RAJ, M.; PADALA, V. K.; RAJASHEKHAR, M.; SUBBANNA, A. R. N. S. **A Comprehensive review on advances in storage pest management: current scenario and future prospects**. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, v. 6, 2022. doi: 10.3389/fsufs.2022.993341.
- HASAN, M.-U.; ASLAM, A.; JAFIR, M.; WAJID, J. M.; SHEHZAD, M.; ZUBAIR, C. M.; AFTAB, M. Effect of temperature and relative humidity on development of *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 5, n. 6, p. 85–90, 2017.
- KARUNAKARAN, C.; JAYAS, D. S.; WHITE, N. D. G. Soft x-ray inspection of wheat kernels infested by *Sitophilus oryzae*. *Transactions of the ASAE*, v. 46, n. 3, p. 739–745, 2003.
- KARUNAKARAN, C.; JAYAS, D. S.; WHITE, N. D. G. Detection of internal wheat seed infestation by *Rhyzopertha dominica* using x-ray imaging. **Journal of Stored Products Research**, v. 40, n. 5, p. 507–516, 2004. doi: 10.1016/j.jspr.2003.06.003.
- KOTWALIWALE, N.; SINGH, K.; KALNE, A.; JHA, S. N.; SETH, N.; KAR, A. X-Ray Imaging methods for internal quality evaluation of agricultural produce. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 1, p. 1–15, 2011. doi: 10.1007/s13197-011-0485-y.
- LAZZARI, S. M. N.; LAZZARI, F. A. Insect pest in stored grain. In: PANIZZU, A.; PARRA, J. (Eds.). **Insect Bioecology and Nutrition for Integrated Pest Management**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2012. p. 417–450. 2012
- LORINI, I.; KRZYŻANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. de B.; HENNING, A. A.; HENNING, F. A. **Manejo Integrado de Pragas de Grãos e Sementes Armazenadas**. Brasília, DF: Embrapa, 2015.

MASUMA AKHTER, SHANJIDA SULTANA, T. A. and S. B. Oviposition preference and development of rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Lin.) (Coleoptera: Curculionidae) in different stored grain. **Bangladesh Journal of Zoology**, v. 45, n. 2, p. 131–138, 2017.

MAJD-MARANI, S.; NASERI, B.; HASSANPOUR, M.; RAZMJOU, J.; JALAEIAN, M. Life history and life table parameters of the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) fed on 10 rice cultivars and lines in Iran. **Journal of Stored Products Research**, v. 102, n. April, p. 102118, 2023. doi: 10.1016/j.jspr.2023.102118.

MELO, R. de A.; FORTI, V. A.; CICERO, S. M.; NOVEMBRE, A. D.; MELO, P. C. T. de. Use of x-ray to evaluate damage caused by weevils in cowpea seeds. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 472–476, 2010. doi: 10.1590/s0102-05362010000400016.

MILNER, M.; LEE, M. R.; KATZ, R.; MILNER, M. A. X. Radiography applied to grain and seeds. **Food Technology**, v. 6, n. 2, p. 44–45, 1952.

MUSAEV, F. B.; POTRAKHOV, N. N.; BELETSKIY, S. L. History and prospects of the application of x-ray in seed production and seed studies. **E3S Web of Conferences**, v. 224, 2020. doi: 10.1051/e3sconf/202022404035.

NAWROCKA, A.; GRUNDAS, S.; GRODEK, J. Losses caused by granary weevil larva in wheat grain using digital analysis of x-ray images. **International Agrophysics**, v. 24, n. 1, p. 63–68, 2010.

NEETHIRAJAN, S.; KARUNAKARAN, C.; JAYAS, D. S.; WHITE, N. D. G. Detection techniques for stored-product insects in grain. **Food Control**, v. 18, n. 2, p. 157–162, 2007. doi: 10.1016/j.foodcont.2005.09.008.

NIEWIADA, A.; NAWROT, J.; SZAFRANEK, J.; SZAFRANEK, B.; SYNAK, E.; JELEŃ, H.; WAŚOWICZ, E. Some factors affecting egg-laying of the granary weevil (*Sitophilus granarius* L.). **Journal of Stored Products Research**, v. 41, n. 5, p. 544–555, 2005. doi: 10.1016/j.jspr.2004.11.001.

OJO, J. A.; OMOLOYE, A. A. Development and life history of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) on cereal crops. **Advances in Agriculture**, v. 2016, p. 8, 2016. doi: 10.1155/2016/7836379.

PÉREZ, Y. R.; HERRERA, R.; CASTELLANOS, L. G.; JIMÉNEZ, R. *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) características, daños, reproducción y alternativas para su control. **Revista Científica Agroecosistemas**, v. 6, n. 3, p. 129–135, 2018.

R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna, Austria R Foundation for Statistical Computing, 2021.

RAHMAN, A.; CHO, B. K. Assessment of seed quality using non-destructive measurement techniques: A Review. **Seed Science Research**, v. 26, n. 4, p. 285–305, 2016. doi: 10.1017/S0960258516000234.

RITA DEVI, S.; THOMAS, A.; REBIJITH, K. B.; RAMAMURTHY, V. V. Biology, morphology and molecular characterization of *Sitophilus oryzae* and *S. zeamais* (Coleoptera:

- Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 73, p. 135–141, 2017. doi: 10.1016/j.jspr.2017.08.004.
- SHARIFI, S.; MILLS, R. B. Developmental activities and behavior of the rice weevil inside wheat kernels. **Journal of Economic Entomology**, v. 64, n. 5, p. 1114–1118, 1971. doi: 10.1093/jee/64.5.1114.
- SILVA, A. S.; CICERO, S. M.; DA SILVA, F. F.; GOMES-JUNIOR, F. G. X-ray, multispectral and chlorophyll fluorescence images: innovative methods for evaluating the physiological potential of rice seeds. **Journal of Seed Science**, v. 45, p. 1–16, 2023. doi: 10.1590/2317-1545v45257617.
- SILVA, C. B.; SILVA, A. A. N.; BARROSO, G.; YAMAMOTO, P. T.; ARTHUR, V.; TOLEDO, C. F. M.; MASTRANGELO, T. de A. Convolutional neural networks using enhanced radiographs for real-time detection of *Sitophilus zeamais* in maize grain. **Foods**, v. 10, n. 4, 2021. doi: 10.3390/foods10040879.
- SILVA, O. d.; WANDER, A. Caracterização e avaliação econômica do cultivo do arroz de terras altas no Planalto Central do Brasil. In: TÔSTO, S. G.; BELARMINO, L. C.; CASTRO, G. S. A. .; MANGABEIRA, J. A. DE C. .; SILVA, O. F. DA (Ed.). **Caracterização e avaliação econômica de sistemas de produção e cultivo de grãos em biomas brasileiros**. Brasília: Embrapa. p. 28–46, 2018.
- SRIVASTAVA, S.; MISHRA, G.; MISHRA, H. N. Application of an expert system of x-ray micro computed tomography imaging for identification of *Sitophilus oryzae* infestation in stored rice grains. **Pest Management Science**, v. 76, n. 3, p. 952–960, 2020. doi: 10.1002/ps.5603.
- SWAMY, K. C. N.; MUTTHURAJU, G. P.; JAGADEESH, E.; THIRUMALARAJU, G. T. Biology of *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera:Curculionidae) on stored maize grains. **Current Biotica**, v. 8, n. 1, p. 76–81, 2014.
- XIAOLONG, S.; XIAOJING, Y.; SHUIHONG, X.; HUI, L.; PALIWAL, J. Detection of the growth stage of rice weevil as a stored-grain pest based on soft x-ray imaging. **Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering**, v. 36, n. 18, p. 309–314, 2020. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2020.18.036.
- ZHOU, Y.; HUI, Y. B.; FENG, L. F.; ZHOU, T.; WANG, Q. A Method for reconstructing the internal morphological structure of wheat kernels upon *Sitophilus zeamais* infestation. **Journal of Stored Products Research**, v. 88, p. 101676, 2020. doi: 10.1016/j.jspr.2020.101676.
- ZONTA, B.; ABREU, G.; SANTIAGO, C.; NOGUEIRA, L. C.; FONTES, M.; MELO, P. A.; RODRIGUES, A. A. **Qualidade de sementes de arroz de produção e uso próprios por agricultores familiares no Estado do Maranhão**: Embrapa Cocais. Documentos. São Luís: Embrapa Cocais, 2022.

ARTIGO 2 – Qualidade fisiológica e composição centesimal de sementes de arroz infestadas por *Sitophilus* sp. (Coleoptera: Curculionidae)

(Artigo redigido conforme as normas do periódico Journal Seed of Science)

Rice seeds infested**Physiological quality and proximate composition of rice seeds infested
by *Sitophilus* sp. (Coleoptera: Curculionidae)**

Briceño-Pinzón, I.D^{1*} (<https://orcid.org/0000-0002-5896-3366>), Raquel Maria de
Oliveira Pires¹ (<https://orcid.org/0000-0003-1369-4323>), Geraldo Andrade
Carvalho² (<https://orcid.org/0000-0002-8379-8008>), Renata Tiemi
Nomada¹ (<https://orcid.org/0000-0002-3112-4802>)

ABSTRACT: Storage insect pests are responsible for qualitative and quantitative losses in seed lots, which can directly affect the physiological and sanitary quality of the seed, affecting its commercial value. The objective of this experiment was to analyze the physiological quality and proximate composition of rice seeds submitted to different levels of infestation with *Sitophilus* sp., through the use of radiographic images. For the detection of infestation and weevil development stages, 10 replicates of 100 seeds each were analyzed by X-ray test. Rice seeds under four levels of infestation with *Sitophilus* sp., 0%, 2%, 3% and 5 %, being T0, T1, T2 and T3, respectively, were evaluated for physiological quality and proximate composition, by tests of germination percentage, first germination count, electrical conductivity, emergence and emergence speed index, percentage of starch, protein crude, ethereal extract and crude fiber. Radiographic images were efficient in detecting of the infestation percentage and identification of the insect development stages, as well as seeds damaged by the insect and empty seeds. Statistical differences were observed in physiological evaluations between

¹ Department of Agriculture, Federal University of Lavras, UFLA, Caixa Postal 3037, 37200-900 - Lavras - MG, Brazil

² Department of Entomology, Federal University of Lavras, UFLA, Caixa Postal 3037, 37200-900 - Lavras - MG, Brazil, Brasil

* Author for mailing: ivan.pinzon1@estudante.ufla.br

infestation levels. In the proximate composition analyzes, no statistical differences were observed between the evaluated treatments. It is concluded that the radiographic test has great potential to be used in the detection of insect pests, as well as to evaluate the effects of the attack on the physiological quality of the rice seed.

Index terms: *Oryza sativa*, damages, rice weevil, X-rays, bromatological analysis.

RESUMO: Os insetos-praga do armazenamento são responsáveis por perdas qualitativas e quantitativas em lotes de sementes, que podem afetar diretamente na qualidade fisiológica e sanitária da semente, afetando seu valor comercial. O objetivo nesse experimento foi analisar a qualidade fisiológica e a composição centesimal de sementes de arroz submetidas a diferentes níveis de infestação com *Sitophilus* sp., por meio do uso de imagens radiográficas. Para a detecção da infestação e dos estágios de desenvolvimento do gorgulho, foram analisadas 10 repetições de 100 sementes cada pelo teste de raios X. Sementes de arroz sob quatro níveis de infestação com *Sitophilus* sp., 0%, 2%, 3% e 5%, sendo T0, T1, T2 e T3, respectivamente, foram avaliadas para qualidade fisiológica e composição centesimal, pelos testes de porcentagem de germinação, primeira contagem de germinação, condutividade elétrica, emergência e índice de velocidade de emergência, porcentagem de amido, proteína bruta, extrato etéreo e fibra bruta. As imagens radiográficas foram eficientes na detecção da porcentagem de infestação e na identificação dos estágios de desenvolvimento do inseto, assim como sementes danificadas pelo inseto e sementes vazias. Diferenças estatísticas foram observadas nas avaliações fisiológicas, entre os níveis de infestação. Nas análises de composição centesimal não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos avaliados. Conclui-se que o teste radiográfico apresenta grande potencial para ser usado na detecção dos insetos-praga, assim como para avaliar os efeitos do ataque na qualidade fisiológica da semente de arroz.

Termos para indexação: *Oryza sativa*, danos, gorgulho-do-arroz, raios X, análises bromatológicas.

Introduction

Rice (*Oryza sativa* L.) is one of the three most produced cereals in the world, along with wheat and corn, being considered as a fundamental supply in the diet of millions of people. In addition, it is considered as food as a good source of energy for its high content of carbohydrates, although it is important in providing proteins, lipids vitamin B and E (Zhou et al., 2020; Cassiano et al., 2021).

High rice productions are part of an agriculture that works together with mechanization, planting techniques, quality seed selection and integrated crop management (García et al., 2021).

Seed quality is evaluated according to physical, physiological, genetic and sanitary criteria, which determined the value, acceptance or rejection of seed lots. Standardized methodologies are used in the quality evaluation of a seed lot, obtaining representative results that guarantee the reliability in the seed input, to be commercialized (Brasil, 2009). It is known that superior yields in rice crop are products of the use of high quality seeds (Sahu et al., 2020).

During the storage stage, the quality and maintenance of seed viability must be ensured, since factors such as temperature, humidity, diseases and mainly uncontrolled pests can compromise the quality and marketing of seed lots, if they do not meet the minimum standards required by the commercialization (Brasil, 2013).

In Brazil, this stage of the production process is particularly important due to the tropical and subtropical climate conditions, with high temperatures and relative humidity that

are unfavorable to maintaining seed quality inside the warehouses. These two variables contribute to the increase of storage pests, which increases the respiratory and metabolic rate of seeds, causing important reductions in their ability to generate normal, vigorous seedlings quickly and uniformly (Costa et al., 2021; Guru et al., 2022).

Primary storage pests, such as weevils of the genus *Sitophilus* (Coleoptera: Curculionidae), attack the seed, perforating the outside to consume its interior; in addition, oviposit inside, to ensure food source for the larvae, as well as for the propagation and survival of the species (Bell, 2014; Lorini et al., 2015).

Pest infestations in seeds not only cause reduction in lot weight (Campos et al., 2019; Gowda et al., 2019), but also cause changes in physical appearance (discoloration) (Lazzari e Lazzari, 2012), reductions in germination percentage (Gerema et al., 2017), loss of nutrients (Saad et al., 2018), contamination by fungi and mycotoxins (Neme e Mohammed, 2017). In addition, the deterioration processes are related to the reduction of reserves, enzymatic changes, oxidation of fatty acids and accumulation of toxic substances such as aldehydes and phenolic compounds (Park et al., 2012).

Estimates of rice seed quality loss due to pest infestation are high. Thus, the early, rapid and accurate diagnosis of insect infestation in stored lots is a very important preliminary step, to avoid increases in the insect population, and to allow planning in seed storage management strategies (Atungulu et al., 2018; Guru et al., 2022).

Different methodologies have been developed for the detection of seed infestation levels by insects (Smiderle et al., 1998). Among the non-destructive methodologies, X-ray analysis has become important in seed analysis (Karunakaran and Jayas, 2014), with high accuracy and reduced subjectivity of the result (Silva et al., 2014, 2020).

Thus, the objective of this work was to analyze the physiological quality and chemical composition of rice seeds, submitted to different levels of infestation by *Sitophilus* sp., detected by the use of radiographic images.

Material and methods

The work was carried out at the Central Laboratory of Seed Research (LCPS) of the Department of Agriculture and Laboratory of Ecotoxicology and Integrated Pest Management (LEMIP) of the Department of Entomology and at the Central Laboratory of Animal Research of the Department of Zootechnics (DZO) of the Federal University of Lavras (UFLA).

The rice seeds of the cultivar BRS Esmeralda, infested with *Sitophilus* sp. developed by EMBRAPA Rice and Beans and were kept in storage under conditions of cold chamber at 10 ± 2 °C and RH de $50 \pm 5\%$.

To set up the experiment, the seeds were subjected to infestation analysis using the X-ray technique. For this, the seeds were collected at random and arranged in acrylic plates, placed on transparent double-sided adhesive tape for fixation and subsequent individual identification. Ten repetitions were formed, each consisting of 100 seeds.

The radiographic images were obtained with the FAXITRON X-Ray equipment, model MX-20 digital, with voltage adjustment to 30 kV and 19 seconds of exposure at a distance of 22.0 cm from the radiation source. A first analysis was made to identify seeds with the presence of the insect in the egg, larva, pupa and adult stages, as well as seeds with damage and empty seeds.

Being the non-destructive X-ray test, after being radiographed, the seeds were subjected to examination of infested seeds (damaged by insects) according to the methodology described in the Rules for seed analysis (RAS) (Brazil, 2009). For this, the seeds

were soaked in distilled water for 24 hours and then sectioned with scalpel to evaluate the presence of the stages of development of the weevil.

According to the results of the radiographic images and the confirmation by the traditional test, the results were expressed in percentage of infestation and percentage of seeds with egg, larva, pupa, adult, empty or with presence of damage caused by the weevil.

In determining the physiological quality of rice seeds after the infestation period, four treatments were defined according to the percentage of infestation of *Sitophilus* sp. where:

T0 - control, healthy seeds with 0% infestation;

T1 – 2% of seeds infested with weevil;

T2 – 3% of seeds infested with weevil;

T3 – 5% of seeds infested with weevil.

Then, the following physiological tests were performed:

Germination test (G%): four replications of 50 seeds per treatment were used, distributed in germitest paper roll moistened with distilled water in the proportion of 2.5 times the weight of the dry paper. The papers with the seeds were taken to the germination chamber regulated at 25 ± 2 °C. The count was done at 14 days after the beginning of the test (Brazil, 2009). The results were expressed in percentage of normal seedlings.

First germination count test (PC%): was made following the same methodology of the germination test, being determined the percentage of normal seedlings per repetition at five days after sowing (Brazil, 2009). *Emergency test*: was carried out in plastic trays with a substrate formed by mixing sand and soil in a 2:1 ratio. Four replicates of 50 seeds were sown for each treatment, which were kept in a plant growth chamber under temperature conditions of 25 ± 2 °C and a photoperiod of 12 h. The irrigation of the substrate was based on the water retention capacity of the substrate, keeping it at 70% of its capacity.

Emergency speed index (ESI): daily readings were taken after sowing, until the 21st day, when the emergency stabilized (Maguire, 1962).

Electrical conductivity test: was carried out using the mass method, in which 50 seeds per repetition of each treatment were weighed and then placed in containers with 50 mL of deionized water and left to soak for 24 hours in BOD at 25 °C. The evaluations were carried out using a bench conductivity meter (MS TecnoPan[®], model mcG-150). The results were expressed in $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ of seeds.

Bromatological analyses: was performed for the variable of crude protein, according to the Kjeldahl methodology, described by Aoac (1995) with the use of the nitrogen to crude protein conversion factor of 6.25. The percentage of starch was determined according to the methodology of (Hall, 2009). For the determination of the percent crude fiber and the ether extract, the methods for food analysis described by Detmann et al. (2021) were followed.

The data of infestation percentage and seeds with eggs, larvae, pupa, adult, empty, and seeds with physical damage caused by the insect were submitted to descriptive analysis. For the physiological and bromatological analyses, the experimental design was completely randomized (DIC), with four treatments and four replications. The data were submitted to the analysis of Shapiro-Wilk normality ($p>0.05$), homogeneity of Bartlett variance ($p>0.05$) and subsequently, the F test of the analysis of variance (ANOVA). For significant differences ($p<0.05$), mean comparisons were performed using the Tukey test at 5% significance. All analyses were performed with the statistical package Agricolae using the statistical software R Studio, version 4.1.1 (R Core Team, 2021).

Results and discussion

According to Figure 1, radiographic images allowed the observation and differentiation of the egg, larvae, pupa and adult stages of *Sitophilus* sp. Healthy seeds in radiographic images

have higher density, with white colors, and their main structures, such as endosperm, pallea, lemma, and rachile, were distinguishable and comparable to those of infested seeds (Figure 1A). The developmental stages of the insect differ from each other, although they have their own characteristics, which makes their distinction more precise (Carvalho et al., 2019; França-Silva et al., 2019).

The eggs were detected as round or oval dark spots with a small white spot, located mainly on the surface of the endosperm, (Figure 1B). The identification of this stage presented errors in detection (Chelladurai et al., 2014), due to variations in size and the different arrangement in the seed (Rita devi et al., 2017).

Larvae sizes varied depending on the instar, with larger larvae being observed in more advanced instars (Majd-Marani et al., 2023). It was possible to distinguish round spots delimited by the gallery, which is formed in the larval feeding process (Figure 1C).

The pupa stage (Figure 1D) is characterized by being the non-feeding stage, unlike the larva and the adult of the weevil. This developmental stage occurs inside the tunnel formed by the larva, the pupa changes color as it develops, but a yellowish-white coloration is observable (Bhanderi and Radadia; Patel, 2015; Le et al., 2018).

In the radiographic images, the oval shape of the pupa can be observed, with a body that is longer than it is wide and with a flattened base and apex. The pupa has lower density than the seed, being observed in darker shades, which facilitated its identification (Figure 1D). Its distinction from the adult was due to the non-observation of the face and legs.

The seeds with adults inside had lower density, with darker radiographic images, which contrasted with the remaining parts of the seed, especially the endosperm, in addition, it was possible to identify the parts of the adult, such as his face, legs, abdomen and thorax (Figure 1E).

Results of variations in gray intensity in radiographic images of wheat seeds infested with *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae), were observed for the developmental stages of this insect (França-Silva et al., 2020).

Figure 2 represents the average percentage of infestation and the average percentage of seeds with the presence of some of the development stages of the insect inside. The average infestation detected was 18% in the repetitions evaluated. In addition, it was possible to observe seeds with physical damage caused by insects, which at early levels showed rounded dark spots, while advanced levels exhibited irregular shapes throughout the endosperm (Figure 1F). These damages are related to the weevil's chewing-type feeding habits. (Campos et al., 2019; Majd-Marani et al., 2023).

The empty seeds were the result of the development cycle of *Sitophilus* sp. and were indicators of insect reproduction. Its presence was easily identifiable by radiographic images (Figure 1G), and in the present experiment, it was the highest percentage identified by X-rays (Figure 2).

In the box plot graph (Figure 3), the distribution of the weevil development stages detected by the radiographic images can be observed. The percentage data of seeds with larva and empty seeds showed a symmetric distribution. In seeds with presence of damage by the insect, the arrangement was negative asymmetric, with a greater variability of the percentages observed in the radiographic images. Seeds with the presence of egg and pupa presented a median of 1% of detected seeds for each stage. Finally, the seeds with the presence of adults, presented a median of 2%, with the maximum value of 3% of seeds detected.

Regarding the physiological quality of rice seeds, the tests showed significant differences ($p < 0.05$), in the different percentages of infestation. In the germination test, the

control T0 treatment, without infestation, had the highest average (78%), followed by seeds with infestation in the treatments T1, T2 e T3 which did not differ statistically between themselves (Figure 4A).

Limitations in seed germination capacity after infestation have been reported in different cultures. In sorghum seeds, it was possible to observe a reduction of up to 85% in germination under the attack of *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763) (Coleoptera: Curculionidae) (Gerema et al., 2017). For maize, the reductions were reported as the populations of *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae) and storage period (Caneppele et al., 2003; Costa et al., 2021).

The vigor tests are indicators of the ability of the seeds to originate normal seedlings, with rapid, uniform emergence, in addition to representing the storage potential of the seeds. (Marcos-Filho, 2020). In the evaluations carried out on rice seeds, under different levels of infestation, vigor decreased as the percentage of weevil infestation increased (Figure 4).

In the first germination count, the highest value was for the treatment without infestation, followed by the T2 treatment, and with the lowest values for the T2 and T3 treatments, (seeds infested with 3% infestation with the weevil and seeds infested with 5% of weevil infestation), respectively (Figure 4B).

Regarding the electrical conductivity test (Figure 4C), the four treatments showed significant differences among them ($p < 0.05$). T3, with the highest level of infestation, showed the highest value of electrical conductivity (EC), followed by treatments T1, T2 and T0, the latter with the lowest average. These results agree with the principles of the test, where high EC values are associated with greater membrane permeability, which leads to greater leaching of solutes, highlighting the process of seed deterioration when the infestation in greater proportions in the sample (Scariot et al., 2021). Similar values for EC were obtained for rice

seeds, infested by pests *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Bostrichidae) and *S. oryzae*, with a tendency to increase according to the extension of the storage stage (Smiderle et al., 1998).

In the emergence test, treatments T0, T1 and T2 showed the highest percentages of normal seedlings, compared to treatment T3 (Figure 4D). Similar data on seed quality reduction with increased level of infestation have been reported in rice, with reductions of about 60% in the formation of normal plants as infestation time increases (Smiderle et al., 1998). In maize seeds infested with *S. zeamis*, seedling emergence averages were observed after 60 days of infestation, less than 80% (Costa et al., 2021).

The IVE did not show significant differences ($p>0.05$) in the comparisons of the four different levels of infestation (Figure 4E).

High IVE values are indicators of high metabolic activity in seeds, which results in higher growth, rapid germination and emergence (Krzyzanowski et al., 2020). The non-significant differences ($p>0.05$) for IVE may be related to the vigor expression of those seeds not affected by insects. Generally, over time, the index tends to have lower values, as the population of insect pests present in the seed lot increases (Smiderle et al., 1998).

The physiological quality of rice seeds, as a function of weevil infestation percentages, was reduced. Quality reductions are related to the development cycle of *Sitophilus* sp. (Arrahman et al., 2022). The adult causes damage, since its mandible can break the shell of the seed to feed on the endosperm, in addition, the female makes its oviposition inside the seed, and after hatching, the larva feeds on the inner part of the seed (Lazzari and Lazzari, 2012; Bell, 2014), being able to reach the endosperm and the embryo, compromising the integrity of the seed, which can increase losses by up to 40% during storage (Pumnuan et al., 2022).

In the analyzes carried out regarding the chemical composition of rice seeds with different levels of infestation, no statistically significant differences ($p>0.05$) were observed in the variables protein, starch, crude fiber and ether extract (Figure 5), which, in general, are within the range of chemical composition reported for rice seeds (Kaur and Asthir, 2021).

According to Lazzari and Lazzari (2012), storage insect pests feed directly on the seeds, causing weight loss, reduction of germination potential, chemical composition and, consequently, the economic value of the seed lot.

Variable results have been reported for wheat infested by *Trogoderma granarium* (Everts, 1898) (Coleoptera: Dermestidae), where some cultivars showed no differences for carbohydrates, protein, fiber and fat (Ahmedani et al., 2009). In addition, Keskin and Ozkaya (2015), infesting wheat seeds with *S. granarius* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Curculionidae) did not observe differences in protein and fat content in the first months of evaluation.

Antunes et al. (2011) obtained reductions in the percentage of the ether extract, as the increase of the days of infestation with *S. zeamais* in corn seeds.

During storage, the seeds may undergo changes in metabolic level, which result in increased respiratory rate of the seed (Caneppele et al., 2003). This increase leads to changes in environmental conditions at the storage site, resulting from exchanges of heat and moisture, which favors the population growth of insects (Lazzari and Lazzari, 2012).

Increase in crude protein concentration was reported for wheat seeds infested with *S. zeamais*, associated mainly with the presence of dead insects, wings, legs and other parts of the body of insects (Saad et al., 2018). In wheat increases in protein content were observed in varieties infested with *Sitophilus granarius* (L.) (Keskin and Ozkaya, 2015).

In addition, there are factors in processing that can change the concentration of crude protein, such as high temperatures during the drying process, which, in addition to affecting

the physiological quality of the seed (Menezes et al., 2012), allow for internal cracking, rupture integuments and bark defects. These factors lead to an increase in the number of broken seeds and the susceptibility of insect-pest attacks, which ensures the reproduction and survival of insects within the seed lot (Sousa et al., 2010; Costa et al., 2016).

Regarding starch, it represents around 70% of the dry matter of the rice endosperm (Walter et al., 2008). The percentage of starch in T0 (70.71%) was similar to the other treatments, although its average was 11% higher than the average of the other treatments (Figure 5B). Similar results were verified by Saad et al. (2018), who found average reductions above 5% in carbohydrates for wheat seeds infested by *S. zeamis* and 2% in seeds attacked by *R. dominica*. A possible explanation for this reduction is related to the consumption of the endosperm during the larval instars of the insect, which can significantly reduce the total content of the seed. (Lazzari and Lazzari, 2012).

Ensuring rice seed quality requires innumerable efforts at each stage of the production process. New technologies are emerging as tools that help in decision making, reducing subjectivity and imprecision due to human error.

In the present work, the methodology involving the use of X-rays showed great potential in detecting insect pests that complete their development cycle inside the seed. This technique allowed the evaluation of percentages of infestation and, in this way, the information obtained will contribute to the process of maintaining the physiological and sanitary quality of rice seeds.

Conclusions

The radiographic images allow the quantification of the percentage of *Sitophilus* sp. infestation in the rice seeds of the BRS Esmeralda cultivar and the detection of the

development stages of this insect inside them. Its use, allowed the reduction of the evaluation time of the seeds in comparison to the traditional analysis test of infested seeds.

The physiological quality of rice seeds is negatively affected due to the higher level of infestation of *Sitophilus* sp., although the evaluated infestation levels did not affect the chemical composition of the seeds.

Acknowledgments

To the seed sector and the Central Seed Research Laboratory (LCPS) of the UFLA Department of Agriculture, the Laboratory of Ecotoxicology and Integrated Pest Management (LEMIP) of the Entomology Department, the Central Animal Research Laboratory of the Animal Science Department (DZO), to the Research Group on Genetic Improvement of Highland Rice – MelhorArroz of the Federal University of Lavras.

This work was carried out with the support of Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

References

- AHMEDANI, M.S.; HAQUE, M.I.; AFZAL, S.N.; ASLAM, M.; NAZ, S. Varietal changes in nutritional composition of wheat kernel (*Triticum aestivum* L.) caused by khapra beetle infestation. *Pakistan Journal of Botany*, v. 41, n.3, p.1511–1519, 2009.
- ANTUNES, L. E. G.; VIEBRANTZ, P. C.; GOTTARDI, R.; DIONELLO, R. G. Physicochemical characteristics of corn damaged by *Sitophilus zeamais* during Storage. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 15, n.6, p.615–620, 2011. doi: 10.1590/S1415-43662011000600012.
- ARRAHMAN, A.; SEBAYANG, A.; JAMALUDDIN, F.; MIRZAM, H.; DJAENDDIN, N.; SURIANI; PAKKI, S.; SAENONG, S. Components of environment affecting the reproduction of powder beetle *Sitophilus zeamais* (Motsch.). *E3S Web of Conferences*, v. 361, 2022. doi: 10.1051/e3sconf/202236104025.
- AOAC. *Association of Official Analytical Chemist*. 16 th ed. Washington, D.C: Official methods of analysis., 1995.
- ATUNGULU, G.G.; KOLB, R.E.; KARCHER, J.; SHAD, Z.M. Postharvest technology: Rice storage and cooling conservation. In: BAO, J. (Ed.). *Rice: Chemistry and Technology*. Fourth Edi ed. [s.l.]

AACC International Press, 2018. p.517–555. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811508-4.00016-2>

BELL, C. H. Food Safety Assurance Systems: Infestation Management in Food Production Premises. In: MOTARJEMI, Y. (Ed.). *Encyclopedia of Food Safety*. Academic Press, 2014. p.189–200. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-378612-8.00354-1>

BHANDERI, G. R.; RADADIA, G. G.; PATEL, D. R. Biology of rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Linnaeus) on stored sorghum. *Indian Journal of Entomology*, v.77, n.3, p.307-310, 2015. doi: 10.5958/0974-8172.2015.00063.2.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para Análise de Sementes*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399p. http://https://www.gov.br/agricultura/ptbr/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise_sementes.pdf

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa nº 45, de 17 de setembro de 2013*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, DF: Gabinete do Ministro, 2013. 22p. https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/copy_of_INN45de17desetembrede2013.pdf

CAMPOS, A. C. T.; PEREIRA, P. R. V. S.; GALON, L.; MARSARO JÚNIOR, A.; LAU, D.; SCARPARO, A. P. Danos causados em trigo armazenado por infestação de *Sitophilus oryzae* e de *Rhyzopertha dominica*. In: *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Outubro/2019*. Passo Fundo, 2019. p.27. (Embrapa trigo. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*, nº 93)

CANEPPELE, M. A. B.; CANEPPELE, C.; LÁZZARI, F. A.; LÁZZARI, S. M. N. Correlation between the infestation level of *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera, Curculionidae) and the quality factors of stored corn, *Zea mays* L. (Poaceae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v.47, n.4, p.625–630, 2003. doi: 10.1590/s0085-56262003000400015.

CARVALHO, M. L. M.; LEITE, E. R.; CARVALHO, G. A.; FRANÇA-SILVA, F.; ANDRADE, D. B.; MARQUES, E. R. The compared efficiency of the traditional method, radiography without contrast and radiography with contrast in the determination of infestation by weevil (*Sitophilus zeamais*) in maize seeds. *Insects*, v.10, n.6, p.1–9, 2019. doi: 10.3390/insects10060156.

CASSIANO, C. V.; PEREIRA, P.S.; MORAIS, A. A.; NASCIMENTO, W. M. Determinação de alterações morfológicas durante a maturação de sementes de melão com uso de Raios X. *Revista Agraria Acadêmica*, v.4, n.2, p.21–28, 2021. doi: 10.32406/v4n2/2021/21-28/agrariacad.

CHELLADURAI, V.; KARUPPIAH, K.; JAYAS, D. S.; FIELDS, P. G.; WHITE, N. D. G. Detection of *Callosobruchus maculatus* (F.) Infestation in soybean using soft x-ray and NIR hyperspectral imaging techniques. *Journal of Stored Products Research*, v.57, p.43–48, 2014. doi: 10.1016/j.jspr.2013.12.005.

COSTA, D. C. D. S.; ALMEIDA, A. C. D. S.; ARAÚJO, M. D. S.; HEINRICH, E. A.; LACERDA, M. C.; BARRIGOSI, J. A. F.; JESUS, F. G. De. Resistance of rice varieties to *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Florida Entomologist*, v.99, n.4, p.769–773, 2016. doi: 10.1653/024.099.0432.

COSTA, L. O.; MARQUES, S. C.; PEREIRA, R. R. C.; PEREIRA, C. E. Storage of corn seeds infested by weevil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.88, p. 1–8, 2021. doi: 10.1590/1808-1657000572020.

DETMANN, E.; SILVA, L. F.; ROCHA, G.; PALMA, M.; RODRIGUES, J. (ed.). Métodos para análises de Alimentos. 2. ed. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2021. 350p.

FRANÇA-SILVA, F.; CARVALHO, M. L. M.; CARVALHO, G. A.; ANDRADE, D. ; SOUZA, V. F. de; MARQUES, E. R. Radiographic analysis to test maize seeds for the presence of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Seed Science and Technology*, v.47, n.3, p.249–260, 2019. doi: 10.15258/sst.2019.47.3.02.

FRANÇA-SILVA, F.; REGO, C. H. Q.; GOMES-JUNIOR, F. G.; BRANCAGLIONI, V. A.; HIRAI, W. Y.; RODRIGUES, D. B.; ALMEIDA, A. S.; MARTINS, A. B. N.; TUNES, L. V. M. de. Determination of *Sitotroga cerealella* infestation in wheat seeds by radiographic and multispectral images. *Agronomy Journal*, v.112, n.5, p.3695–3703, 2020. doi: 10.1002/agj2.20327.

GARCÍA, R. R.; GIANNETTI, B. F.; AGOSTINHO, F.; ALMEIDA, C. M. V. B.; SEVEGNANI, F.; PARRA PÉREZ, K. M.; VELÁSQUEZ, L. Assessing the sustainability of rice production in Brazil and Cuba. *Journal of Agriculture and Food Research*, v.4, n.april, p.100152, 2021. doi: 10.1016/j.jafr.2021.100152.

GEREMA, G.; BOGALO, T.; MANGITSU, G.; LULE, D. Resistance of sorghum genotypes to the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L) (Coleoptera: Curculionidae). *International Journal of Food science and Technology*, v.7, n.1, p.1–10, 2017.

GOWDA, G. B.; PATIL, N. B.; ADAK, T.; PANDI, G. P.; BASAK, N.; DHALI, K.; ANNAMALAI, M.; PRASANTHI, G.; MOHAPATRA, S. D.; JENA, M.; POKHARE, S.; RATH, P. C. Physico-chemical characteristics of rice (*Oryza sativa* L.) grain imparting resistance and their association with development of rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera:Curculionidae). *Environmental Sustainability*, v. 2, n.4, p.369–379, 2019. doi: 10.1007/s42398-019-00087-9

GURU, P. N.; MRIDULA, D.; DUKARE, A. S.; GHODKI, B. M.; PASCHAPUR, A. U.; SAMAL, I.; NIKHIL RAJ, M.; PADALA, V. K.; RAJASHEKHAR, M.; SUBBANNA, A. R. N. S. A comprehensive review on advances in storage pest management: current scenario and future prospects. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, v.6, 2022. doi: 10.3389/fsufs.2022.993341.

HALL, M. B. Analysis of starch, including maltooligosaccharides, in animal feeds: a comparison of methods and a recommended method for AOAC collaborative study. *Journal of AOAC International*, v.92, n.1, p.42–49, 2009.

KARUNAKARAN, C.; JAYAS, D. S. X-ray Imaging. In: MANICKAVASAGAN, A.; JAYASURIYA, H. (Eds.). *Imaging with electromagnetic spectrum*. Heidelberg, Springer Berlin, 2014. p. 33–55.

- KAUR, M.; ASTHIR, B. Characterization of biochemical and proximate composition in rice grains as influenced by germination. *Cereal Research Communications*, v.49, n.2, p.291–299, 2021. doi: 10.1007/s42976-020-00101-5.
- KESKIN, S.; OZKAYA, H. Effect of storage and insect infestation on the technological properties of wheat. *CYTA - Journal of Food*, v.13, n.1, p.134–139, 2015. doi: 10.1080/19476337.2014.919962.
- KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. de B.; GOMES-JUNIOR, F. G.; NAKAGAWA, J. Teste de Vigor baseados em desempenho de plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R.; FRANÇA-NETO, J. DE B.; MARCOS-FILHO, J. (Eds.). *Vigor de Sementes: Conceitos e Testes*. Londrina: ABRATES, 2020. p. 79–140. 2020.
- LAZZARI, S. M. N.; LAZZARI, F. A. Insect pest in stored grain. In: PANIZZI, A.; PARRA, J. (Eds.). *Insect Bioecology and Nutrition for Integrated Pest Management*. Boca Raton: Taylor & Francis, 2012. p. 417–450.
- LE, J.; DIANXUAN, W.; CHAO, Z.; RUIJIE, Z.; FANGFANG, Z. The sizes of *Sitophilus zeamais* in different life stage. *Grain & Oil Science and Technology*, v.1, n.4, p.163–170, 2018. doi: 10.3724/sp.j.1447.gost.2018.18054.
- LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. de B.; HENNING, A. A.; HENNING, F. A. Manejo Integrado de Pragas de Grãos e Sementes Armazenadas. Brasília, DF: Embrapa, 2015. 86p.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, v.2, p.176–177, 1962. doi: <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>.
- MAJD-MARANI, S.; NASERI, B.; HASSANPOUR, M.; RAZMJOU, J.; JALAEIAN, M. Life History and Life Table Parameters of the Rice Weevil, *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) Fed on 10 Rice Cultivars and Lines in Iran. *Journal of Stored Products Research*, v.102, p. 102118, 2023. doi: 10.1016/j.jspr.2023.102118.
- MARCOS-FILHO, J. Teste de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. DE B.; MARCOS-FILHO, J. (Eds.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, 2020. p.17–77.
- MASON, L. J.; MCDONOUGH, M. Biology, behavior, and ecology of stored grain and legume insects. In: HAGSTRUM, D. W.; PHILLIPS, T. W.; CUPERUS, G. (Eds.). *Stored Product Protection*. Manhattan, KS: Kansas State University, 2012. p.7–20.
- MENEZES, N. L. de; PASQUALLI, L. L.; BARBIERI, A. P. P.; VIDAL, M. D.; CONCEIÇÃO, G. M. Temperaturas de secagem na integridade física, qualidade fisiológica e composição química de sementes de arroz. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v.42, n.4, p.430–436, 2012. doi: 10.1590/S1983-40632012000400011.

NEME, K.; MOHAMMED, A. Mycotoxin occurrence in grains and the role of postharvest management as a mitigation strategy. A Review. *Food Control*, v.78, p.412–425, 2017. doi: 10.1016/j.foodcont.2017.03.012.

OJO, J. A.; OMOLOYE, A. A. Development and life history of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) on cereal crops. *Advances in Agriculture*, v.2016, 2016. doi: 10.1155/2016/7836379.

PARK, C. E.; KIM, Y. S.; PARK, K. J.; KIM, B. K. Changes in physicochemical characteristics of rice during storage at different temperatures. *Journal of Stored Products Research*, v.48, p.25–29, 2012. doi: 10.1016/j.jspr.2011.08.005.

PUMNUAN, J.; NAMEE, D.; SARAPOTHONG, K.; DOUNGNAPA, T.; PHUTPHAT, S.; PATTAMADILOK, C.; THIPMANEE, K. Insecticidal activities of long pepper (*Piper retrofractum* Vahl) fruit extracts against seed beetles (*Callosobruchus maculatus* Fabricius, *Callosobruchus chinensis* Linnaeus, and *Sitophilus zeamais* Motschulsky) and their effects on seed germination. *Heliyon*, v.8, n.12, p.e12589, 2022. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e12589

R CORE TEAM. R Development Core Team. R: a language and environment for statistical computing. 2018. Available at: [https:// www.r-project.org/](https://www.r-project.org/)

RITA DEVI, S.; THOMAS, A.; REBIJITH, K. B.; RAMAMURTHY, V. V. Biology, morphology and molecular characterization of *Sitophilus oryzae* and *S. zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*, v.73, p.135–141, 2017. doi: 10.1016/j.jspr.2017.08.004.

SAAD, A. S. A.; TAYEB, E. H. M.; EL-SHAZLI, M. M.; BAHEEG, S. A. Susceptibility of certain egyptian and imported wheat cultivars to infestation by *Sitophilus oryzae* and *Rhyzopertha dominica*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, v.51, n.1–2, p.14–29, 2018. doi: 10.1080/03235408.2018.1438779.

SAHU, R.; PATNAIK, S.; SAH, R. *Quality seed production in rice: NRRRI Research Bulletin*. Cutuack: ICAR-National Rice Research Institute, 2020. 67p.

SCARIOT, M. A.; SOARES, G. C.; RADÜNZ, L. L.; DIONELLO, R. G. Physical and physiological quality of rice seeds in function of drying temperature and storage. *Revista Ceres*, v.68, n.1, p.31–38, 2021. doi: 10.1590/0034-737x202168010004.

SILVA, J. A.; MEDEIROS, A. D.; PEREIRA, M. D.; RAMOS, A. K. F.; DA SILVA, L. J. Seed quality analysis of *Senna siamea* Lam. using image analysis techniques. *Journal of Seed Science*, v.42, p.1–10, 2020. doi: 10.1590/2317-1545v42241633.

SILVA, V. N.; ARRUDA, N.; CICERO, S. M.; ALBERTO, C. M.; GIACOMELI, R. Morfologia interna e germinação de sementes de arroz de terras baixas produzidas em diferentes regimes hídricos. *Irriga*, v.19, n.3, p.453–463, 2014. doi: 10.15809/irriga.2014v19n3p453.

SMIDERLE, O.; SANTOS FILHO, B. dos; SANTOS, D. dos; LOECK, A. E.; SILVA, J. da. Qualidade fisiológica de sementes de arroz, submetidas ao ataque de insetos durante o armazenamento. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, v.33, n.8, 1998.

SOUSA, J. R.; BARRIGOSI, J. A. F.; BOIÇA JÚNIOR, A. L.; GONÇALVES, K. K. M.; TORRES, É. R. S.; MONDEGO, J. M. Avaliação de resistência em variedades de Arroz (*Oryza sativa* L.) ao ataque do *Sitophilus oryzae* Linnaeus, 1763 (Coleoptera: Curculionidae). *Nucleus*, v.7, n.1, p.259–265, 2010. doi: 10.3738/1982.2278-314.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; DE AVILA, L. A. Arroz: composição e características nutricionais. *Ciência Rural*, v.38, n.4, p.1184–1192, 2008. doi: 10.1590/s0103-84782008000400049.

ZHOU, H.; XIA, D.; HE, Y. Rice grain quality—traditional traits for high quality rice and health-plus substances. *Molecular Breeding*, v.40, n.1,2020. doi: 10.1007/s11032-019-1080-6.

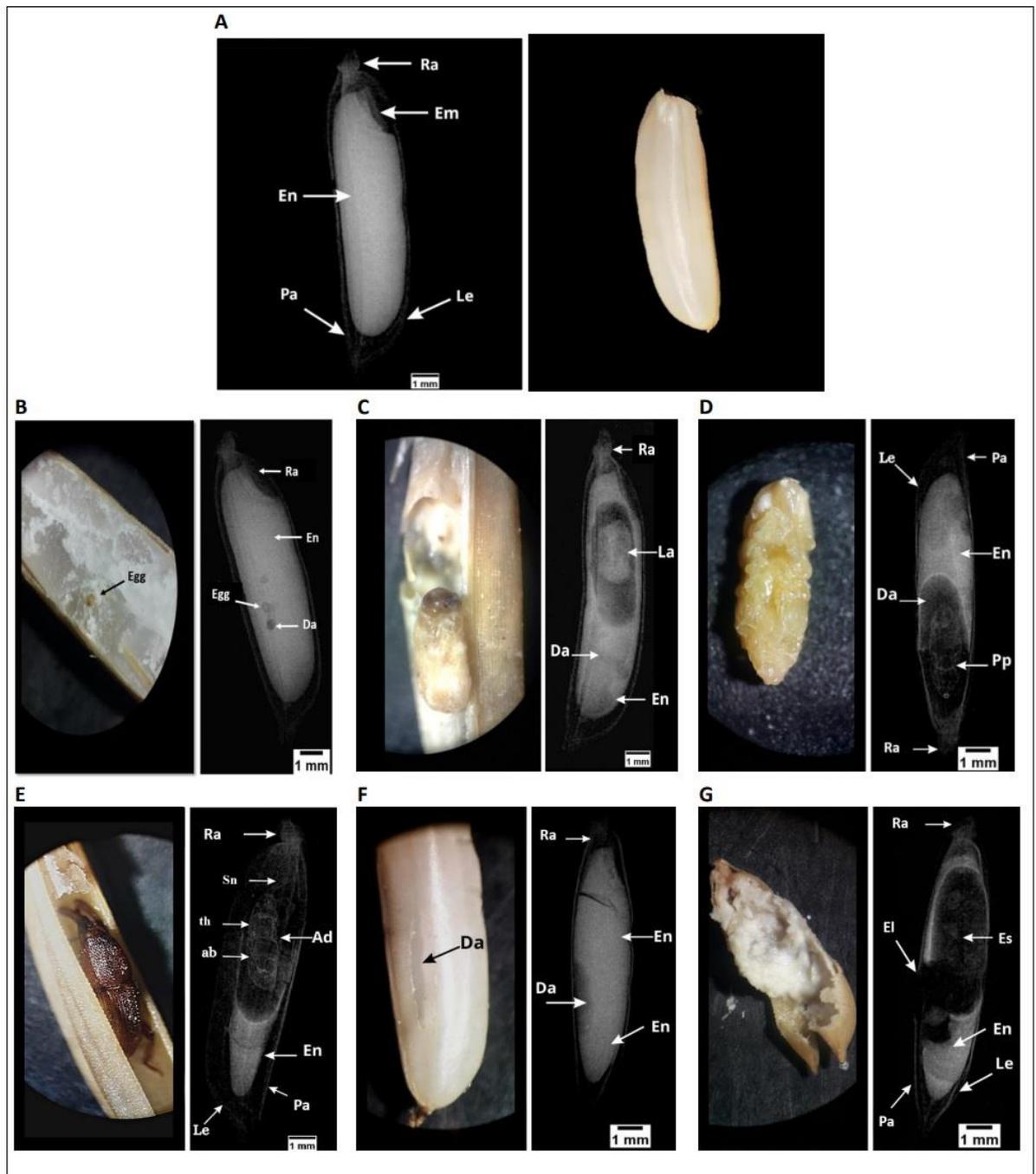


Figure 1. Stages of development and characterization of damage of *Sitophilus* sp. in rice seeds, by traditional test and radiographic images: Healthy seed (A); Egg (B); (C) Larvae (La); (D) Pupae (Pp); (E) Adult (Ad); (F) Insect damage (Da); (G) Empty seed (Es), Exit location (El). seed structure: Embryon (Em); Endosperm (En), Rachilla (Ra), Lemma (Le), and Palea (Pa). Parts of the adult inside the seed: Snout (Sn), abdomen (ab) and thorax (Th).

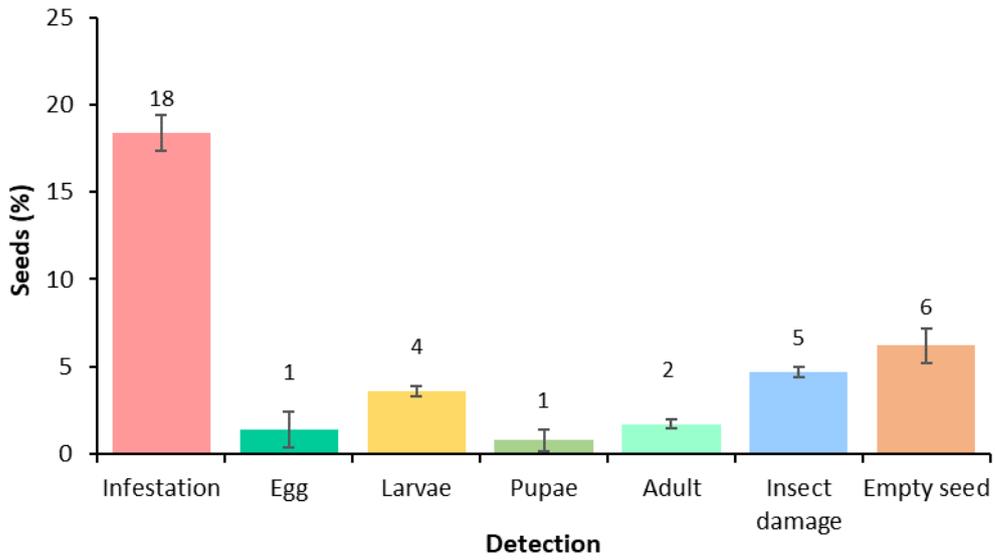


Figure 2. Average percentage of infestation and seeds with egg, larvae, pupae e adult of *Sitophilus* sp., detected by radiographic images for rice seeds. Also presented are the average percentages of seeds with physical damage generated by the insect (only damage and empty seeds).

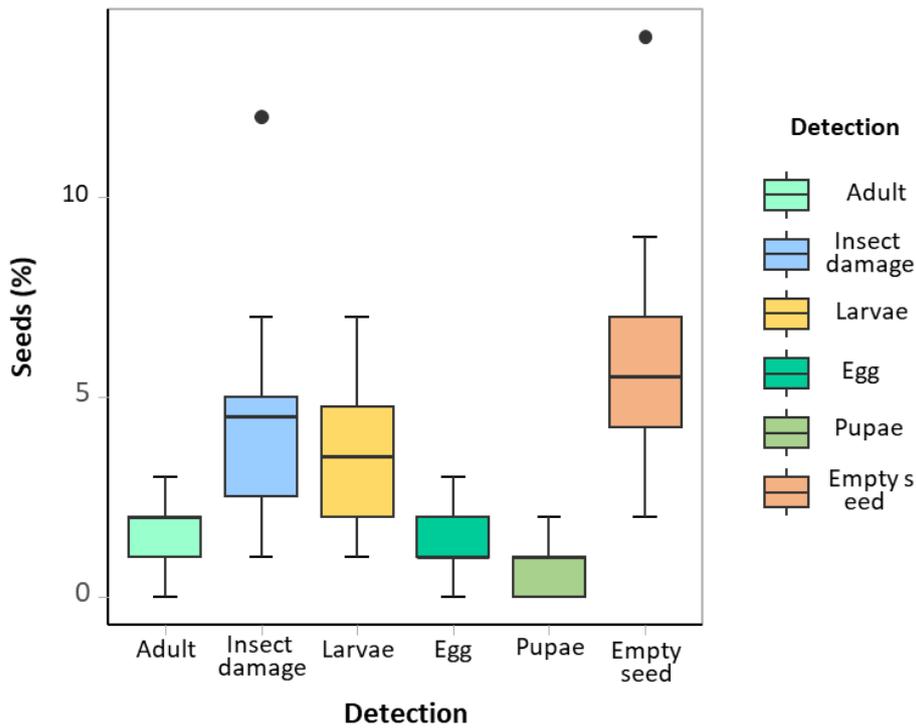


Figure 3. Box plot diagram for the percentage of seeds detected with the developmental stages of *Sitophilus* sp., by radiographic images in rice seeds. Box plots show the median plus lower and upper quartiles of detection percentage for different stages. The minimum and maximum values are indicated by the lower and upper limits. The black dots are the outliers.

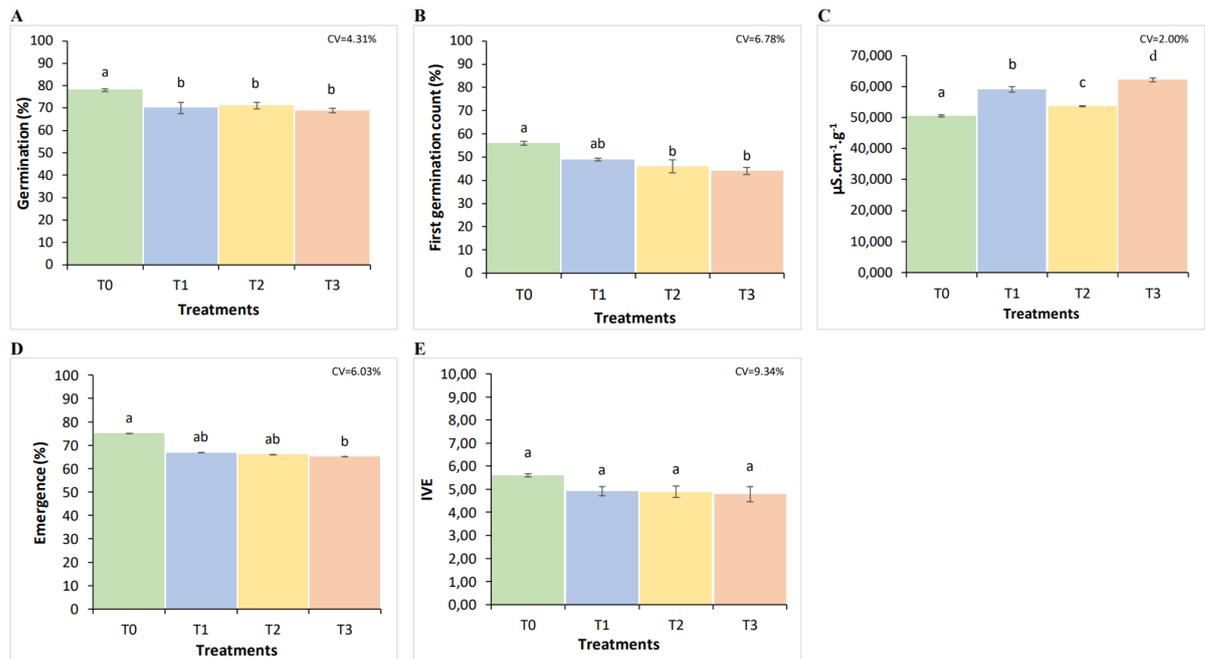


Figure 4. Germination (A), First count (B), Electrical conductivity (C), Emergence (D), Emergence speed index (E) of infestation treatments with *Sitophilus* sp. for the rice cultivar BRS Esmeralda. Different letters above the columns, for each assessment, indicate significant differences by Tukey's test ($p < 0.05$). The bars represent the standard error. Treatments: T0 control, healthy seeds with 0% infestation; T1– 2% weevil infested seeds; T2– 3% weevil infested seeds and T3– 5% weevil infested seeds.

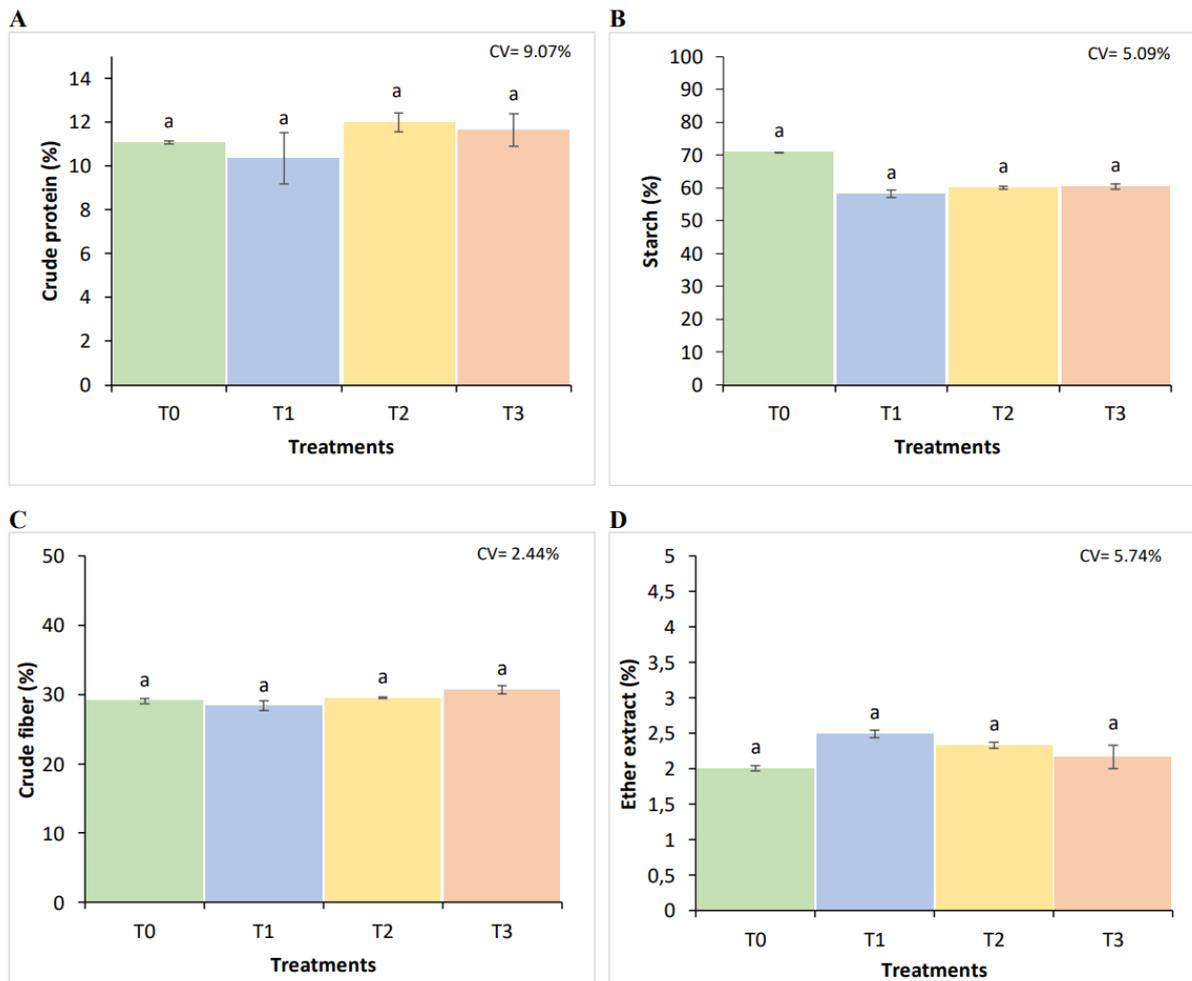


Figure 5. Mean percentages of variables for rice seeds by chemical analysis: Protein (A), Starch (B), Crude fiber (C) and Etheral extract (D), for treatments with different levels of infestation with *Sitophilus* sp. Different letters above the columns, for each assessment, indicate significant differences by Tukey's test ($p < 0.05$). Bars represent standard error. Treatments: T0 – control, healthy seeds with 0% infestation; T1– 2% weevil infested seeds; T2, 3% weevil infested seeds and T3 – 5% weevil infested seeds.

ARTIGO 3 – Análises de imagens radiográficas em sementes de arroz infestadas pelo gorgulho-do-arroz *Sitophilus oryzae*

(Artigo redigido conforme a norma para publicação periódica científica NBR 6022 (ABNT, 2018))

RESUMO

O método de raios X acrescido de ferramentas de análise de imagem, tem sido utilizado na avaliação das estruturas internas das sementes, correlacionando-as com a qualidade física, fisiológica e sanitária, com resultados significativos e precisos. O objetivo deste trabalho foi analisar sementes de arroz infestadas com *Sitophilus oryzae* (Linnaeus) (Coleoptera: Curculionidae) por meio de análises de imagens radiográficas e de microscopia eletrônica de varredura. Para tal, amostras de 400 g de sementes sadias de arroz das cultivares C1 (P85-15-CNA), C2 (CMG-1590) e C3 (OBS 1819), foram colocadas em recipientes de vidro. Em cada pote 50 insetos adultos de *S. oryzae* foram inseridos. Para tal, amostras foram deixadas durante 90 dias para infestação em sala climatizada à $25^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e UR 60% e escotofase de 24h. Ao final deste período, quatro repetições de 100 sementes foram tiradas ao acaso e analisadas pelo teste de raios X (30 kV – 19 s). As análises digitais das imagens foram feitas utilizando o software ImageJ®, para a extração de perfis de cinza das regiões de interesse, assim como, características de área, perímetro, densidade relativa e densidade integrada, visando fazer comparações com sementes contendo o gorgulho em diferentes estágios de desenvolvimento, e de sementes com danos e vazias, para cada cultivar. Também, foram realizadas análises de microscopia eletrônica de varredura para observar em detalhe os danos causados pelo inseto. Observou-se efetividade na detecção da porcentagem de infestação do gorgulho nas cultivares avaliadas através das imagens radiográficas. Os histogramas de distribuição de cinza mostraram que sementes sadias apresentam os maiores valores de cinza; enquanto, que em sementes com presença de adulto e vazias apresentaram os valores mais baixos. Resultados significativos foram obtidos para as variáveis de área, densidade relativa e integrada, onde sementes com presença de adultos e vazias contrastaram com sementes sadias. Em função da alteração da região de interesse e sua análise mediante a função *ROI manager*, é possível detectar diferenças nos valores de cinza em sementes com ovo e dano inicial, quando comparadas com áreas sadias dentro da mesma semente. As análises de imagens radiográficas acrescidas de softwares podem fornecer informações quantitativas da infestação em função dos valores de cinza que compõem a imagem distinguindo entre sementes infestadas e sementes sadias.

Palavras-chave: *Oryza sativa*, qualidade sanitária, raios X, densidade relativa, qualidade de sementes.

1 INTRODUÇÃO

A cultura do arroz (*Oryza sativa* L.) é importante para milhões de pessoas no mundo, sendo um dos principais produtos agrícolas que garantem a segurança alimentar (SILVA; WANDER, 2018; ZANIN; BACCHI; ALMEIDA, 2019). Para manter os índices de altas produtividades é importante a utilização de sementes de qualidade, para assim, satisfazer a demanda mundial deste cereal (SAHU; PATNAIK; SAH, 2020).

Na etapa de armazenamento, os insetos-praga promovem a deterioração da qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de arroz (BELL, 2014; LORINI et al., 2015). Uma das principais pragas primárias que causa prejuízos ao reduzir a viabilidade das sementes, além de reduzir o seu valor comercial, é o gorgulho-do-arroz, *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763) (Coleoptera: Curculionidae), sendo necessária sua detecção e identificação para um controle oportuno (LORINI et al., 2015; GEREMA et al., 2017).

O teste de sementes infestadas ou danificadas por insetos é comumente realizado nos laboratórios de controle de qualidade, porém, demanda esforços, apresenta subjetividade, além de avaliar individualmente e de forma destrutiva as sementes (CARVALHO et al., 2019).

Metodologias não destrutivas, rápidas, precisas, reproduzíveis e confiáveis têm sido consideradas na etapa de análise da qualidade das sementes (RAHMAN; CHO, 2016; FRANÇA-SILVA et al., 2019). O teste de raios X, tem demonstrado alta confiabilidade, rapidez e precisão na avaliação da qualidade dos lotes de sementes (RAHMAN; CHO, 2016; LI et al., 2022). Seu uso é baseado na observação de imagens internas da semente, e sua associação com padrões de qualidade fisiológica (SILVA et al., 2023), física (MONTEIRO et al., 2022) e de danos por insetos-praga (CARVALHO et al., 2019; FRANÇA-SILVA et al., 2020) no lote avaliado.

Somado ao teste de raios X, técnicas de análises de imagens foram desenvolvidas para extrair informações das imagens radiográficas, baseadas principalmente, nas diferenças de pixels que compõem a imagem (MEDEIROS et al., 2020c, 2020a), visando avaliações mais precisas, além da quantificação das características físicas de área, perímetro, largura, comprimento e circularidade das sementes (ARKHIPOV et al., 2019; RIBEIRO et al., 2021), assim como, defeitos internos, áreas vazias e danos por insetos (NAWROCKA et al., 2012; SHI et al., 2019; SILVA et al., 2023).

Diferentes softwares para o processamento digital de imagens são utilizados nas análises de imagens radiográficas, para assim, estabelecer diferenças quantitativas entre sementes

sadias, malformadas e danificadas por insetos (MEDEIROS et al., 2020a; RAMOS et al., 2022; SILVA et al., 2023) para relaciona-las com padrões de qualidade de sementes.

Como complemento aos testes de análises de sementes, a microscopia eletrônica de varredura (MEV) tem permitido a geração de imagens de alta resolução amplificando a superfície de uma amostra (SHARMA; BHARDWAJ, 2019). Assim, diferentes pesquisas usando o MEV têm relacionado características morfológicas, estruturais, e a identificação de rachaduras internas com a qualidade fisiológica das sementes (BASKINS et al., 1991; CARVALHO et al., 1999; FORTI et al., 2013). Algumas observações pelo MEV, permitiram a identificação ao detalhe os estágios de desenvolvimento de *S. oryzae* em sementes de trigo (SPEIRS; WHITE; WILSON, 1986), embora, a análise seja mais utilizada para observações morfológicas e de anatomia de insetos (WIPFLER et al., 2016), contudo, são poucos os trabalhos em relação à visualização do dano gerado por insetos-praga do armazenamento em sementes de arroz.

As pesquisas utilizando a análise de imagens radiográficas em sementes de arroz infestadas com insetos-praga ainda são escassas. Com isso, é importante a geração de informações relacionadas à qualidade das sementes que contribuam para o aprimoramento dos testes laboratoriais com maior precisão nos resultados, além de permitir a distinção dos estágios de desenvolvimento de insetos-praga e os danos gerados em sementes de arroz.

O objetivo no presente trabalho foi avaliar o uso das análises de imagens radiográficas e de microscopia eletrônica de varredura em sementes de arroz infestadas com *S. oryzae* (Coleoptera: Curculionidae).

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório Central de Pesquisa em Sementes (LCPS) do Departamento de Agricultura, no Laboratório de Ecotoxicologia e Manejo Integrado de Pragas (LEMIP) do Departamento de Entomologia e no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural no Centro Multiusuário do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Sementes de três cultivares de arroz C1= P85-15-CNA, C2= CMG 1590, C3= OBS 1819, da safra 2020/21, desenvolvidas pelo Programa de Melhoramento Genético de Arroz de Terras Altas – MelhorArroz da UFLA em parceria com a Embrapa Arroz e feijão e a EPAMIG.

Para a montagem do experimento, uma amostra de 400g de sementes de cada cultivar foi colocada em um recipiente de vidro com capacidade de 500 mL. Em cada recipiente foram

adicionados 50 adultos de *S. oryzae* provenientes da criação do Laboratório de Ecotoxicologia e Manejo Integrado de Pragas. Os recipientes foram cobertos com papel alumínio para diminuição de luz, sendo tampados com tecido tipo *voile* e mantidos em sala climatizada à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e UR 60% UR e escotofase de 24h durante 90 dias.

Para a realização das observações radiográficas, de cada cultivar foram retiradas ao acaso, 4 repetições de 100 sementes, totalizando 400 sementes por cultivar. Estas foram dispostas em placas acrílicas, coladas em fita adesiva transparente dupla para a fixação e posterior identificação individual.

Os testes de raios X foram feitos utilizando o aparelho Faxitron HP MX-20 digital, pertencente ao Laboratório Central de Pesquisa em Sementes (LCPS) da UFLA. O equipamento foi calibrado para 30 kV, 19 segundos de exposição, à distância de 22 cm da fonte de radiação para a primeira análise. Aquelas sementes que apresentavam indícios de algum dos estágios de desenvolvimento do gorgulho, foram separadas para uma segunda análise de raios X. Para isso, foi usado o método de raios X de ampliação de imagem (ARKHIPOV et al., 2019), alterando a distância focal para 15 cm da fonte emissora, mas mantendo a mesma intensidade de radiação, para assim, obter uma imagem mais detalhada.

As sementes onde se detectaram a presença de algum dos estágios do gorgulho-do-arroz, foram colocadas em caixas plásticas com compartimentos individualizados para a realização do teste tradicional de exame de sementes infestadas (danificadas por insetos) (BRASIL, 2009). Para isso, as sementes foram embebidas em água destilada durante 24 horas e posterior corte com bisturi para visualização de suas estruturas internas e comparação com os resultados obtidos no teste de raios X.

Com as imagens radiográficas geradas, foram realizadas as análises de imagens, para isso, elas foram processadas pelo software de uso livre ImageJ®, na escala de 62,0665 pixels/mm e convertidas em formato de 8 bits, para escala de cinzas.

Na determinação dos perfis de intensidade média de pixel ($\text{cinza}\cdot\text{pixel}^{-1}$), foram avaliadas as imagens radiográficas individualizadas das sementes sadias, com ovo, com larva, com inseto adulto, semente com dano e semente vazia. Para cada imagem os valores cinza foram redimensionados para 8-255 pixels, onde aqueles abaixo de oito foram subtraídos e considerados como fundo. Além disso, foram feitas projeções 3D de cada semente para apresentação visual.

Para a obtenção das características físicas das sementes sadias como daquelas com presença dos estágios de desenvolvimento do inseto, foi utilizada a macro *PhenoXray* (MEDEIROS et al., 2020a), segmentando a imagem a 25:255, para os mínimos e máximos,

respetivamente. Além disso, foi modificado o tamanho de análises de partículas para 2,5-16,00 mm², com o objetivo de selecionar os componentes de interesse nas imagens radiográficas. As variáveis respostas de área (mm²), perímetro (mm), densidade relativa (somatória dos valores cinza dos pixels dividida pelo número de pixels da seleção) e densidade integrada (*área*densidade relativa*) (FERREIRA; RASBAND, 2012), foram calculadas pela macro para as sementes saudas, com ovo, com larva, com adulto, com dano e vazias, em cada cultivar.

Foram feitas análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para observações ao detalhe dos estágios de desenvolvimento do *S. oryzae* nas sementes de arroz. Amostras de sementes infestadas pelo inseto, foram fixadas em solução Karnovsky, sendo em seguida, retiradas da solução e adicionadas em glicerol 30%. Após 30 minutos, as amostras foram cortadas em nitrogênio líquido e os cortes mantidos em água destilada.

Depois as amostras foram para a fase de desidratação em série de acetona, a qual consistiu em adicionar diferentes concentrações de acetona [25%, 50%, 75%, 90% e 100%], sendo mantidas durante 10 minutos em cada concentração.

Para a fase do ponto crítico, a acetona foi substituída por CO₂ no aparelho de secagem Balzer CPD 030, deixando as amostras a 40 °C. A montagem dos *Stub* foi feita colocando-se as amostras em fita de carbono dupla face. O banho em ouro foi feito no equipamento Sputtering SCD 050 Balt-Tec, para assim, ser levadas ao microscópio LEO EVO 40 XVP, para obter as imagens.

Na detecção da infestação em cada cultivar pelo raios X utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com três tratamentos (cultivares) e 4 repetições por cada. Os dados foram submetidos à análise de normalidade de Shapiro-Wilk ($p>0,05$), e de homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett ($p>0,05$). Aceitos os pressupostos, os dados foram submetidos a análises de variância (ANOVA) e foram apresentados em porcentagens. Para análises dos parâmetros físicos o delineamento experimental utilizado foi o DIC desbalanceado, onde os tratamentos corresponderam às sementes cheias, com ovo, com larva, com adulto, com dano e sementes vazias. Análises de variância horizontal e vertical foram realizadas para estabelecer diferenças estatísticas entre os tratamentos em cada cultivar, e entre os cultivares em cada tratamento. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey-Kramer ao nível de significância de 5%. Todas as análises foram feitas utilizando o pacote Agricolae com o uso do software estatístico R, versão 4.1.1 (R CORE TEAM, 2021).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise radiográfica permitiu a detecção da infestação de sementes de arroz por *S. oryzae*, assim como a identificação dos estágios de desenvolvimento do inseto (ovo, larva, e adulto). Não foi possível a observação do estágio de pupa. Aliás, permitiu a distinção de sementes com danos gerados pelo gorgulho-do-arroz daquelas sementes vazias (Figura 1).

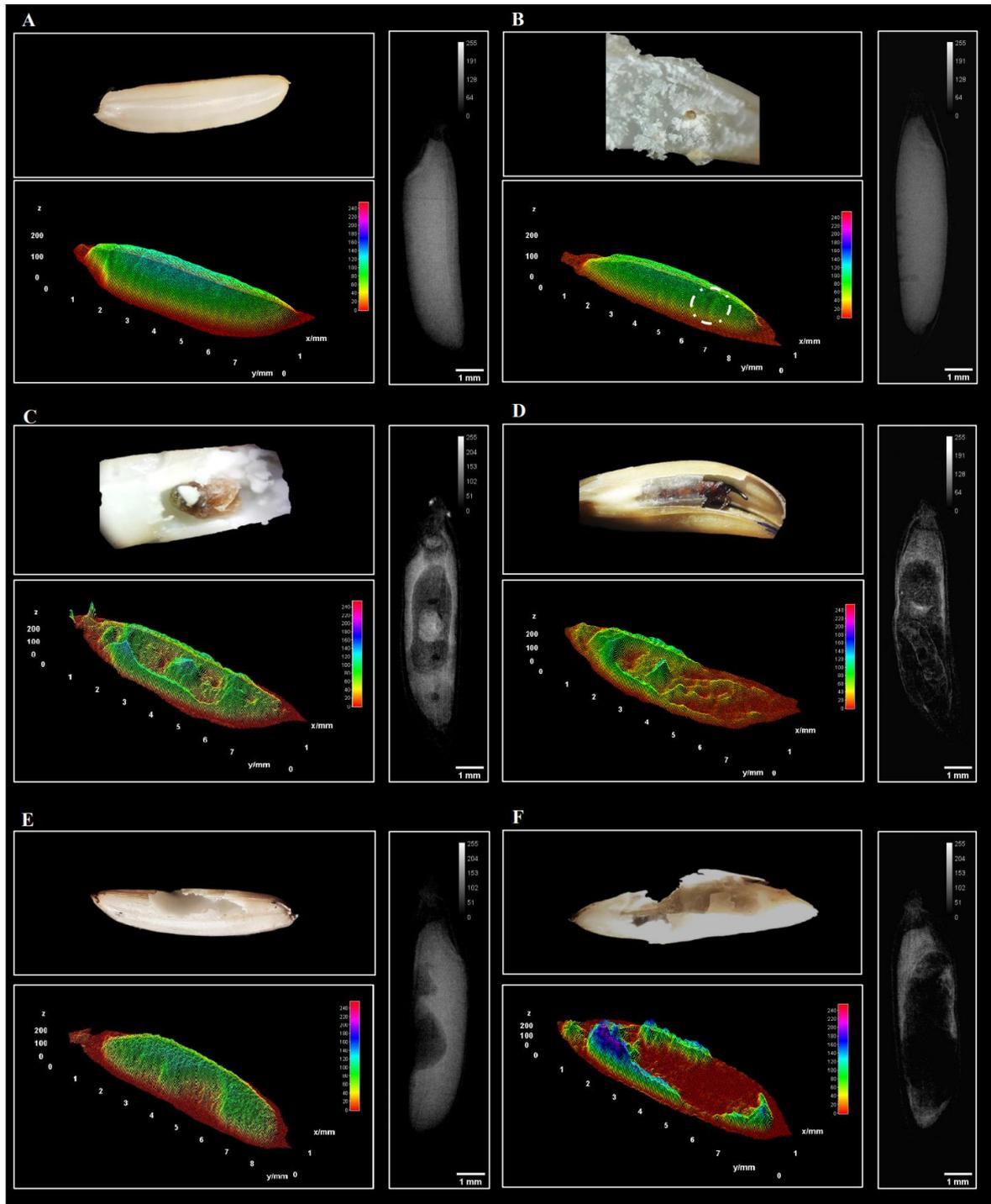
As sementes sadias foram usadas como referência de comparação para cada estágio de desenvolvimento e dano gerado nas sementes de arroz (Figura 1A), as quais apresentaram superfície uniforme nas imagens radiográficas, as quais são observadas na representação 3D nas sementes de arroz.

Conforme o inseto se desenvolve, os danos nos tecidos aumentam, aparecendo manchas pretas no endosperma, as quais conseguem atingir o embrião em instares larvais mais avançados, além de sementes com presença de adultos e danos maiores (Figura 1C, D, E).

No estágio de ovo, os danos gerados pelo gorgulho podem ser vistos na imagem radiográfica como manchas pretas arredondadas ou ovaladas, as quais são de difícil distinção até mesmo na representação 3D. Nesta, esse estágio aparece como variações leves na superfície, as quais podem ser confundidas como o próprio formato da semente (Figura 1B).

As sementes vazias são o resultado final do ciclo do gorgulho-do-arroz, sendo que os danos são característicos e contrastam com os resíduos do endosperma consumido. Na imagem 3D foi possível delimitar a região que não foi atacada pela larva (Figura 1 F).

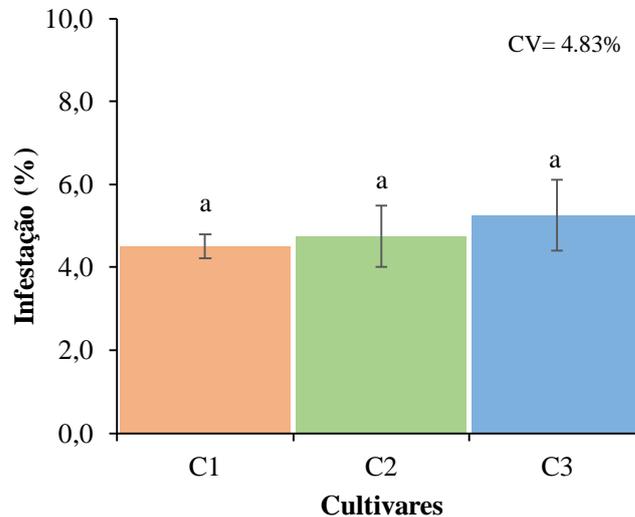
Figura 1 – Imagens radiográficas e a representação 3D de sementes de arroz infestadas ou não com *Sitophilus oryzae*. **A)** semente sadia; **B)** semente com ovo; **C)** semente com larva; **D)** semente com adulto; **E)** semente com dano e **F)** semente vazia.



Fonte: Autor (2023)

Referente à infestação das sementes de arroz pelo gorgulho detectada pelo teste de raios X, não foram observadas diferenças estatísticas ($p > 0,05$) entre as cultivares avaliadas (Figura 2).

Figura 2 – Infestação de *Sitophilus oryzae* nos cultivares avaliados, detectada pelo teste de raios X. Letras iguais acima das colunas, para cada cultivar, indicam não diferenças significativas pelo teste do Tukey ($p > 0,05$). As barras representam o erro padrão. Cultivares: C1 (P85-15-CNA); C2 (CMG-1590); C3 (OBS 1819).



Fonte: Autor (2023)

Com as imagens radiográficas obtidas, o processamento digital iniciou com a detecção da região de interesse, ou seja, aquelas sementes que apresentaram algum estágio do gorgulho-do-arroz ou danos gerados pelo adulto, considerando também, aquelas sementes vazias produto da emergência do inseto adulto.

Os gráficos de perfis (Figura 3) representam os valores de cinza (0-255), mapeados na região de interesse para as imagens de 8 bits (FERREIRA; RASBAND, 2012). Valores, mais perto de 0, são considerados pretos e mais perto de 255, brancos. Variações na densidade nos tecidos das sementes produto de infestação com insetos-praga, alteram os valores médios de cinza, o qual pode ser relacionado com a presença dentro da semente de alguns dos estágios de desenvolvimento do gorgulho-do-arroz (Figura 3).

No presente trabalho, os valores médios mais baixos de cinza são observados nas sementes com presença de adulto do gorgulho e nas sementes vazias, para as três cultivares avaliadas (Figura 3), sendo consideradas como hipoatenuantes, com tons cinza mais para o preto. Desta forma, na cultivar C3, os valores médios de cinza foram de 56 e 73 cinza.pixel⁻¹ nas sementes com adulto e vazias, respectivamente (Figura 3 C). Enquanto que as sementes com adulto e vazias das cultivares C1 e C2, respectivamente, o valores cinza não foram superiores a 60 cinza.pixel⁻¹ (Figura 3 A, B).

Naquelas sementes onde foram detectadas as presenças de larvas, o máximo valor de cinza foi de 140 cinza.pixel⁻¹, para a C2 (Figura 3 B), enquanto que em C1 e C3, os tons cinza

foram de 129 e 122 cinza.pixel⁻¹, respectivamente (Figura 3A, C). Estas diferenças de resultado, podem estar relacionadas ao tamanho do dano gerado, assim como o ínstar larval atingido pelo inseto.

É conhecido que larvas em instares avançados tendem a gerar galerias maiores no tecido da semente (FORNAL et al., 2007), o que reduz a atenuação detectada nas imagens radiográficas.

Ao contrário das hipoatenuantes, àquelas regiões com os valores mais altos, hipertenuantes, foram observadas como áreas com tons mais para o branco. Nas cultivares avaliadas, as sementes sadias apresentaram regiões com o maior tons de cinza, acima de 142 cinza.pixel⁻¹, com um máximo de 152 cinza.pixel⁻¹ (Figura 3).

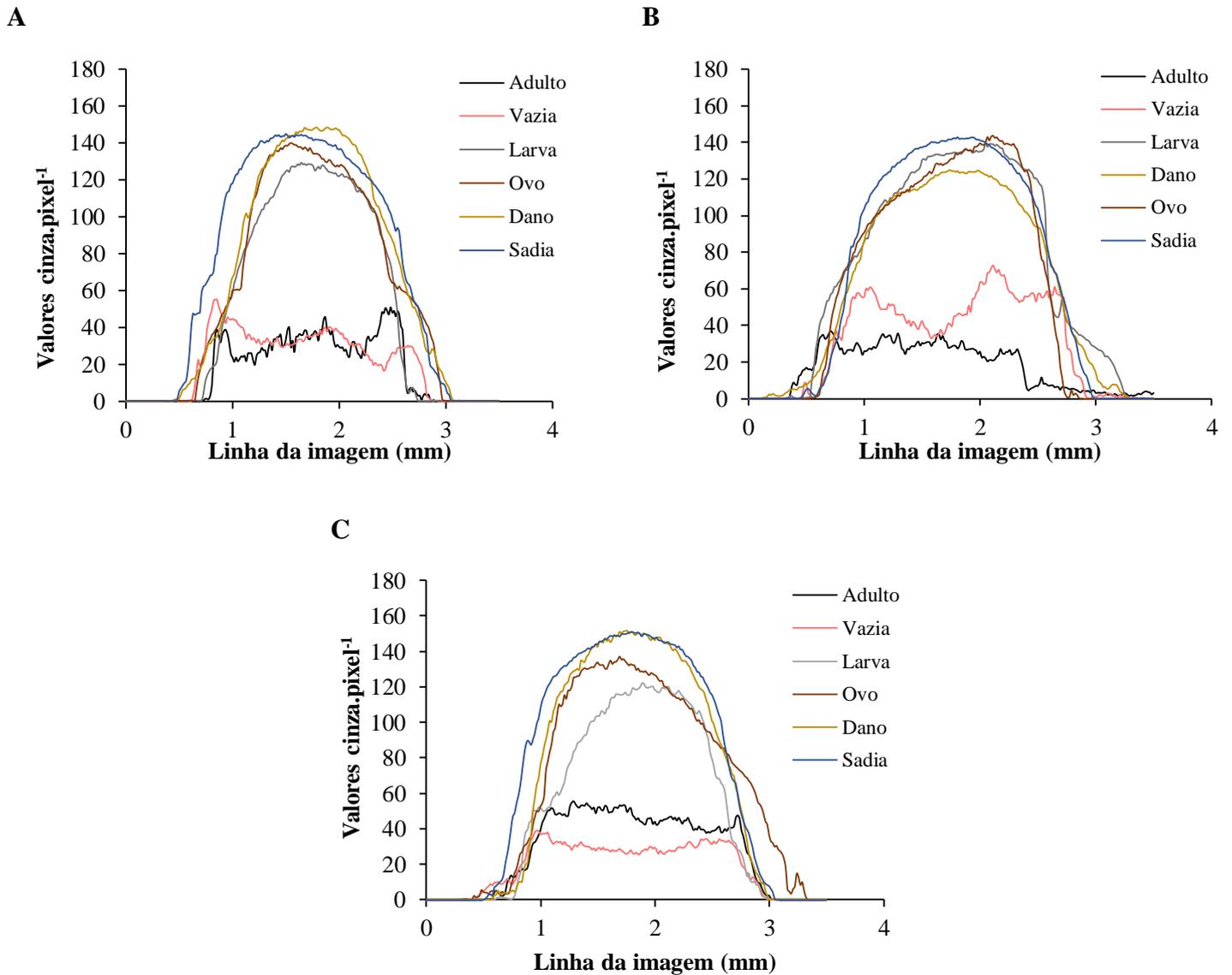
Os resultados obtidos nos perfis de cinza (Figura 3), são semelhantes ao obtidos em sementes de trigo infestadas por *S. oryzae*, onde informações do histograma foram correlacionadas com as características de textura da semente, o que demonstrou alta precisão na classificação de sementes com presença de larva, pupas e adultos (KARUNAKARAN; JAYAS; WHITE, 2003).

No entanto, variações no histograma de distribuição de cinza reportaram mudanças conforme aumentaram os dias de infestação em sementes de trigo, diminuindo os valores de cinza nas áreas afetadas por *S. oryzae* (XIAOLONG et al., 2020). Em análises de sementes de girassol danificadas por insetos, foram detectados maior quantidade de pixels escuros, quando comparadas com sementes boas, (PEARSON et al., 2014).

Contrastando com estes resultados em trigo infestado com *Rhysopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Bostrichidae), verificou-se que conforme aumenta o dano no endosperma e embrião, ocorreu maior penetração dos raios X com formação de regiões mais brilhantes nas imagens e por tanto, a atenuação foi menor em sementes sadias (KARUNAKARAN; JAYAS; WHITE, 2004). No entanto, variações na qualidade da imagem radiográfica podem ser resultantes das características intrínsecas dos equipamentos utilizados para as análises (KOTWALIWALE et al., 2011), bem como do tamanho e da espessura da semente, onde regiões menos densas resultarão em tons de cinza mais baixos (PEARSON et al., 2014).

Em sementes com presença de ovos do gorgulho, são observadas curvas simétricas no *plot* de perfil de cinza, quando comparadas com o *plot* de sementes sadias (Figura 3). Embora, variações na curva não permitiram uma confirmação precisa do ovo dentro da semente, porém, por meio do teste tradicional comprovou-se a detecção do ovo, assim como a confirmação das observações nas imagens radiográficas.

Figura 3 – Plot de perfis de cinza (cinza.pixel⁻¹) para as imagens radiográficas das cultivares de arroz infestadas com *Sitophilus oryzae* analisadas pelo software ImageJ®. **A)** Cultivar 1, P85-15-CNA; **B)** Cultivar 2, CMG-1590; **C)** Cultivar 3, OBS 1819.



Fonte: Autor (2023).

Diferenças significativas ($p \leq 0,05$) foram observadas nas sementes infestadas pelo gorgulho em cada cultivar, assim como nos parâmetros avaliados de área, densidade relativa e densidade integrada (Tabela 1).

Para sementes sadias, verificaram-se médias significativas para área, densidade relativa e densidade integrada, quando comparadas dentro da cultivar com sementes com presença de larva, adultos e sementes vazias (Tabela 1).

Os parâmetros avaliados têm sido relacionados com os valores médios de cinza de cada pixel (cinza.pixel⁻¹) que compõem a imagem, por tanto, sementes sadias, têm maior resistência do tecido à passagem dos raios X, assim valores maiores de cinza (MEDEIROS et al., 2020b).

No presente estudo, verificou-se que quando se aumenta o nível de dano gerado na semente, os valores de cinza tendem a diminuir, como resultado da perda de integridade da semente, ou seja, menores valores de densidade relativa e densidade integrada (Tabela 1).

Quanto ao parâmetro de perímetro, somente a cultivar C1 apresentou diferenças significativas entre sementes sadias e sementes infestadas ou com presença de dano gerado pelo inseto. Nesse parâmetro, os valores maiores correspondem às sementes com presença de adultos e sementes vazias. Isto pode estar relacionado com o aumento na superfície de contato, associado aos danos pelo gorgulho-do-arroz no seu ciclo de desenvolvimento, principalmente, a formação de cavidades internas e a separação e quebra dos tecidos.

Diferenças significativas entre as cultivares foram observadas (Tabela 1), onde a cultivar C1 com áreas maiores nas sementes com inseto adulto do gorgulho e sementes vazias, sendo de 6,33 mm² e 4,35 mm², respectivamente. As cultivares C2 e C3 formaram outros grupos de comparação com áreas inferiores a 3,34 mm².

A detecção de sementes com a presença de menores danos, estágio de ovo e estágios iniciais de larvas, têm apresentado dificuldades para serem detectadas ou diferenciadas por meio das imagens radiográficas principalmente pelo tamanho menor desses danos e estágios (HAFF; PEARSON, 2007; CHELLADURAI et al., 2014). Embora, também existem fatores que podem influir na qualidade das radiografias como a distância entre as sementes, a distância focal, o teor de umidade das sementes e a interpretação do analista (FRANÇA-SILVA et al., 2020).

Neste trabalho, na cultivar C2, as sementes com presença de ovo e dano, nos parâmetros área e densidade relativa não apresentaram diferenças estatísticas, e por sua vez, foram considerados iguais aos valores apresentados na semente sadia (Tabela 1).

Tabela 2 – Médias ± EP para as características físicas das sementes de arroz, obtidas para as cultivares: 1 (P85-15-CNA), 2 (CMG-1590) e 3(OBS 1819) infestadas pelo *Sitophilus oryzae* analisadas por meio de imagens radiográficas obtidas pelo software ImageJ®.

Características físicas	Cul.	Sadia	Ovo	Larva	Adulto	Dano	Vazia
Área (mm ²)	1	9,57± 0,18 ^{Aa}	7,78±1,04 ^{Aab}	7,34±1,02 ^{Aabc}	6,33±0,4 ^{Abc}	7,95±0,53 ^{Aab}	4,35±0,82 ^{Ac}
	2	10,49±0,34 ^{Aa}	8,09±0,23 ^{Aa}	9,04±0,9 ^{Aa}	2,24±0,12 ^{Bb}	8,91±0,67 ^{Aa}	3,34±0,51 ^{ABb}
	3	9,98±0,31 ^{Aa}	7,92±0,86 ^{Aab}	6,38±1,17 ^{Ab}	2,96±0,45 ^{Bc}	9,50±0,55 ^{Aa}	2,37±0,27 ^{Bc}

Perímetro (mm)	1	29,13±0,97 ^{Abc}	29,38±0,44 ^{Abc}	25,71±2,10 ^{Ac}	37,55±0,92 ^{Aa}	26,18±1,28 ^{Bc}	34,94±0,99 ^{Aab}
	2	27,68±1,76 ^{Aa}	30,04±2,41 ^{Aa}	26,80±0,76 ^{Aa}	33,53±1,18 ^{Aa}	29,24±2,11 ^{ABa}	37,09±3,62 ^{Aa}
	3	28,16±1,12 ^{Aa}	29,25±1,72 ^{Aa}	32,05±4,25 ^{Aa}	34,64±2,35 ^{Aa}	33,40±0,96 ^{Aa}	37,09±2,84 ^{Aa}
Densidade relativa (Cinza.píxel⁻¹)	1	105,95±4,93 ^{Aa}	94,80±2,78 ^{Aab}	91,79±5,25 ^{Aab}	43,51±2,10 ^{Ac}	100,90±3,14 ^{Aa}	74,37±10,33 ^{Ab}
	2	85,50±3,12 ^{Ba}	78,28±5,79 ^{Aa}	78,12±1,68 ^{Aa}	33,99±3,61 ^{Ac}	77,19±2,39 ^{Ba}	55,23±4,94 ^{ABb}
	3	99,05±6,48 ^{ABa}	76,82±9,03 ^{Aab}	78,88±13,59 ^{Aa}	44,64±3,66 ^{Ab}	92,12±3,62 ^{Aa}	43,93±4,87 ^{Bb}
Densidade Integrada (Cinza.mm². píxel⁻¹)	1	1070,29±46 ^{Aa}	792,79±146,64 ^{Ab}	650,66±91,65 ^{Ab}	279,04±31,05 ^{Ac}	820,46±46,38 ^{ABb}	170,50±20,39 ^{Ac}
	2	917,17±54,73 ^{Aa}	821,76±86,34 ^{Aab}	709,04±83,19 ^{Aab}	79,51±13,01 ^{Bc}	664,54±42,96 ^{Bb}	158,74±11,79 ^{Ac}
	3	972,95±74,55 ^{Aa}	620,45±93,05 ^{Abc}	461,71±968,02 ^{Ac}	139,97±26,67 ^{Bd}	908,18±64,40 ^{Aab}	111,20±23,13 ^{Ad}

As médias nas linhas com letras minúsculas distintas apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre as categorias. Médias nas colunas com letras maiúsculas distintas, apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre as cultivares, comparadas pelo teste de Tukey-Kramer ao 5%. EP: erro padrão.

Fonte: Autor (2023).

As variações na detecção do estágio de ovo em trigo através de imagens radiográficas foram observadas por HAFF; SLAUGHTER (2004), os quais demonstraram diferenças de até 50% para *Sitophilus granarius* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Curculionidae), resultados que confrontam a precisão do 98% obtida por eles na identificação de estágios mais avançados do gorgulho.

Uma alternativa proposta neste trabalho para a distinção dos estágios de ovo, e locais com menores danos, produto da alimentação do gorgulho-do-arroz, é a alteração da região de interesse com a avaliação de áreas de 0,5 mm x 0,5 mm daqueles locais com ovo e dano menor, após comparação com locais sadios da semente (Figura 4), utilizando a função *ROI manager* do software ImageJ®.

Variações nos tons cinza foram observadas nos gráficos *multi plot*, principalmente, na inclinação decrescente da curva, uma resposta à menor atenuação do local analisado. Menores valores de cinza foram observados para as áreas avaliadas de dano causado ou pela oviposição do inseto, diferindo com os valores das regiões sadias da semente, os quais são maiores (Figura 4).

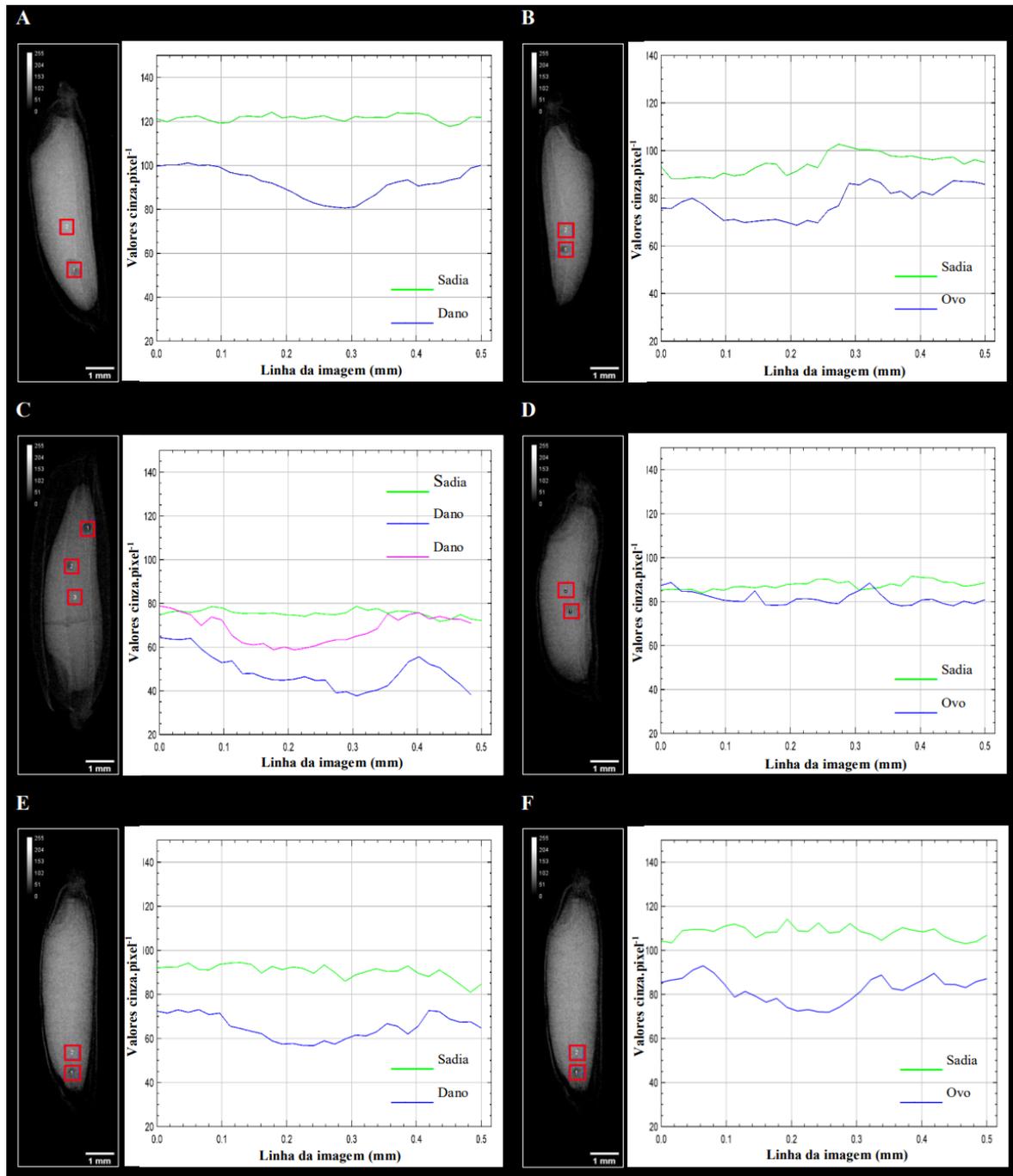
Além disso, a longitude da inclinação na curva pode ser relacionada com a quantidade de tecido afetado na semente de arroz, o que foi observado na semente na C1, onde a longitude da inclinação da curva foi de aproximadamente de 0,4 mm (Figura 4A), além disso, para as C2 e C3, as longitudes foram de 0,25 mm e de 0,3mm, respectivamente (Figura 4C-E).

Para as sementes com presença de ovo, distinções na inclinação da curva também foram observadas nas cultivares avaliadas (Figura 4). Os valores de cinza foram menores nas regiões de interesse de ovo, quando comparadas com as áreas sadias da semente.

A cultivar C1 apresentou valores menores de 80 cinza.pixel⁻¹. Na C2, os valores estiveram mais próximos daqueles das sementes sadias, com aproximadamente 80- 85 cinza.pixel⁻¹ para a região com ovo, e de 85- 90 para a área sadia da semente. Referente a C3, os valores atingiram tons menores a 80 cinza.pixel⁻¹, enquanto, que para as sementes sadias, os valores foram superiores a 100 cinza.pixel⁻¹.

Variações maiores de cinza em uma mesma área têm sido relacionadas com maior perda de massa de sementes, podendo alcançar 30% em comparação com uma mesma área de análises (NAWROCKA; GRUNDAS; GRODEK, 2010).

Figura 4 – Multi plot de comparação de imagens radiográficas de sementes com dano leve e sementes com ovo de *Sitophilus oryzae* confrontadas por áreas saudias da semente. Cultivar 1, P85-15-CNA: **A)** semente com dano, **B)** sementes com ovo. Cultivar 2, CMG-1590: **C)** semente com dano, **D)**, semente com ovo. Cultivar 3, OBS 1819: **E)** semente com dano, **F)** semente com ovo. Os quadros vermelhos nas imagens radiográficas, correspondem às áreas de interesse analisadas (0,5 mm x 0,5mm).



Fonte: Autor (2023).

A longitude da inclinação da curva nas sementes com presença de ovo foi de aproximadamente 0,2 mm de comprimento para as três cultivares, sendo formada por uma curva côncava em relação ao local de oviposição, o que está relacionada com o início da diminuição

dos valores cinza até atingir o valor mínimo e depois aumenta para estabilizar-se (Figuras 4B, 4D, 4F), o qual está relacionado ao comprimento do local de oviposição obtido nas imagens de varredura, o qual foi de 0,19 mm (Figura 5A).

Conforme as imagens obtidas pelo MEV, foi possível observar ao detalhe os estágios de ovo, larvas em suas galerias, e o adulto de *S. oryzae*, além dos danos menores e a semente vazia.

No local de oviposição (Figura 5A), pode-se observar uma cavidade de forma oval, localizada na superfície da semente, onde é possível enxergar a substância gelatinosa de revestimento do local de postura, com um comprimento semelhante à medida reportada para ovos reportada para ovos em insetos do gênero *Sitophilus* de $0,2 \pm 0,01$.

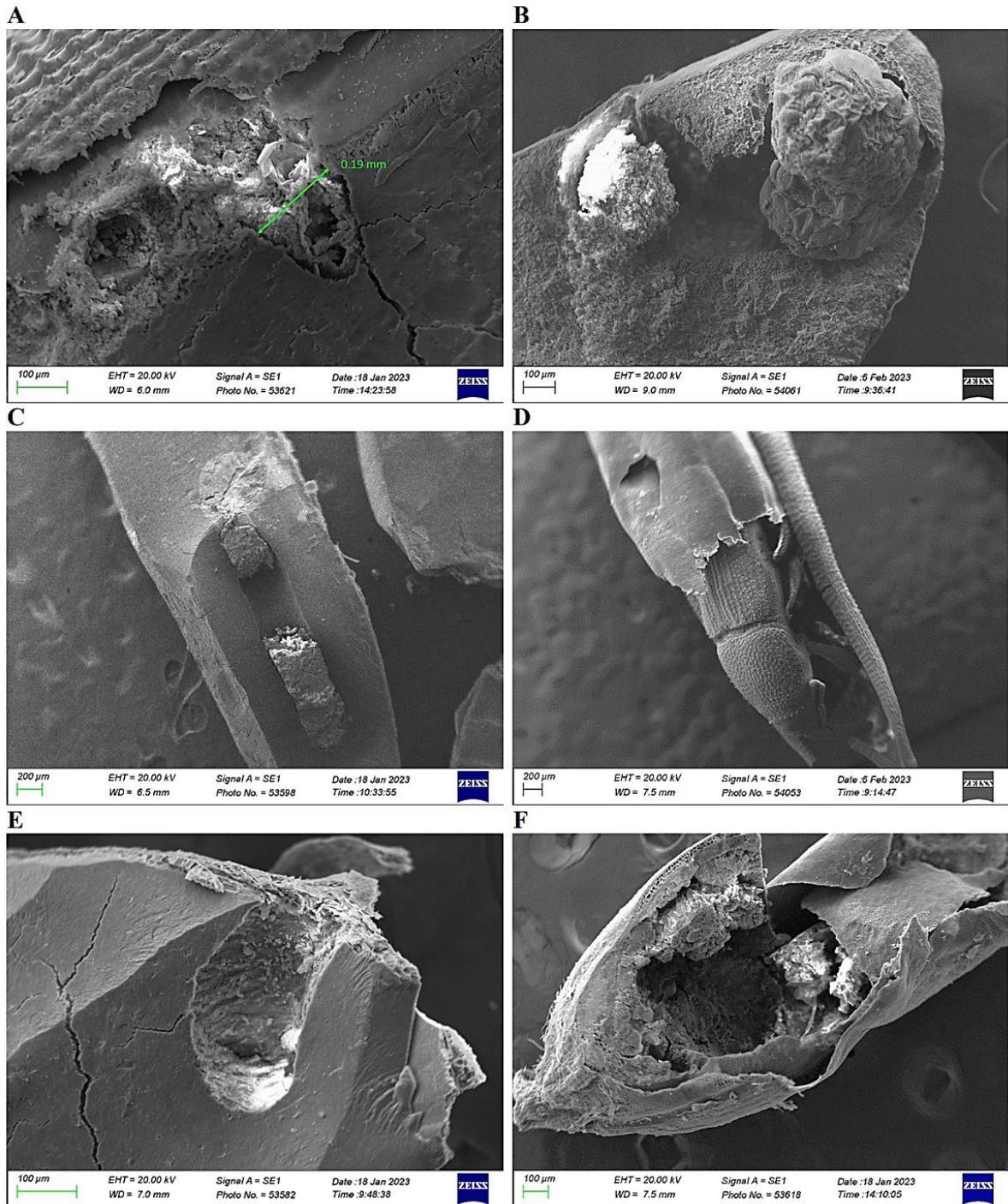
Para as sementes com presença interna de larvas (Figura 5B-C), foi possível distinguir as galerias formadas desde o local de oviposição, seguindo o túnel formado pelo desenvolvimento da larva, além dos resíduos de excrementos após o consumo dos tecidos, e a própria larva em seu local de crescimento (Figura 5B). Embora o corte da semente foi feito com o uso de nitrogênio líquido, ocorreram efeitos negativos na estrutura do ovo, o que não foi observado quando da detecção de larva.

Metodologias para retirar larvas manualmente têm sido reportadas para se obter imagens com detalhes deste estágio (SPEIRS; WHITE; WILSON, 1986), principalmente, associados a estudos morfológicos em insetos do gênero *Sitophilus* sp.

A presença do pré-adulto emergido foi observado em baixo dos tecidos que compõem a semente (Figura 5D), o qual, corresponde a característica própria do adulto, a permanecer vários dias no interior da semente antes de emergir (OJO; OMOLOYE, 2016; ASTUTI, 2019).

Detalhe do dano menor pode ser observado nas imagens de varredura (Figura 5E), onde a cavidade formada foi resultado do hábito alimentar do *S. oryzae*, o qual utiliza seu rostro para romper os tecidos e se aprofundar na semente. Além disso, nas sementes vazias foi possível observar o resultado do ciclo de desenvolvimento do *S. oryzae* em semente de arroz e o local de saída do adulto (Figura 5 F).

Figura 5 – Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de sementes de arroz infestadas com *Sitophilus oryzae*. **A)** Ovo; **B)** Larva menor; **C)** Galeria da larva; **D)** Adulto; **E)** Dano menor e **F)** Semente vazia.



Fonte: Autor (2023).

O uso da microscopia eletrônica de varredura tem permitido avaliações das características morfológicas, estruturais, em sementes de arroz, soja e sorgo, (KASEM et al., 2011; FORTI et al., 2013; YU et al., 2014) e de rachaduras internas em milho (CARVALHO et al., 1999), associadas com a qualidade fisiológica das sementes.

Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que o uso de raios X, como técnica não destrutiva, ser eficiente na detecção de sementes de arroz infestadas por *S. oryzae*. Resultados semelhantes foram obtidos em sementes armazenadas de diferentes culturas atacadas por insetos-praga (KARUNAKARAN; JAYAS; WHITE, 2004; CARVALHO et al., 2019; FRANÇA-SILVA et al., 2019).

Diferentes metodologias têm sido desenvolvidas para o processamento de imagens radiográficas para grãos e sementes infestadas com insetos-praga, sendo que algumas baseadas na criação de algoritmos para ajuste e filtragem da imagem, o que aumenta o detalhe do ovo e dos primeiros estágios larvais (FORNAL et al., 2007).

Outros algoritmos baseados na diferença de valores cinza de imagens radiográficas em sementes infestadas com *S. granarius*, permitiram a estimativa da quantidade de massa perdida em função do tempo de infestação; além disso, foi feita categorização do número de sementes com presença de algum dos estágios do inseto praga (NAWROCKA; GRUNDAS; GRODEK, 2010; NAWROCKA et al., 2012).

A distância de pixels e a distribuição da escala de cinza permitiu o reconhecimento da imagem de interesse, classificando a infestação em grupos para estágios larvais iniciais, larvas a partir do 3º instar e o adulto pré-emergido (HAFF; PEARSON, 2007).

Análises de processamento associadas às variações nos valores de cinza da imagem radiográfica permitiram identificar características físicas, de tamanho, forma, área, perímetro, comprimento e largura. Os tons cinza permitiram a detecção interna das estruturas da semente, correlacionando-se com a qualidade fisiológica de sementes (SILVA et al., 2014, 2023), além de permitir mensurar fissuras e trincas internas em sementes arroz (SHI et al., 2019; MONTEIRO et al., 2022).

O uso de raios X na avaliação da qualidade de sementes, demonstrou ser eficiente na detecção da infestação do gorgulho-do-arroz em sementes de arroz; e embora, os primeiros estágios de infestação como ovo e primeiros instares larvais, possam passar despercebidos ao apresentar poucas variações nos valores de cinza nas imagens radiográficas. As análises de imagens podem ser consideradas como complemento ao teste de raios X, por permitir a extração de informações quantitativas da infestação, sendo possível identificar diferenças entre os estágios de desenvolvimento de *S. oryzae* infestando sementes de arroz. Além disso, o parâmetro de densidade relativa tende a apresentar valores mais baixos de cinza, em comparação com sementes de arroz sadias.

4 CONCLUSÕES

A técnica de raios X é eficiente para a detecção da infestação do gorgulho *S. oryzae* nas sementes das cultivares P85-15-CNA, CMG-1590 e OBS 1819.

O uso de raios X permite distinguir os estágios de desenvolvimento de *S. oryzae*, e também a diferenciação de sementes com danos daquelas vazias.

As análises de imagens radiográficas acrescidas de softwares podem fornecer informações quantitativas da infestação, como área, densidade relativa e densidade integrada, em função dos valores de cinza que compõem a imagem.

A função *ROI manager* permite distinguir as variações nos valores de cinza nas imagens radiográficas para sementes com presença de ovo e danos menores, quando comparadas com regiões sadias da mesma semente.

REFERÊNCIAS

- ASTUTI, L. P. Feeding Preference and Development of *Sitophilus oryzae* L. on Organic and Inorganic Rice Cultivation. **Agrivita**, v. 41, n. 3, p. 561–568, 2019. doi: 10.17503/agrivita.v41i3.2362.
- ARKHIPOV, M. V.; PRIYATKIN, N. S.; GUSAKOVA, L. P.; POTRAKHOV, N. N.; GRYAZNOV, A. Y.; BESSONOV, V. B.; OBODOVSKII, A. V.; STAROVEROV, N. E. X-Ray Computer Methods for Studying the Structural Integrity of Seeds and Their Importance in Modern Seed Science. **Technical Physics**, v. 64, n. 4, p. 582–592, 2019. doi: 10.1134/S1063784219040030.
- BASKINS, C. .; PALIWAL, C. .; BASKIN, C. .; DELOUCHE, J. . Scanning Electron Microscopy of High Quality and Low Quality Sorghum Seeds. **Journal of Seed Technology**, v. 15, n. 1, p. 42–57, 1991.
- BELL, C. H. Food Safety Assurance Systems: Infestation Management in Food Production Premises. In: Motarjemi, Y. (Ed.). **Encyclopedia of Food Safety**. [s.l.] Academic Press, 2014. 4 p. 189–200. 2014.
- BRASIL. **Regras para análise de sementes**. MAPA/ACS, ed. Brasília: Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Secretaria de defesa agropecuária., 2009.
- CARVALHO, M. L. M. de; LEITE, E. R.; CARVALHO, G. A.; FRANÇA-SILVA, F.; ANDRADE, D. B. de; MARQUES, E. R. The Compared Efficiency of the Traditional Method, Radiography without Contrast and Radiography with Contrast in the Determination of Infestation by Weevil (*Sitophilus zeamais*) in Maize Seeds. **Insects**, v. 10, n. 6, p. 1–9, 2019. doi: 10.3390/insects10060156.
- CARVALHO, M. L. de M.; VAN AELST, A. C.; VAN ECK, J. W.; HOEKSTRA, F. A. Pre-Harvest Stress Cracks in Maize (*Zea mays* L.) Kernels as Characterized by Visual, X-Ray and Low Temperature Scanning Electron Microscopical Analysis: Effect on Kernel Quality. **Seed Science Research**, v. 9, n. 3, p. 227–236, 1999. doi: 10.1017/s0960258599000239.
- CHELLADURAI, V.; KARUPPIAH, K.; JAYAS, D. S.; FIELDS, P. G.; WHITE, N. D. G. Detection of *Callosobruchus maculatus* (F.) Infestation in Soybean Using Soft X-Ray and NIR Hyperspectral Imaging Techniques. **Journal of Stored Products Research**, v. 57, p. 43–48, 2014. doi: 10.1016/j.jspr.2013.12.005.
- FERREIRA, T.; RASBAND, W. **ImageJ User Guide**. [s.l.] Bethesda, MD, 2012. v. 1.46r
- FORNAL, J.; JELIŃSKI, T.; SADOWSKA, J.; GRUNDAS, S.; NAWROT, J.; NIEWIADA, A.; WARCHALEWSKI, J. R.; BŁASZCZAK, W. Detection of Granary Weevil *Sitophilus granarius* (L.) Eggs and Internal Stages in Wheat Grain Using Soft X-Ray and Image Analysis. **Journal of Stored Products Research**, v. 43, n. 2, p. 142–148, 2007. doi: 10.1016/j.jspr.2006.02.003.
- FORTI, V. A.; CARVALHO, C.; TANAKA, F.; CICERO, S. Weathering Damage in Soybean Seeds : Assessment , Seed Anatomy and Seed Physiological Potential. **Seed Technology**, v. 35, n. 2, p. 213–224, 2013.
- FRANÇA-SILVA, F.; DE CARVALHO, M. L. M.; CARVALHO, G. A.; ANDRADE, D. de; SOUZA, V. F. de; MARQUES, E. R. Radiographic Analysis to Test Maize Seeds for the Presence of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Seed Science and Technology**, v. 47, n. 3, p. 249–260, 2019. doi: 10.15258/sst.2019.47.3.02.
- FRANÇA-SILVA, F.; REGO, C. H. Q.; GOMES-JUNIOR, F. G.; BRANCAGLIONI, V. A.;

- HIRAI, W. Y.; RODRIGUES, D. B.; ALMEIDA, A. da S.; MARTINS, A. B. N.; TUNES, L. V. M. de. Determination of *Sitotroga cerealella* Infestation in Wheat Seeds by Radiographic and Multispectral Images. **Agronomy Journal**, v. 112, n. 5, p. 3695–3703, 2020. doi: 10.1002/agj2.20327.
- GEREMA, G.; BOGALO, T.; MANGITSU, G.; LULE, D. Resistance of Sorghum Genotypes to the Rice Weevil, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). **International Journal of Food science and Technology**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2017.
- HAFF, R. P.; PEARSON, T. C. An Automatic Algorithm for Detection of Infestations in X-Ray Images of Agricultural Products. **Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety**, v. 1, n. 3, p. 143–150, 2007. doi: 10.1007/s11694-007-9018-9.
- KARUNAKARAN, C.; JAYAS, D. S.; WHITE, N. D. G. Soft X-Ray Inspection of Wheat Kernels Infested by *Sitophilus oryzae*. **Transactions of the ASAE**, v. 46, n. 3, p. 739–745, 2003.
- KARUNAKARAN, C.; JAYAS, D. S.; WHITE, N. D. G. Detection of Internal Wheat Seed Infestation by *Rhyzopertha dominica* Using X-Ray Imaging. **Journal of Stored Products Research**, v. 40, n. 5, p. 507–516, 2004. doi: 10.1016/j.jspr.2003.06.003.
- KASEM, S.; WATERS, D. L. E.; RICE, N. F.; SHAPTER, F. M.; HENRY, R. J. The Endosperm Morphology of Rice and Its Wild Relatives as Observed by Scanning Electron Microscopy. **Rice**, v. 4, n. 1, p. 12–20, 2011. doi: 10.1007/s12284-011-9060-4.
- KOTWALIWALE, N.; SINGH, K.; KALNE, A.; JHA, S. N.; SETH, N.; KAR, A. X-Ray Imaging Methods for Internal Quality Evaluation of Agricultural Produce. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 1, p. 1–15, 2011. doi: 10.1007/s13197-011-0485-y.
- LI, L.; CHEN, S.; DENG, M.; GAO, Z. Optical Techniques in Non-Destructive Detection of Wheat Quality: A Review. **Grain and Oil Science and Technology**, v. 5, n. 1, p. 44–57, 2022. doi: 10.1016/j.gaost.2021.12.001.
- LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. de B.; HENNING, A. A.; HENNING, F. A. **Manejo Integrado de Pragas de Grãos e Sementes Armazenadas**. Brasília, DF: Embrapa, 2015.
- MEDEIROS, A. D. de; DA SILVA, L. J.; PEREIRA, M. D.; OLIVEIRA, A. M. S.; DIAS, D. C. F. S. High-Throughput Phenotyping of Brachiaria Grass Seeds Using Free Access Tool for Analyzing x-Ray Images. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, p. 1–17, 2020a. doi: 10.1590/0001-3765202020190209.
- MEDEIROS, A. D. De; MARTINS, M. S.; JUNIO, L.; PEREIRA, M. D.; ZAVALA, M.; DOS SANTOS, C. F. X-Ray Imaging and Digital Processing Application in Non-Destructive Assessing of Melon Seed Quality. **Journal of Seed Science**, v. 42, 2020b. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v42229761>.
- MEDEIROS, A. de; SILVA, L. J. da; SILVA, J. M. da; DIAS, D. dos S.; PEREIRA, M. D. IJCropSeed: An Open-Access Tool for High-Throughput Analysis of Crop Seed Radiographs. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 175, n. May, p. 105555, 2020c. doi: 10.1016/j.compag.2020.105555.
- MONTEIRO, R. D. C. M.; GADOTTI, G. I.; VILLELA, F. A.; CARDOSO, J. T. C.; OLIVEIRA, M. De. Fissure Identification Methods in Rice Seeds after Artificial Drying. **Engenharia Agrícola**, v. 42, 2022.
- NAWROCKA, A.; GRUNDAS, S.; GRODEK, J. Losses Caused by Granary Weevil Larva in

- Wheat Grain Using Digital Analysis of X-Ray Images. **International Agrophysics**, v. 24, n. 1, p. 63–68, 2010.
- NAWROCKA, A.; STEOGONEKPIEŃ, E.; GRUNDAS, S.; NAWROT, J. Mass Loss Determination of Wheat Kernels Infested by Granary Weevil from X-Ray Images. **Journal of Stored Products Research**, v. 48, p. 19–24, 2012. doi: 10.1016/j.jspr.2011.08.004.
- OJO, J. A.; OMOLOYE, A. A. Development and Life History of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) on Cereal Crops. **Advances in Agriculture**, v. 2016, p. 8, 2016. doi: 10.1155/2016/7836379.
- PEARSON, T. C.; PRASIFKA, J.; BRABEC, D.; HAFF, R.; HULKE, B. Automated Detection of Insect-Damaged Sunflower Seeds by X-Ray Imaging. **Applied Engineering in Agriculture**, v. 30, n. 1, p. 125–131, 2014. doi: 10.13031/aea.
- R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing** Vienna, Austria R Foundation for Statistical Computing, , 2021.
- RAHMAN, A.; CHO, B. K. Assessment of Seed Quality Using Non-Destructive Measurement Techniques: A Review. **Seed Science Research**, v. 26, n. 4, p. 285–305, 2016. doi: 10.1017/S0960258516000234.
- RAMOS, A. K. F.; MEDEIROS, A. D. de; PEREIRA, M. D.; ARAÚJO, Y. F.; SILVA, L. J. da; ALVES, C. Z. SARS Software for Analysis of Radiographic Images of *Urochloa decumbens* (Stapf) RD Webster Seeds. **Journal of Seed Science**, v. 44, 2022. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v44264545>.
- RIBEIRO, A.; NERI, T. F.; MEDEIROS, A. D. de; MILAGRES, C.; SILVA, L. J. da. Use of Radiographic Images for Rapid and Non-Destructive Assessment of Crambe Seed Quality. **Journal of Seed Science**, v. 43, p. 1–12, 2021. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v43239136>.
- SAHU, R.; PATNAIK, S.; SAH, R. **Quality seed production in rice**: NRI Research Bulletin. Cutuack: ICAR-National Rice Research Institute, 2020. .
- SHARMA, V.; BHARDWAJ, A. Scanning electron microscopy (SEM) in food quality evaluation. In: Zhong, J.; Wang, X. (Eds.). **Evaluation Technologies for Food Quality**. [s.l.] Elsevier Inc., 2019. p. 743–761. 2019.
- SHI, H.; SIEBENMORGEN, T. J.; LUO, H.; ODEK, Z. Fissure Detection and Measurement in Rough Rice Using X-Ray Imaging. **American Society of Agricultural and Biological Engineers**, v. 62, n. 2012, p. 859–866, 2019.
- SILVA, A. S.; CICERO, S. M.; DA SILVA, F. F.; GOMES-JUNIOR, F. G. X-Ray, Multispectral and Chlorophyll Fluorescence Images: Innovative Methods for Evaluating the Physiological Potential of Rice Seeds. **Journal of Seed Science**, v. 45, p. 1–16, 2023. doi: 10.1590/2317-1545v45257617.
- SILVA, O. d.; WANDER, A. Caracterização e avaliação econômica do cultivo do arroz de terras altas no Planalto Central do Brasil. In: Tôsto, S. G. .; Belarmino, L. C. .; Castro, G. S. A. .; Mangabeira, J. A. DE C. .; Silva, O. F. da (Eds.). **Caracterização e avaliação econômica de sistemas de produção e cultivo de grãos em biomas brasileiros**. Brasília: Embrapa Territorial, 2018. p. 28–46. 2018.
- SILVA, V. N.; ARRUDA, N.; CICERO, S. M.; ALBERTO, C. M.; GIACOMELI, R. Morfologia Interna e Germinação de Sementes de Arroz de Terras Baixas Produzidas Em Diferentes Regimes Hídricos. **Irriga**, v. 19, n. 3, p. 453–463, 2014. doi:

10.15809/irriga.2014v19n3p453.

SPEIRS, R.; WHITE, G.; WILSON, J. SEM Observations of Rice Weevil Larvae , *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera : Curculionidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 59, n. 2, p. 390–394, 1986.

WIPFLER, B.; POHL, H.; YAVORSKAYA, M. I.; BEUTEL, R. G. A Review of Methods for Analysing Insect Structures — the Role of Morphology in the Age of Phylogenomics. **Current Opinion in Insect Science**, v. 18, n. October, p. 60–68, 2016. doi: 10.1016/j.cois.2016.09.004.

XIAOLONG, S.; XIAOJING, Y.; SHUIHONG, X.; HUI, L.; PALIWAL, J. Detection of the Growth Stage of Rice Weevil as a Stored-Grain Pest Based on Soft X-Ray Imaging. **Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering**, v. 36, n. 18, p. 309–314, 2020. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2020.18.036.

YU, X. run; ZHOU, L.; XIONG, F.; WANG, Z. Structural and Histochemical Characterization of Developing Rice Caryopsis. **Rice Science**, v. 21, n. 3, p. 142–149, 2014. doi: 10.1016/S1672-6308(13)60176-6.

ZANIN, V.; BACCHI, M. R. P.; ALMEIDA, A. T. C. de. A Demanda domiciliar por arroz no Brasil: Abordagem Por Meio do Sistema Quaidis em 2008 / 2009. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 57, n. 2, p. 234–252, 2019.

ZOHRY, N. M. H. Ultrastructural studies on the sensilla of the mouth parts and antennae of the pre-adult stages of *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae). **Assiut University Journal of Multidisciplinary Scientific Research**, v. 48, n. 2, p. 234–257, 2019. doi: 10.21608/aunj.2019.221129.